

81. Francesco DI RAIMONDO e Vittorio ORTALI. — Sull'azione antibiotica della streptomicina associata a diverse sostanze.
Nota I.

Riassunto. — La tiamina, la piridossina, la lattoflavina e l'ac. p.aminobenzoico ritardano lo sviluppo del *Myc. avium*. Le due ultime sostanze esplicano sinergismo se impiegate con streptomicina. L'ac. folico e l'ac. pantotenico si comportano come fattori di crescita e ostacolano l'azione della streptomicina.

Résumé. La thiamine, la pyridoxine, la lactoflavine et l'acide p.aminobenzoïque retardent le développement du *Myc. avium*. Les deux dernières substances présentent une action synergique lorsqu'elles sont employées avec la streptomycine. L'acide folique et l'acide pantothénique se comportent comme facteurs de croissance et entravent l'action de la streptomycine.

Summary. Thiamine, pyridoxine, lactoflavin and p.aminobenzoic acid retard the growth of *Myc. avium*. The two last mentioned substances show synergism when used wisely with streptomycin. Folic acid and pantothenic acid behave as growth-promoting factors and interfere with the action of streptomycin.

Zusammenfassung. Das Thiamin, das Piridoxin, das Lactoflavin sowie die P.aminobenzosäure verzögern die Entwicklung des *Myc. avium*. Die zwei letzt genannten Substanzen entwickeln Synergismus wenn sie mit Streptomycin angewendet werden. Die Folsäure und die Pantotensäure erweisen sich als Wachstumsfaktoren und hindern die Wirkung des Streptomicins.

In questa prima nota sull'azione antibiotica della streptomicina associata a diverse sostanze, ci limiteremo a riferire le ricerche praticate con alcuni prodotti appartenenti al complesso vitaminico B.

Ricerche sistematiche su tale argomento non esistono; soltanto in un lavoro di Green e coll. (1947) il complesso B viene preso in esame, ma in maniera indiretta e non nei suoi singoli componenti. Tali AA., infatti,

studiando l'effetto inibente dei sali di alcuni acidi organici, come il piruvico e il fumarico, sulla streptomicina, uniscono al terreno di cultura, contemporaneamente, tutte le vitamine note del complesso B, ed in più un estratto di lievito allo scopo di provocare un'eventuale esaltazione dell'azione anti-streptomicinica dei piruvati e fumarati, senza tuttavia ottenere il risultato voluto.

Vitamine del complesso B furono invece associate ad un altro antibiotico, la penicillina, dallo Jalili (1946); questi osservò che, in « vitro », la lattoflavina esercita un notevole sinergismo nei riguardi dell'antibiotico contro lo *Staphylococcus aureus*. Acido nicotinico e tiamina non diedero invece alcun risultato, nè soli nè associati, anche in dosi assai elevate, alla penicillina.

Per quanto riguarda la tiamina, Tria e Lenti (1946), osservarono che tale sostanza, se tenuta a contatto per 1 h. in ambiente sterile con la penicillina, la rende inattiva sul germe sensibile. Tale inattivazione, tuttavia, non si verifica se le due sostanze vengono aggiunte contemporaneamente e non è provocabile con gli altri fattori di crescita presenti nel lievito.

Ricordiamo infine che, secondo quanto riferiscono Lecocq e Solomides (1947), l'acido para-aminobenzoico esercita una certa antibiosi sul colibacillo e rinforza da due a quattro volte l'azione antibiotica della penicillina e della streptomicina. Questi risultati sono di un notevole interesse e sollevano l'intera questione della funzione biologica dell'acido para-aminobenzoico, che non è qui il caso di affrontare. Ci limitiamo a ricordare però che le ricerche più moderne attribuiscono a questo composto proprietà nuove nei riguardi della cellula batterica e che contrastano con le nozioni classiche. Di Fonzo (1947), infatti, riuscì a dimostrare che in concentrazioni non superiori all'1/1000, l'ac. para-aminobenzoico inibisce o ritarda notevolmente la crescita del bacillo di Eberth e diminuisce la recettività delle cavie all'infezione tubercolare sperimentale: questi ultimi risultati vanno tuttavia accettati con riserva, dato il numero esiguo di animali trattati (10 e 10 di controllo) e l'insuccesso in quattro di essi; tale riserva persiste anche dopo le recenti ricerche di De Vita e Ramunni (1948), i quali, pur confermando tali risultati, specificano che l'attività antibatterica dell'ac. p.aminobenzoico si esplica solo se il prodotto viene usato a concentrazioni elevate...

