

41. Giuseppe PENSO e Francesco SCANGA - Studi sul meccanismo di azione della streptomicina — Nota II: Azione della streptomicina sull'*Escherichia coli* mantenuta in anabiosi e quindi osservata al microscopio elettronico.

Allo scopo di determinare se le alterazioni provocate dalla streptomicina sull'*Escherichia coli* in fase biotica — e di cui alla 1^a nota di questi studi — fossero o no in rapporto con le possibilità di moltiplicazione del germe, abbiamo ripetuto le stesse prove mantenendo il batterio in fase anabiotica, e cioè conservandolo o in soluzione fisiologica e a temperatura di sviluppo, o in brodo, ma in frigore.

La tecnica seguita nel primo caso fu la seguente: seminavamo 5 cm³ di brodo comune con un'ansata di *Escherichia coli*, ponevamo quindi in termostato a 37° C. per 24 ore, dopo di che centrifugavamo e il sedimento veniva sospeso in 10 cm³ di soluzione fisiologica alla quale si aggiungevano 5 unità di streptomicina per cm³. Il tutto veniva, con i controlli, mantenuto a temperatura di sviluppo. Le osservazioni elettroniche vennero compiute dopo 24, 48 e 96 ore con la tecnica già riferita nella prima nota.

Nel secondo caso — brodocultura mantenuta in frigore — procedevamo nella seguente maniera: seminavamo 5 cm³ di brodo comune con un'ansata di *Escherichia coli*, ponevamo, quindi, in termostato a 37° C. per 24 ore, dopo di che centrifugavamo e il sedimento veniva sospeso in 10 cm³ di brodo vergine. Abbiamo adottato questa tecnica per evitare, nella sospensione in esperimento, la presenza dei metaboliti dell'*Escherichia coli*, i quali avrebbero potuto falsare i risultati della nostra esperienza.

Nella sospensione di coli in brodo vergine aggiungevamo 5 unità di streptomicina per cm³. Il tutto, insieme ai controlli, veniva posto in frigorifero a +2° C. e ivi mantenuto per tutto il tempo dell'esperimento. L'osservazione elettronica veniva compiuta con la tecnica descritta.

Dalle prove eseguite sui coli sospesi in soluzione fisiologica è risultato che i germi trattati con streptomicina si sono comportati in tutto analogamente ai controlli.

In pratica nessuna alterazione sostanziale nell'un caso o nell'altro salvo fenomeni di lentissimo invecchiamento: dopo 24 ore, infatti, si ha una leggera coartazione del protoplasma che si distacca dalla membrana pericellulare; tale aspetto rimane identico dopo 48 ore e dopo 96 ore (fig. 1, 2 e 3). Talvolta, però, i germi di tale anzianità presentano — sia nei controlli che in quelli trattati con la streptomicina — individui con protoplasma apparentemente spezzato per addensamenti circolari e schiarimenti aereolati (fig. 4, 5 e 6). Tutto ciò è evidente segno d'invecchiamento naturale.

Uguali risultati negativi si sono avuti nelle esperienze praticate con coli mantenuto con dosi subinibenti di streptomicina e a $+2^{\circ}$ C.

In quest'ultimo caso interessante è riuscito una controprova di controllo: sospensioni di coli in brodo vergine e in presenza di dosi subinibenti di streptomicina, e che non avevano mostrato — al microscopio elettronico — alcuna alterazione dopo 48 o 72 ore di permanenza in frigorifero, venivano, insieme ai controlli, posti in termostato a 37° C. ed esaminati al microscopio elettronico a distanze regolari: orbene si osservarono allora le identiche osservazioni già descritte nella nostra prima nota.

Da questa serie di esperienze risulta, quindi, chiaramente che la streptomicina in dosi subinibenti non esplica — almeno per quello che riguarda le alterazioni morfologiche osservabili al microscopio elettronico — nessun'azione sull'*Escherichia coli* in fase anabiotica, il che significherebbe che la streptomicina, analogamente alla penicillina, è capace di agire soltanto su germi in attività biologica, cioè su microrganismi posti in condizione di potersi liberamente riprodurre (*).

