

Z Katedry Fizjologii Roślin Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi UMCS
Kierownik: prof. dr Adam Paszewski

Adam PASZEWSKI

**Influence of an Enzyme Extract from the Larvae of *Galleria mellonella*
together with Penicillin or Sulphathiazole on the Growth
of *Mycobacterium tuberculosis* 607**

**Wpływ wyciągu enzymatycznego z larw *Galleria mellonella*
oraz penicyliny względnie sulfatiazolu na wzrost prątków
Mycobacterium tuberculosis 607**

**Влияние энзиматического экстракта из личинок *Galleria mellonella*
пенициллина и сульфатиазола на рост *Mycobacterium tuberculosis* 607**

The object of the experiments was to determine if the enzyme extract from the larvae of *Galleria mellonella* sensitized the bacteria

A—to penicillin,

B—to sulphathiazole

A strain of *Mycobacterium tuberculosis* 607 was grown on Sauton's medium. The enzyme extract was taken from the *Galleria mellonella* larvae by Willstaetter's method, modified by A. Lassota. The bacteria were acted upon with enzyme extract in the concentration: 1 g acetone powder in 16 ml glycerol 80%, for 24, 72, 192 hours at the temperature of +4°C. When the Ziehl-Neelsen's staining method and methylene — blue were used, no difference was noted between the given bacteria being acted upon by the enzyme extract and the control.

A. The bacteria were submitted to the action of the enzyme extract and penicillin in the following combinations:

I. 0,5 ml of bacteria-suspension + 2 ml of enzyme extract

II. 0,5 ml of bacteria-suspension + 2 ml of enzyme extract + 2 ml of saline solution (0,8%)

III. 0,5 ml of bacteria suspension + 2 ml of saline solution + 10 000 units of penicillin.

IV. 0,5 ml of bacteria suspension + 2 ml of medium.

Test-tubes with the cultures I—IV were kept at a temperature of + 4°C to obviate inactivation of the enzyme. After 24, 72 or 192 hours, the bacteria were inoculated on:

1. Sauton's medium
 2. Sauton's medium with penicillin at a concentration of 10 000 units/1 ml.
- The experiment was repeated 5 times. The cultures were examined after 5 days. The results are given in Table 1.

Table 1

Time of incubation	I		II		III	IV
	Medium	Medium + Penicillin	Med.	Med. + Pen.	Med.	Med.
24 hours	+	—	+	—	+	+
72 „	+	—	+	—	+	+
192 „	+	—	+	—	+	+

B. Experiments with sulphathiazole.

The bacteria were inoculated into:

- I. 2 ml of enzyme extract.
- II. Sulphathiazole in saline solution in the concentrations
 - a. 0.25 mg/1 ml, b. 0.1 mg/1 ml, c. 0.05 mg/1 ml, d. 0.025 mg/1 ml.
- III. Saline solution.

Test-tubes were kept at a temperature of +4°C for 24, 72 and 192 hours. Next the bacteria from all the combinations were transferred:

- 1-to Sauton's medium
- 2-the given bacteria previously acted on by enzyme in Sauton's medium + sulphathiazole

As can be seen from the results in Table 2, sulphathiazole in the concentration used did not inhibit the growth of the bacteria. However, the bacteria acted upon by the enzyme extract and later with sulphathiazole did not develop at all.

Table 2

Time of incubation	I					II				III
	Med.	Med. + sulphat.				a	b	c	d	
		0,25	0,1	0,05	0,025					
24 hours	+	—	—	—	—	+	+	+	+	+
72 „	+	—	—	—	—	+	+	+	+	+
192 „	+	—	—	—	—	+	+	+	+	+

The enzyme extract alone did not weaken the growth of the bacteria; however, they were sensitive to the action of penicillin and sulphathiazole.

Penicillin alone or sulphathiazole also did not, in the conditions of the experiment, act bacteriostatically.

In the literature available to me I found no description of similar experiments. I think that experiments with different esterases in combination with other bacteriostatic or bacteriodestroying substances may give interesting results. Further experiments *in vitro* and *in vivo* are in the course of development.

I should like to thank most heartily my co-workers mgr Barbara Dudziak and mgr Alina Lassota for their help in the carrying out of the experiments.

REFERENCES

1. Bier M.: Lipases. In *Methods in Enzymology* edited by Sidney P. Colowick and Nathan O. Kaplan. New York 1955 p. 634.
2. Mankiewicz E.: The lipolytic Enzymes of Larvae of *Galleria mellonella*. *Canadian Journal of Research*. vol. 27, sec. E, p. 195—201.
3. Zorn B.: Ueber die Beeinflussung des tuberkuloösen Infekts durch die Fettsubstanzen des Tuberkelbakteriums. *Wissenschaftliche Zeitschrift der Friedrich-Schiller Universität Jena* 1954/55 Heft 6, S. 559—593.

STRESZCZENIE

Celem pracy było zbadanie czy wyciąg enzymatyczny z larw *Galleria mellonella* uczuła prątki na działanie penicyliny względnie sulfatiazolu.

Działano na bakterie wyciągiem enzymatycznym w stężeniu 1 g proszku acetonowego (metoda Willstaettera) na 16 ml glicerolu 80%.

Stwierdzono w warunkach doświadczenia, że sam wyciąg enzymatyczny nie zabija prątków, ani nie osłabia ich wzrostu, natomiast uczuła je na działanie penicyliny (tab. 1) oraz sulfatiazolu (tab. 2).

