

А. М. ДИЛАНЯН, Б. Б. ВАРТАНЯН, В. Д. АЗАТЯН

ВЛИЯНИЕ 3,6-ДИМЕТИЛОКТИН-4-ДИОЛА-3,6 НА ПЕРЕКРЕСТНУЮ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КОЛИЦИНОГЕННЫХ ШТАММОВ ФРЕДЕРИКА И НА СПЕКТРЫ ДЕЙСТВИЯ ИХ КОЛИЦИНОВ

Показано, что ацетиленовый гликоль 3,6-диметилоктин-4-диол-3,6 активно действует на перекрестную чувствительность колициногенных штаммов Фредерика и на их спектры действия колицинов, усиливая или ослабляя их. Гликоль является как индуцибельным, так и элиминирующим агентом.

Результаты предыдущих наших исследований [1, 2] биологической активности ацетиленового гликоля 3,6-диметилоктин-4-диола-3,6 побудили нас выяснить его влияние на перекрестную чувствительность пятнадцати эталонных колициногенных штаммов Фредерика и на спектры действия колицинов.

Методика исследования в основном описана в работе [2]; однако в качестве индикаторной культуры вместо *E. coli* K12S служили те же 15 штаммов продуцентов. Культуры выращивались на питательном агаре с ацетиленовым гликолем (0,2—0,4%) и без него (контроль). Опыты ставились трехкратно, в ряде случаев двукратно и однократно.

Из обобщенных результатов, представленных в таблице, видно, что все использованные штаммы Фредерика были иммунны к гомологичным колицинам. Иммунитет к бактериоцинам считается [3] более специфичным, чем устойчивости, связанная с утратой соответствующего рецептора. Из всех испытанных культур только *E. freundii* CA=31 (col. A) оказалась устойчивой ко всем колицинам. По-видимому, этот штамм по своим физиологическим свойствам и рецепторному аппарату особо отличается от остальных штаммов Фредерика. Под влиянием ацетиленового гликоля наблюдаются определенные сдвиги в перекрестной чувствительности колициногенных культур и спектров действия колицинов. Так, чувствительность *E. coli* CA=7 (col V) слегка повышается к колицину В, понижается к колицинам D, E3+I, F, J+I, E2+J и E1+V, остается без изменения к колицинам K, S1 и S5, и устойчива к колицинам A, G и C.

Чувствительность *E. coli* CA=18 (col B) понижается к колицину F, остается без изменения к комплексу E2+J, проявляет резистентность к большинству колицинов V, D, A, E3+I, G, I, C, I+J и K. Заслуживает внимания факт приобретения чувствительности *E. coli* CA=18 к колицинам S1 (трехкратное определение), S5 (двукратное определение) и E1+V (однократное определение) при росте на питательном агаре с гликолем и отсутствие зоны торможения в контрольном опыте.

E. coli CA=23 (col D) в контрольном опыте имеет зону ингибции к колицину V; при наличии же в среде 0,2—0,4% гликоля *E. coli* CA=7 (col V) утратила способность образовывать колицин, а *E. coli* CA=23 лишилась специфического рецептора для фиксации имеющегося диффундированного колицина V. При концентрации гликоля 0,2% у этого штамма чувствительность к колицину B слегка повышается, значительное повышение чувствительности отмечается к колицину K. В подавляющем большинстве случаев наблюдается понижение перекрестной чувствительности к колицинам E3+I, F, I+J, S1, S5, E2+J, E1+V; культура оказалась резистентной к колицинам A, G, I и C.

E. coli CA=38 (col E3+I) при росте на среде с гликолем полностью теряет чувствительность к колицину V, в то время как в контрольном опыте имеется зона задержки ее роста, т. е. выраженная перекрестная чувствительность к нему. Это свойство аналогично чувствительности *E. coli* CA=23 также к колицину типа V, что, по-видимому, свидетельствует также об утрате колициногенности *E. coli* CA=7 и представляет определенный интерес ввиду редкой встречаемости в бактериоциногении. Наблюдается незначительное повышение чувствительности *E. coli* CA=38 к колицинам B, K, S1 и ее понижение к колицину D; к остальным девяти колицинам она оказалась резистентной и в присутствии, и в отсутствии гликоля.

Под влиянием гликоля наблюдаются незначительные изменения перекрестной чувствительности *E. coli* CA=42 (col F): некоторое ее понижение к колицинам D, J+I, S5, E1+V и устойчивость к колицинам V, A, G, C и E2+I.