Roma - Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di Batteriologia 3 luglio 1947.

RIASSUNTO

Da ricerche compiute col microscopio elettronico risulta che la streptomicina non provoca nessuna alterazione morfologica sull'*Escherichia coli* in fase anabiotica.

(*) Ringraziamo la professoressa Daria Bocciarelli per la collaborazione prestataci durante l'osservazione al microscopio elettronico.

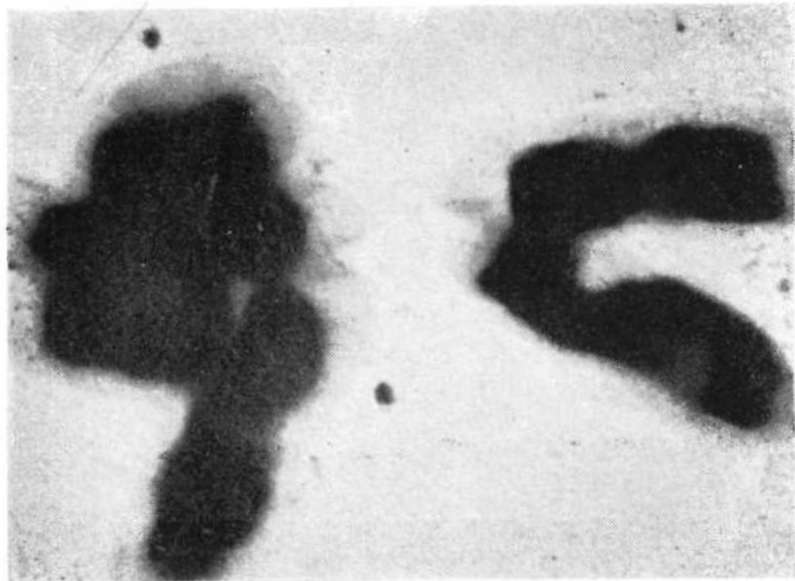


FIG. 1. — *Escherichia coli* di 24 ore sospesa in soluzione fisiologica e dopo 24 ore dalla sospensione.

FIG. 2. — *Escherichia coli* di 24 ore sospesa in soluzione fisiologica contenente una dose subinibente di streptomicina e dopo 24 ore dalla sospensione. Nessuna differenza dal controllo.