TECNICA

Abbiamo sperimentato sul ceppo Cow 70 del *Mycobacterium avium*, coltivato su terreno di Sauton, addizionato di sostanza G 2124, che permette nella concentrazione dello 0,05% la crescita in profondità dei micobatteri, analogamente al Tween 80.

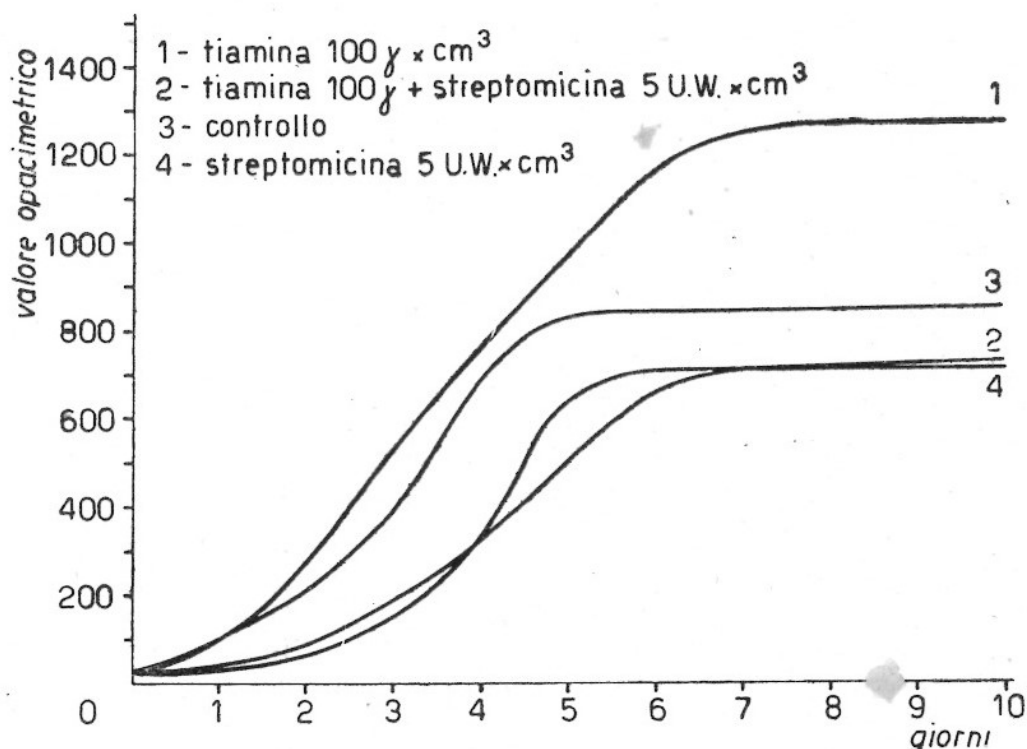


FIG. 1.

Le semine venivano eseguite con una emulsione di micobatteri lavati per tre volte in soluzione fisiologica; in ogni provetta, venivano insemenate ugual quantità di germi.

La valutazione dello sviluppo batterico è stata compiuta con l'apparecchiatura nefelometrica annessa al fotometro di Pulfrich; le osservazioni sono state eseguite fino alla decima giornata dall'inseminamento.

PARTE SPERIMENTALE

Per ciascuna sostanza impiegata sono state ricercate:

- a) l'azione specifica di tre differenti diluizioni (10, 100, 1000 γ per cm^3);
- b) l'azione associata a dosi subinibenti di streptomicina,

Sono stati istituiti, naturalmente, controlli con streptomicina sola e senza alcuna sostanza in esame; di tali controlli viene riferita la media dei risultati. Le esperienze sono state ripetute più volte.

Esprimiamo graficamente soltanto i dati sperimentali riferentisi a quelle sostanze che hanno dimostrato, sia da sole che associate all'antibiotico, un'attività particolarmente interessante; per tutte le altre osserva-