Dalsze badania *in vitro* i *in vivo* są w toku.

РЕЗЮМЕ

Целью работы является проанализирование, повышает ли энзиматический экстракт из личинок *Galleria mellonella* чувствительность туберкулезных палочек (*Mycobacterium tuberculosis* 607) к действию пенициллина или сульфатиазола.

На туберкулезные палочки действовали энзиматическим экстрактом при концентрации 1 г ацетонного порошка (метод Вильштеттера) на 16 мл 80-и% глицерола.

Автором в условиях опыта установлено, что один только энзиматический экстракт не убивает бактерий и не уменьшает их роста, однако повышает их чувствительность на действие пенициллина (таб. 1) и сульфатиазола (таб. 2).

Дальнейшие исследования *in vitro* и *in vivo* продолжаются.

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA

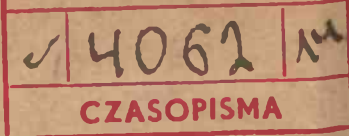
VOL. XIII

SECTIO C

1958

1. P. Wiśniewski: Influence of the 2,4 D. Plantgrowth Substance on Germination of Turiones of *Hydrocharis morsus ranae* L. in Darkness (Preliminary report).
Wpływ hormonu 2,4 D na kiełkowanie turionów *Hydrocharis morsus ranae* L. w ciemności (Doniesienie tymczasowe).
2. J. Daszkiewicz-Hubicka: Porównawcze badania nad niektórymi danymi z biologii *Meromyza saltatrix* L. i *Chlorops pumilionis* Bjerk.
Vergleichende Untersuchungen über einige biologische Eigenschaften von *Meromyza saltatrix* L. und *Chlorops pumilionis* Bjerk.
3. W. T. Bogdanow: *Bothynoderes punctiventris* Germ. Cz. I. Biologia i gospodarcze znaczenie w Bułgarii.
Bothynoderes punctiventris Germ. Biologie und wirtschaftliche Bedeutung in Bulgarien. I. Teil.
4. J. Begdon: Nowe stanowiska kilku interesujących gatunków *Formicoidea* w Polsce.
Neue Fundorte einiger interessanter *Formicoidea* — Arten aus Polen.
5. T. Ziarkiewicz: Badania nad występowaniem pluskwiaków różnoskrzydłych (*Hemiptera-Heteroptera*) na uprawach ziemniaka na terenie Wandzina
Untersuchungen über das Vorkommen der Ungleichflügler (*Hemiptera-Heteroptera*) in den Kartoffelfeldern in Gebiet von Wandzin.
6. K. Strawiński: Wstęp do badań nad *Hem.-Heteroptera* okolic Sandomierza.
Einleitende Untersuchungen über *Hem.-Heteroptera* der Umgegend von Sandomierz.
7. K. Sęczkowska: Nowe stanowiska i nowe formy niektórych gatunków *Thysanoptera*.
Neue Fundorte und neue für Polen Formen einiger *Thysanoptera*.
8. B. Miczulski: Materiały do znajomości pasożytów niestrzępa głogowca *Aporia crataegi* (L.)
Contributions to the Knowledge of Insects Parasitizing Pupae of *Aporia crataegi* (L.)
9. M. Izdebska: Badania fitosocjologiczne w lasach leśnictwa Zemborzyce.
Geobotanische Untersuchungen in den Waldbeständen der Försterei Zemborzyce.
10. A. Cmoluchowa: *Hemiptera-Heteroptera* łąk z okolic Zemborzyc i Wrotkowa.
Hemiptera-Heteroptera der Wiesen von Zemborzyce und Wrotków.
11. Z. Cmoluch: Nowe i rzadkie gatunki ryjkowców (*Coleoptera-Curculionidae*) dla fauny Polski. Część II.
Neue und seltene Rüsselkäfer (*Coleoptera-Curculionidae*) aus Polen. II. Teil.
12. I. Baran: Badania nad prostoskrzydłymi (*Orthoptera*) łąk Zemborzyc i Wrotkowa (pow. Lublin).
Untersuchungen über die Gradflügler (*Orthoptera*) der Wiesen bei Zemborzyce und Wrotków (Kr. Lublin).

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-S
LUBLIN — POLONIA
VOL. XIII
SECTIO C



13. K. Izdebski: Badania fitosocjologiczne i florystyczne w rezerwacie Stawska Góra pod Chełmem.
Phytosociologische und floristische Untersuchungen im Naturreservat (Stawska Góra).
14. W. Zwolski: Mustyki (*Simuliidae*) Lubelszczyzny.
Simuliidae de la région de Lublin.
15. A. Sykut i Z. Wierzchowski; Studia nad występowaniem α i β karotenów w świecie roślinnym Cz. II. A. Rośliny pastewne — łubin.
Studies on the Occurrence of α and β Carotenes in Plants. Part. II. A. Fodder Plants — Lupin.
- J. Rydzak: Influence of Small Towns on the Lichen Vegetation. Part. VII. Discussion and General Conclusions.
Wpływ małych miast na florę porostów. Część VII. Dyskusja i wnioski.

Adresse:

UNIwersYTET MARIi CURIE-SKŁODOWSKIEJ
BIURO WYDAWNICTW
LUBLIN Plac Litewski 5 POLOGNE