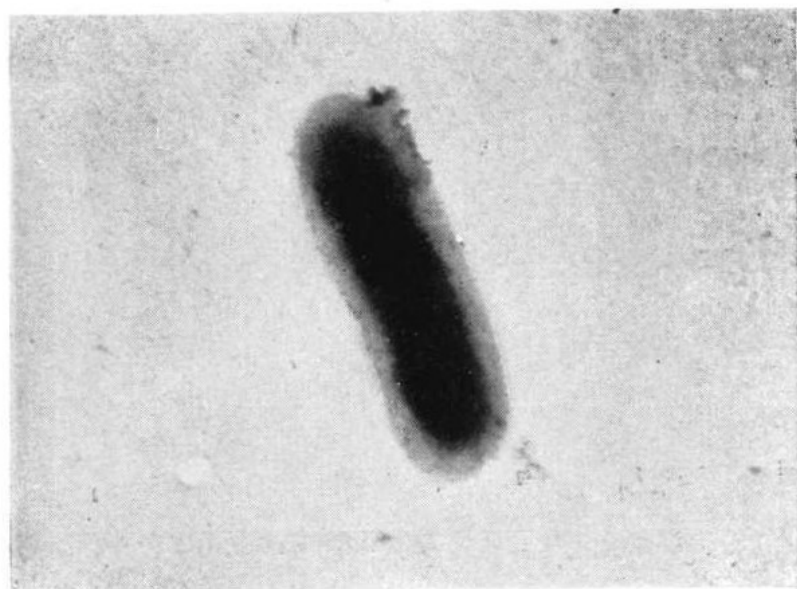
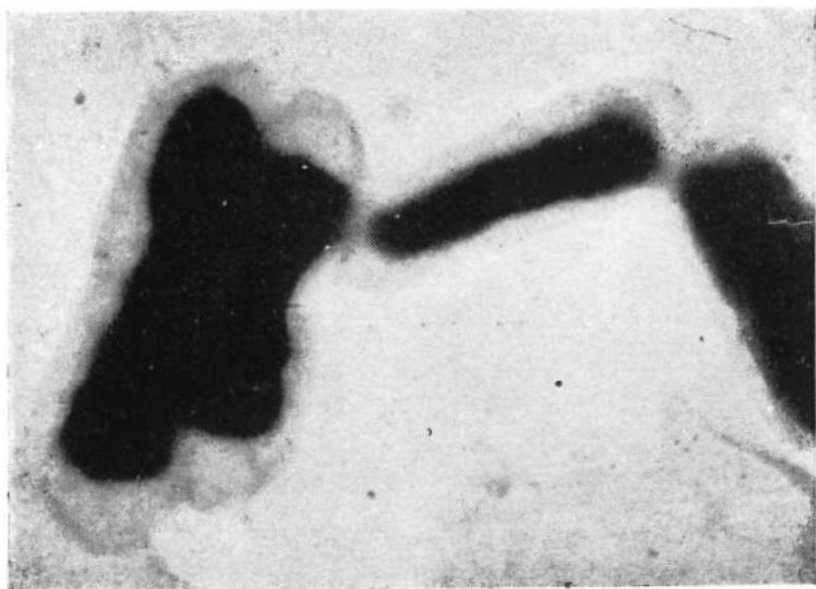


FIG. 3. — Come la Fig. 2, ma dopo 48 ore dalla sospensione. In alto germi identici alla Fig. 1, in basso un germe con la membrana pericellulare rigonfiata ad un estremo polare (germe evidentemente morto).

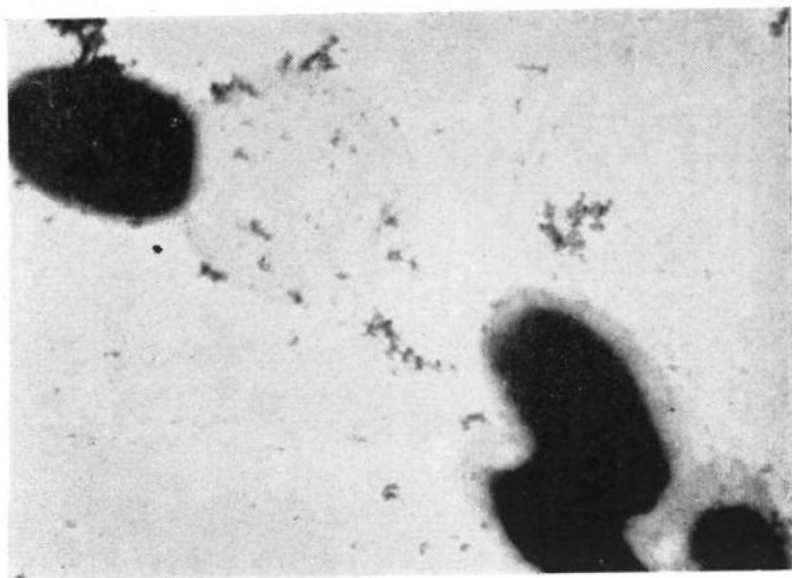


FIG. 4. — Come la Fig. 3, ma in presenza di streptomicina. Nessuna alterazione.

FIG. 5. — *Escherichia coli* di 24 ore sospesa in soluzione fisiologica e dopo 96 ore dalla sospensione. Alcuni individui si presentano come quelli della Fig. 1, altri hanno il protoplasma quasi spezzettato per schiarimenti e addensamenti.