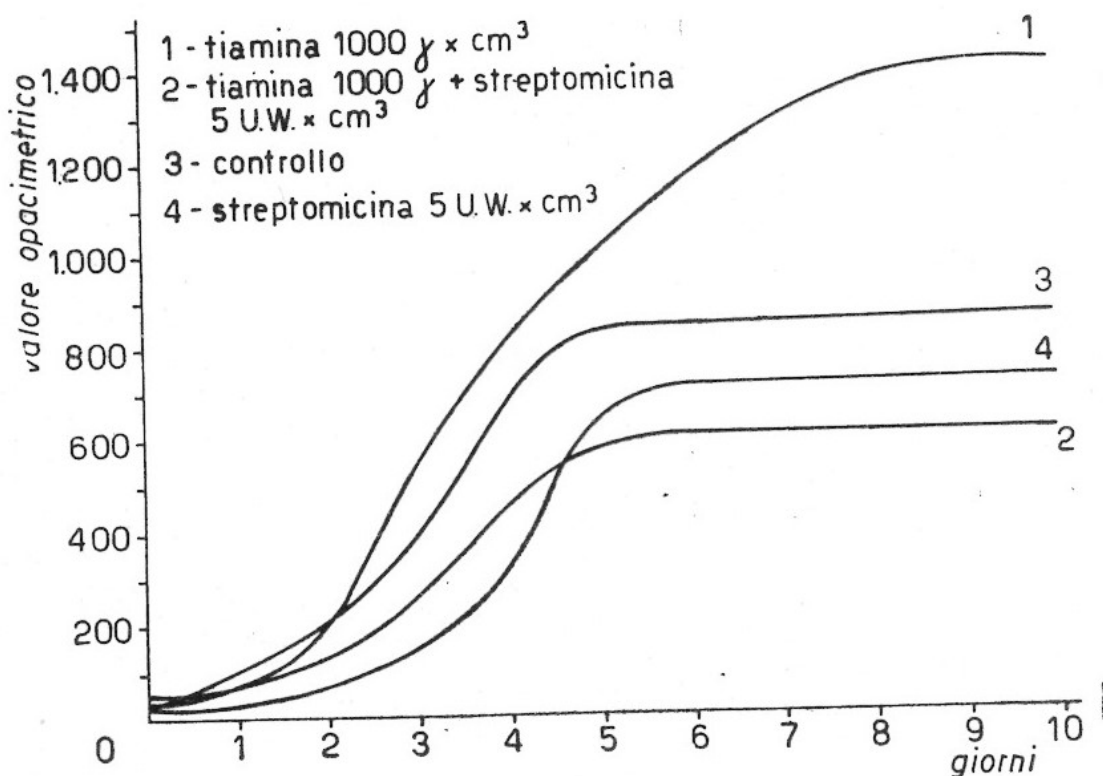


FIG. 2.

zioni ci siamo limitati, per semplicità e chiarezza, a riportare solo le modificazioni che, nei singoli casi, ha subito la curva di accrescimento.

Sono state prese in considerazione le seguenti sostanze: tiamina, lattoflavina, ac. folico, ac. para-aminobenzoico, amide nicotinica, piridossina, ac. pantotenico.

Ed ecco, in breve, i risultati salienti forniti da ciascuna di esse:

Tiamina. — In dose di 1000 e 100 gamma per cm^3 essa ha dimostrato di ritardare modestamente lo sviluppo batterico. Associata alla streptomicina ne ha rinforzato scarsamente l'azione, modificando tuttavia leggermente la curva di crescita del germe trattato, così come risulta dalle figure 1 e 2.

Lattoflavina. — Sono riferiti soltanto i risultati ottenuti con le concentrazioni di 100 e 10 gamma per cm^3 in quanto la dose di 1000 gamma induce nel terreno una colorazione che disturba un'esatta opacimetria.

In concentrazione di 100 gamma per cm^3 la lattoflavina ha dimostrato una discreta attività nel prolungare la durata della fase di latenza, potenziando modestamente l'azione della streptomicina: a dose minore, 10 gamma per cm^3 , essa accelera l'accrescimento batterico e inibisce modestamente l'azione della streptomicina. Tali risultati sono riferiti nelle figure 3 e 4.