E. coli CA=46 (col G), *E. coli* CA=53 (col I) и *Paracoli* CA=57 (col C) приобретают чувствительность к колицинам B, K, S1, а последний штамм—еще и к колицину D. Нечеткая картина чувствительности наблюдается у первых двух культур в отношении к колицину D; к остальным колицинам все три штамма устойчивы как в контрольных тестах, так и при росте на среде с гликолем.

Чувствительность *Paracoli* CA=62 (col J+I) к колицинам K и S1 под влиянием гликоля повышается, но понижается к колицину B и незначительно — к D, E3+I, F; наблюдается полная потеря чувствительности к колицину E2+I при росте *Sh. sonnei* P9 на среде с гликолем (двукратное определение). К остальным колицинам *Paracoli* CA=62 резистентна.

E. coli K=235 (col K) приобретает перекрестную чувствительность к колицинам J+I и S5 (однократное определение), к E3+I, F и E2+I чувствительность культуры понижается, а к остальным колицинам устойчива.

Чувствительность у *Sh. boydii* P1 (col S1) к колицинам F и E2+I понижается, к остальным колицинам она резистентна.

У *Sh. dispar* P14 (col S5) повышается чувствительность к колицинам B, K и S1, приобретается чувствительность к колицину D и остается устойчивость к подавляющему большинству колицинов.

Чувствительность *Sh. sonnei* P9 к колицинам В и ЕЗ+І не меняется, наблюдается небольшой спад ее к колицинам К и S1. При росте колициногенного штамма *E. coli* СА=46 (col G) на среде с гликолем *Sh. sonnei* P9 теряет чувствительность к колицину G (трехкратное определение)

Перекрестная чувствительность *E. coli* К=30 (col E1+V) к колицинам В, К и S1 повышается, к колицинам ЕЗ+І и F понижается, штамм приобретает чувствительность к колицину D, остается устойчивой к большинству других колицинов.

Таким образом, 3,6-диметилоктин-4-диол-3,6 действует на перекрестную чувствительность колициногенных эталонных штаммов Фредерика, повышая или понижая ее. Наибольший интерес представляет факт приобретения чувствительности колициногенными культурами, в то время как отсутствуют зоны задержки роста в контрольных опытах и выраженные зоны ингибиции при росте на среде с гликолем. Зоны торможения индикаторных колициногенных культур, обнаруженные при росте на питательном агаре без гликоля, отсутствуют при росте на среде с гликолем. Последнее явление позволяет считать 3,6-диметилоктин-4-диол-3,6 элиминирующим агентом, т. е. под его влиянием индикаторные колициногенные штаммы лишаются специфических рецепторов, в результате чего имеющиеся соответствующие колицины не фиксируются, становятся устойчивыми к ним.

Данные таблицы (по горизонтали) с бинарными наименованиями колициногенных штаммов энтеробактерий свидетельствуют о влиянии гликоля также на спектры действия колицинов эталонных колициногенных штаммов Фредерика. В отношении спектра действия колицина типа V отмечается наличие выраженной зоны ингибиции индикаторных культур *E. coli* СА=23 и *E. coli* СА=38, в то время как при наличии в питательной среде ацетиленового гликоля зоны торможения этих двух штаммов отсутствуют. Возможно, гликоль специфически реагирует с нуклеопротеидами или угнетает внеядерные структуры, содержащие нуклеиновые кислоты: скорость репликации нуклеиновых структур отстает от скорости деления клетки, и в популяции *E. coli* СА=7 накапливаются бактериальные клетки, утратившие эти структуры, т. е. колициногенный фактор V. Известно, что подобный процесс, происходящий при размножении бактерий в среде с акридиновыми красителями, называют элиминацией определенных генетических элементов [3]. По нашему мнению, 3,6-диметил-октин-4-диол-3,6 является в данном случае элиминирующим агентом колфактора V.

Данные спектра действия колицина В показывают, что под влиянием гликоля повышается чувствительность к нему *E. coli* СА=7, *E. coli* СА=38, *Sh. dysenteriae* P14 и *E. coli* К=30, наблюдаются небольшие сдвиги у *E. coli* СА=23, *E. coli* СА=42, не меняется чувствительность *Sh. sonnei* P9, слегка снижается она у *Paenibacillus* СА=62, одновременно приобретает чувствительность штаммами *E. coli* СА=46, *E. coli* СА=53 и *Paenibacillus* СА=57.