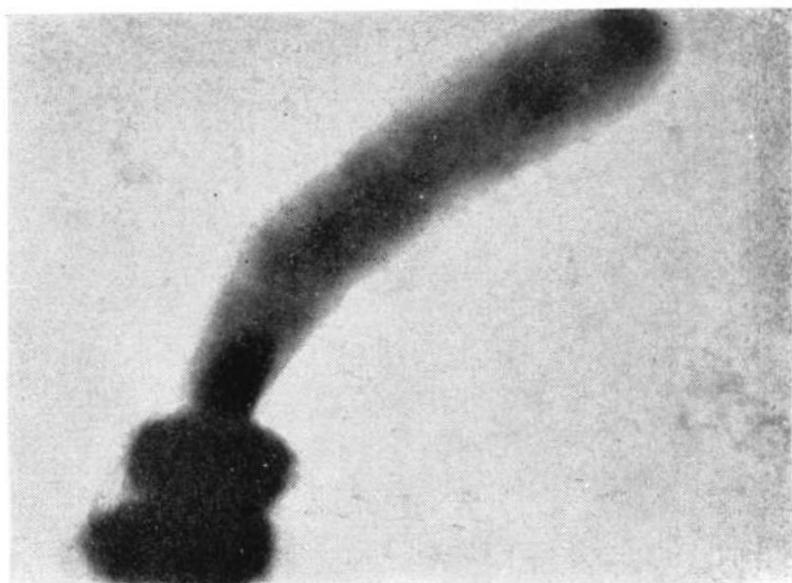
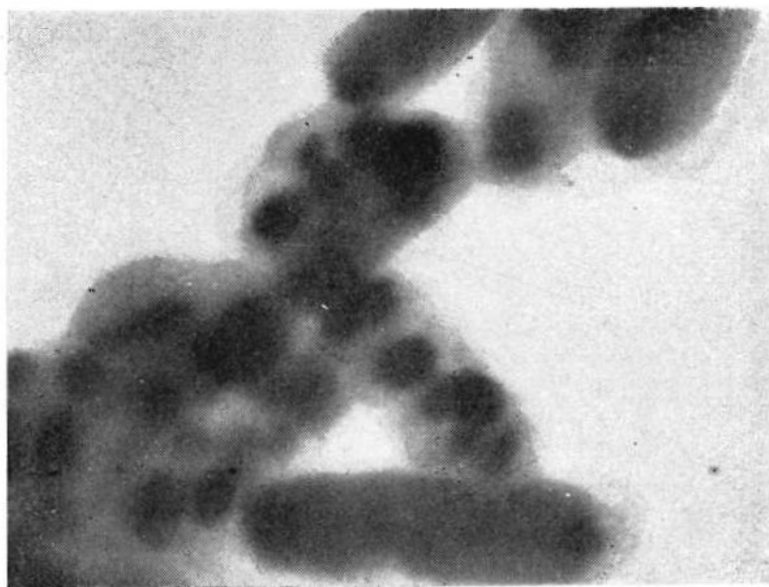


FIG. 6. — Come la Fig. 4, ma in presenza di dosi subinibenti di streptomicina. In alto individui come la Fig. 1, in basso un individuo analogo a quelli della Fig. 4.

RÉSUMÉ

D'après quelques recherches effectuées à l'aide du microscope électronique, il résulte que la streptomycine ne produit aucune altération morphologique sur l'*Escherichia coli* en phase anabiotique.

SUMMARY

Investigations carried out with the electron microscope have shown that streptomycin does not cause any morphological alteration in *Escherichia coli* in anabiotic phase.

ZUSAMMENFASSUNG

Aus den mit dem Elektronenmikroskop gemachten Untersuchungen geht hervor, dass das Streptomycin keine morphologische Aenderung in *Escherichia coli* — in anabiotischen Stadium — hervorruft.