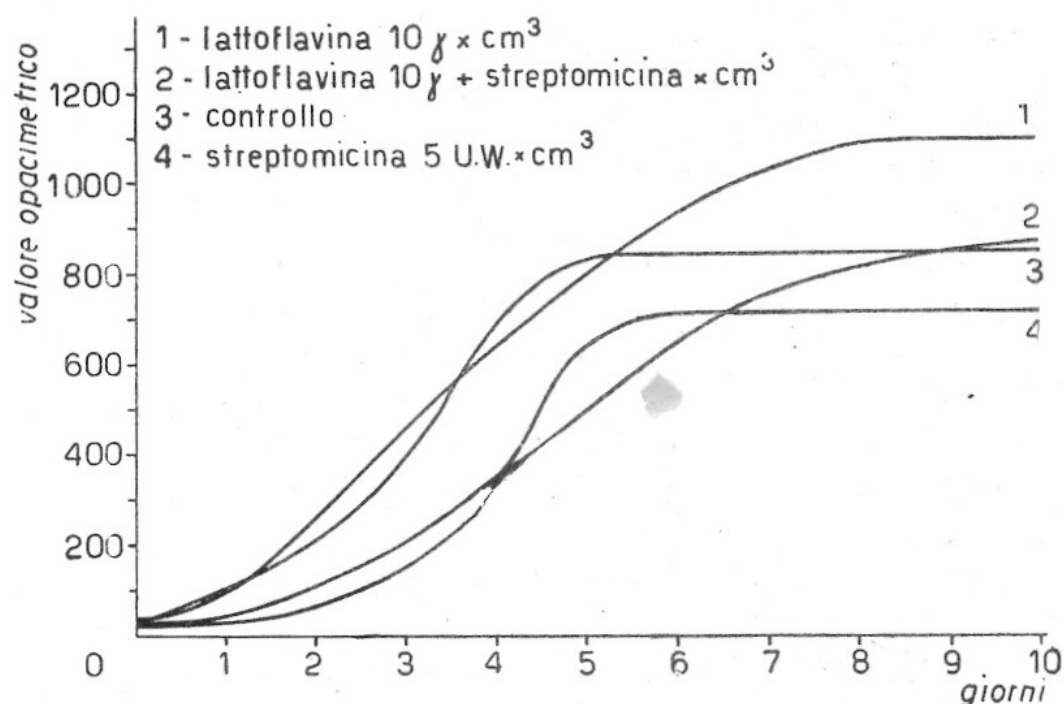


FIG. 3.

Acido folico. — La presenza di tale vitamina, specie se a bassa concentrazione ha determinato un notevole impulso nello svolgersi dei processi di moltiplicazione batterica. A dosi di 100 e 10 gamma la fase di latenza è stata notevolmente abbreviata.

Ac. para-aminobenzoico. — Tale sostanza ha manifestato un'attività proporzionalmente differente in ragione della sua concentrazione: 1000 gamma per cm^3 prolungano alla terza giornata la durata della fase di latenza (che nel controllo dura 24 ore) e la stessa dose rinforza di poco l'attività della streptomicina. Azione simile, ma in scala molto minore, è svolta da 100 gamma di acido para-aminobenzoico per cm^3 , mentre 10 gamma per cm^3 agiscono da fattore di crescita e fanno diminuire anche in maniera evidente l'azione antibiotica della streptomicina.

Amide nicotinica. — Da sola essa, in tutte e tre le concentrazioni, ha esercitato una modica azione ritardante la crescita del germe. Asso-

ciata alla streptomycin, in dose di 1000 gamma per cm^3 , ne ha scarsamente prolungata l'azione; in dosi inferiori è senza azione.

Piridossina. — In tutte tre le concentrazioni tale vitamina ha dimostrato di possedere notevoli capacità inibitrici sullo stipite usato, riuscendo ad allungarne di due giorni la fase di latenza.

Più modesto, invece, il rinforzo esercitato dalla piridossina sull'attività della streptomycin.