Влияние 3,6-диметилэктин-4-диола-3,6 на

Индикаторные штаммы	E. coli CA=7 (col V)			E. coli CA=18 (col B)			E. coli CA=23 (col D)			E. freundii CA=31 (col A)			E. coli CA=38 (col E3+1)			E. coli CA=42 (col F)		
	МПА		МПА+ глицоль	МПА		МПА+ глицоль	МПА		МПА+ глицоль	МПА		МПА+ глицоль	МПА		МПА+ глицоль	МПА		МПА+ глицоль
	К	0,2 %	0,4 %	К	0,2 %	0,4 %	К	0,2 %	0,4 %	К	0,2 %	0,4 %	К	0,2 %	0,4 %	К	0,2 %	0,4 %
Продукты колицинов																		
E. coli CA=7 (col V)	///	///	///				13	0	0				19	0	0			
E. coli CA=18 (col B)	23	25	26	///	///	///	12	14	12				23	25	24	28	29	27
E. coli CA=23 (col D)	22	21	17				///	///	///				24	22	15	25	24	22
E. freundii CA=31 (col A)										///	///	///						
E. coli CA=38 (col E3+1)	27	26	26				19	13	9				///	///	///	25	25	26
E. coli CA=42 (col F)	30	28	27	20	12	11	20	17	8				///	///	///	///	///	///
E. coli CA=46 (col G)																		
E. coli CA=53 (col I)																		
Paracoli CA=57 (col C)																		
Paracoli CA=62 (col J+1)	24	24	21				11	10	10							20	19	17
E. coli K=235 (col K)	24	25	24				12	14	16				23	25	24	27	26	29
Sh. boydii P1 (col S1)	24	24	23	0	12	10	16	14	13				23	23	24	26	27	27
Sh. dispar P14 (col S5)	26	27	25	0	0	16	13	13	12							23	22	21
Sh. sonnei P9 (col E2+1)	28	27	26	12	8	12	23	21	19									
E. coli K=30 (col E1+V)	15	13	10	0	10	10	12	10	8							13	13	11

Примечание: К—контроль; заштрихованные квадраты—колициногенные штаммы, иммунны к гомологичному колицину; пустые квадраты—культуры.

перекрестную чувствительность колициногенных штаммов Фредерика и на спектры действия колицинов, мм

Таблица

E. coli CA-46 (col G)			E. coli CA-53 (col I)			Paracoli CA-57 (col C)			Paracoli CA-62 (col J+1)			E. coli K-235 (col K)			Sh. boydii P1 (col S1)			Sh. dispar P14 (col S5)			Sh. sonnei P9 (col E2+1)			E. coli K-30 (col E1+V)		
МПА			МПА			МПА			МПА			МПА			МПА			МПА			МПА			МПА		
МПА+гликоль			МПА+гликоль			МПА+гликоль			МПА+гликоль			МПА+гликоль			МПА+гликоль			МПА+гликоль			МПА+гликоль			МПА+гликоль		
К	0,2 %	0,4 %	К	0,2 %	0,4 %	К	0,2 %	0,4 %	К	0,2 %	0,4 %	К	0,2 %	0,4 %	К	0,2 %	0,4 %	К	0,2 %	0,4 %	К	0,2 %	0,4 %	К	0,2 %	0,4 %
0 12	15 13	17 11	0 14	17 10	22 15	0 0	18 15	21 12	16 12	15 11	15 9							10 0	14 14	18 11	25 25	25 25	25 18	9 0	14 13	19 13
///	///	///	///	///	///	///	///	///	12 19	11 18	8 7	12 19	9 19	10 12	16	13	7		23	23	22	12 12	11 11	0 8		
0 0	15 14	19 17	0 0	15 18	23 24	0 0	18 18	19 18	/// 14 15	/// 15 13	/// 19 18	0 ///	10 ///	10 ///	///	///	///	13 13 ///	14 12 ///	17 17 ///	28 27	27 27	26 25	12 11	14 14	20 17
									17	0	0	20	0 18	16 16	12	10	10	///	///	///	///	///	///	///	///	///

уры резистентны к колицинам

Под влиянием гликоля понижается чувствительность *E. coli* CA=7, *E. coli* CA=38, *E. coli* CA=42, *Paracoli* CA=62 и *Sh. sonnei* P9 к колицину D; наблюдаются незначительные сдвиги ее у *E. coli* CA=46, *E. coli* CA=53; приобретает чувствительность к колицину культурами *Paracoli* CA=57, *Sh. dispar* P14 и *E. coli* K=30; остальные штаммы резистентны.

К колицину A все испытанные культуры оказались устойчивыми.

В спектре действия колицина E3+I под влиянием гликоля наблюдается понижение чувствительности у штаммов *E. coli* CA=7, *E. coli* CA=23, *Paracoli* CA=62, *E. coli* K=235 и *E. coli* K=30 (однократное определение); у штаммов *E. coli* CA=42 и *Sh. sonnei* P9 чувствительность остается без изменения; остальные штаммы резистентны.

При культивировании продуцента колицина F на питательной среде с гликолем наблюдается понижение чувствительности к колицину *E. coli* CA=7, *E. coli* CA=18, *E. coli* CA=23, *Paracoli* CA=62, *E. coli* K=235, *Sh. boydii* P1 и *E. coli* K=30 (однократное определение); остальные штаммы резистентны.

Все колициногенные эталонные штаммы, кроме *Sh. sonnei* P9, оказались резистентными к колицинам G, I и C при выращивании культур как на среде с гликолем, так и без него. У *Sh. sonnei* P9, чувствительной к колицину G, на среде с 0,2—0,4% гликолем зона торможения отсутствует при трехкратном и разновременных определениях.

Спектр действия колицина J+I под влиянием гликоля довольно узок: наблюдается понижение чувствительности к колицину у штаммов *E. coli* CA=7, *E. coli* CA=42 и частично—у *E. coli* CA=23. *E. coli* K=235 приобретает чувствительность к нему. Подавляющее большинство колициногенных штаммов к колицину резистентны.

Отмечается довольно широкий диапазон влияния ацетиленового гликоля на спектр действия колицина K: повышение чувствительности к колицину *E. coli* CA=23, *Paracoli* CA=62, *Sh. dispar* P14, *E. coli* K=30, отчасти — *E. coli* CA=38, *E. coli* CA=42, отсутствие сдвига у *E. coli* CA=7, понижение—у *Sh. sonnei* P9 и приобретение чувствительности к колицину штаммами *E. coli* CA=46, *E. coli* CA=53 и *Paracoli* CA=57, что свидетельствует о глубоких физиологических сдвигах в колициногенных культурах. К колицину резистентны только штаммы *E. coli* CA=18, *E. freundli* CA=31 и *Sh. boydii* P1.

По отношению к шигелам колицин S1 по спектру действия похож на колицин K, вернее по активности несколько превосходит его. Чувствительность к колицину повышается у *Paracoli* CA=62, *Sh. dispar* P14 и *E. coli* K=30, частично — у *E. coli* CA=38, почти не меняется у *E. coli* CA=42 и *E. coli* CA=7. Под влиянием гликоля понижается чувствительность к колицину у *E. coli* CA=23 и *Sh. sonnei* P9. Гликоль, действуя на продуцент колицина S1—*Sh. boydii* P1, способствует приобретению чувствительности к этому колицину четырьмя колициногенными эталонными штаммами: *E. coli* CA=18, *E. coli* CA=46, *E. coli* CA=53 и *Paracoli*

СА=57. По спектру действия колицина S1 является единственно активным из всех типов колицинов.

Влияние гликоля на спектр действия колицина S5 незначительное: почти не меняется действие колицина на *E. coli* СА=7, слегка понижается чувствительность его к *E. coli* СА=23, и *E. coli* СА=42, приобретают чувствительность к колицину *E. coli* СА=18 (двукр. опред.) и *E. coli* К=235 (однокр. опред.); при наличии в среде 0,4% гликоля имеется зона торможения роста этих культур диаметром в 16 мм.

Также невелик спектр действия колицина E2+I под влиянием гликоля и без него: понижается его активность к индикаторным штаммам *E. coli* СА=7, *E. coli* СА=23, *E. coli* К=235 и *Sh. boydii* P1, но имеется также зона ингибиции диаметром в 17 мм у *Paracoli* СА=62 при росте *Sh. sonnei* P9 (col E2+I) на МПА в контроле, в то время как при росте на среде с гликолем в концентрациях 0,2—0,4% зоны торможений роста индикаторной культуры *Paracoli* СА=62 отсутствуют (двукрат. опред.). Остальные штаммы к колицину E2+I устойчивы.

Наконец, под влиянием гликоля спектр действия колицина E1+V претерпевает определенные, но ограниченные изменения: понижается действие колицина в отношении индикаторных колициногенных культур *E. coli* СА=7, *E. coli* СА=23, и *E. coli* СА=42. В одном случае—при росте *E. coli* К=30 на среде с гликолем—комплекс колицинов E1+V приобретает чувствительность к *E. coli* СА=18.

Таким образом, спектр действия колицинов под влиянием 3,6-диметиллоктин-4-диола-3,6 меняется (усиливается или ослабляется), а в ряде случаев при наличии гликоля в питательной среде наблюдается утрата колициногенности культур или ее индуцирование. Следовательно, гликоль влияет как на перекрестную чувствительность колициногенных штаммов Фредерика, так и на спектры действия их колицинов.

Колициногенный штамм с высокой перекрестной чувствительностью (*E. coli* СА=7) обладает наиболее узким спектром колициногенного действия, а колициногенный штамм с низкой перекрестной чувствительностью — широким (*E. coli* СА=18, col B и *Sh. boydii* P1, col S1). Колициногенный штамм, лишенный перекрестной чувствительности, лишен и спектра действия колицина (*E.freundii* СА=31, col A). Перекрестная чувствительность колициногенных культур и спектр действия колицинов взаимообусловлены.

Представляющие особый интерес случаи приобретения и утраты чувствительности некоторыми эталонными колициногенными штаммами Фредерика позволяют считать 3,6-диметиллоктин-4-диол-3,6 как индуцибельным, так и элиминирующим агентом, а также действующим на рецепторный аппарат колициногенных бактериальных клеток.

Лаборатория химической физики

АН АрмССР,

Санитарно-эпидемиологическая станция
Абовянского района МЗ АрмССР

Поступило 19.VI 1974 г.

Ա. Մ. ԳԻԼԱՆՅԱՆ, Բ. Բ. ՎԱՐԳԱՆՅԱՆ, Վ. Դ. ԱԶԱՏՅԱՆ

3,6-ԴԻՄԵԹԻԼՕԿՏԻՆ-4-ԴԻՈՒ-3,6 ԱՑԵՏԻԼԵՆՍԱՅԻՆ ԳԼԻԿՈՒԼԻ ՆԵՐԳՈՐԾՈՒ-
ԹՅՈՒՆՆԸ ՖՐԵԳԵՐԻԿԻ ԿՈԼԻՑԻՆԱՅԻՆ ՇՏԱՄՆԵՐԻ ԽԱԶԱԶԵՎ ԶԳԱՅՈՒՆՈՒԹՅԱՆ
ԵՎ ՆՐԱՆՑ ԿՈԼԻՑԻՆՆԵՐԻ ԱԶԳՄԱՆ ՍՊԵԿՏՐՆԵՐԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ցույց է տրված, որ 3,6-դիմեթիլօկտին-4-դիու-3,6 ացետիլենային գլիկոլն ակտիվորեն ներգործում է ֆրեգերիկի կոլիցինաժին շտամների խաչաձև զգայունության ու նրանց կոլիցինների ազդման սպեկտրների վրա, առաջ բերելով որոշակի փոփոխություններ՝ ուժեղացնելով կամ թուլացնելով շտամների խաչաձև զգայունությունը և նրանց կոլիցինների ազդման սպեկտրները: Բարձր խաչաձև զգայունություն ունեցող կոլիցինաժին շտամների կոլիցինաժին ազդման սպեկտրը վերին աստիճանի սահմանափակ է: Ընդհակառակը՝ ցածր խաչաձև կոլիցինաժին զգայունություն ունեցող կոլիցինաժին շտամներն ունեն կոլիցինային ազդման լայն դիապազոնով սպեկտր: Խաչաձև զգայունությունից զուրկ շտամը զուրկ է նաև կոլիցինի ազդման սպեկտրից: Կոլիցինաժին կուլտուրաների խաչաձև զգայունությունը և նրա կոլիցինների ազդման սպեկտրը փոխադարձաբար պայմանավորված են:

3,6-դիմեթիլօկտին-4-դիու-3,6-ը հանդիսանում է թէ՛ ինդուկցող, և թէ՛ էլիմինացնող ազդակ: Հավանական է, որ այն ազդում է նաև կոլիցինաժին մանրէների ռեցեպտորային ասպարատի վրա:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Азатян В. Д., Диланян А. М. ДАН АрмССР, 46, 2, 115—122, 1973
2. Азатян В. Д., Диланян А. М., Вартанян Б. Б. ДАН АрмССР, 46, 3, 161—166, 1973.
3. Кудлай Д. Г. Бактериоциногенция. Л., 121—2, 1966.