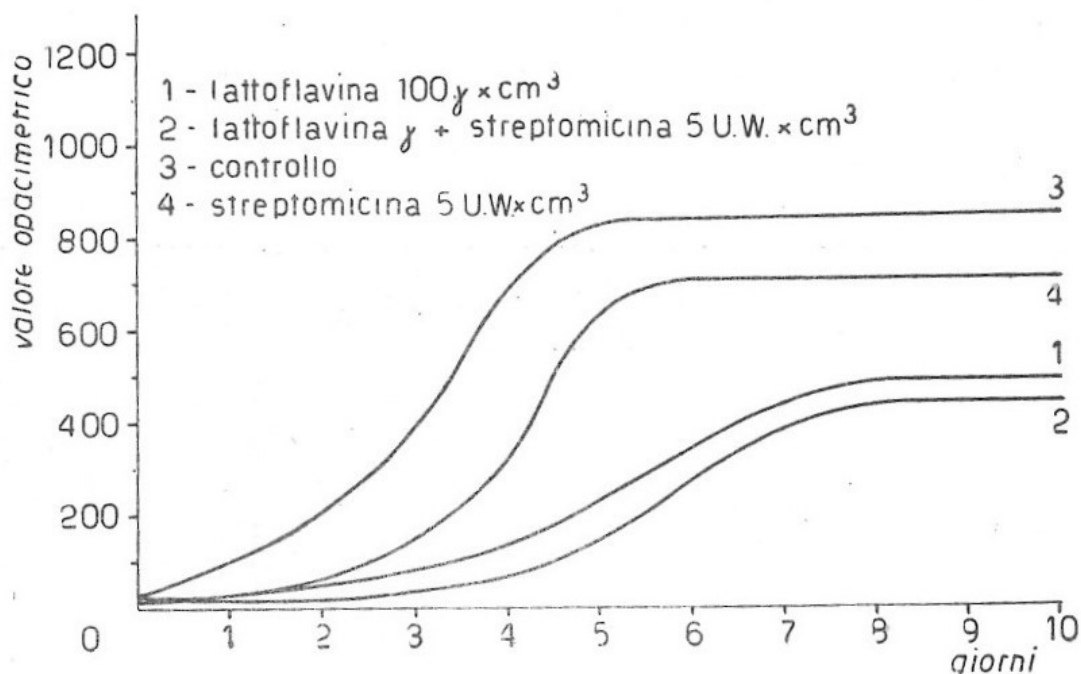


FIG. 4.

Acido pantotenico. — Da solo non ha alcuna attività specifica; associato alla streptomycin, in dosi anche di soli 10γ per cm^3 , ne diminuisce notevolmente gli effetti, tanto da ridurre ad oltre la metà il valore delle fasi di latenza.

Tutti questi risultati sono riportati nella tabella 1.

CONCLUSIONI

Dalle nostre esperienze si possono trarre le seguenti conclusioni:

1) La piridossina, la lattoflavina e l'acido para-aminobenzoico esercitano, se aggiunti in dosi elevate rispetto a quelle presenti normalmente nei liquidi organici e nelle culture batteriche, un'azione ritardante sullo sviluppo del *Mycobacterium avium*.

La lattoflavina e l'acido para-aminobenzoico esplicano anche, in associazione con dosi subinibitori di streptomycin, un sinergismo più o meno

TABELLA II.

Sostanza associata	Quantità per cm ³	Fase di latenza del germe in rapporto ai giorni di osservazione					Strepto- micina U. W. per cm ³	Sostanza associata	Quantità per cm ³	Strepto- micina U. W. per cm ³	Fase di latenza del germe in rapporto ai giorni di osservazione				
		1	2	3	4	5					1	2	3	4	5
Tiamina	1000 γ						—	Amide nicotina	1000 γ	—					
	100 γ						—		100 γ	—					
	10 γ						—		10 γ	—					
	1000 γ						5		1000 γ	5					
	100 γ						5		100 γ	5					
	10 γ						5		10 γ	5					
Lattoflavina	100 γ						—	Piridossina	1000 γ	—					
	10 γ						—		100 γ	—					
	100 γ						5		100 γ	5					
	10 γ						5		10 γ	5					
Acido folico	1000 γ						—	Acido pantotemico	1000 γ	—					
	100 γ						—		100 γ	—					
	10 γ						—		10 γ	—					
	1000 γ						5		1000 γ	5					
Acido para-aminobenzoico	100 γ						—	Controlli (media dei valori)	100 γ	—					
	10 γ						—		100 γ	—					
	1000 γ						5		1000 γ	5					
	100 γ						5		100 γ	5					
	10 γ						5		10 γ	5					

spiccato. Queste proprietà sono possedute anche, ma in misura molto scarsa e solo per le dosi più elevate, dall'amide nicotinica.

2) L'acido folico e l'acido pantotenico si comportano invece, soprattutto a dosi di 10 gamma per cm³, come fattori di accrescimento. Associati alla streptomicina, essi ne diminuiscono il potenziale antibiotico, abbreviando più o meno la fase di latenza del germe in confronto ai controlli con sola streptomicina.

3) La tiamina infine, da sola, esercita, specie nelle dosi più elevate, una modesta azione inibitrice; associata alla streptomicina, modifica l'intero decorso della curva di crescita provocando una generale depressione dei valori delle singole fasi della moltiplicazione cellulare.

Roma. — Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di Microbiologia.

BIBLIOGRAFIA

- P. DE VITA e M. RAMUNNI, Sull'azione batteriostatica dell'acido p-aminobenzoico, Riv. Ist. Sieroterap. It., Sez. I, 23, II, 113-117 (1948).
- M. DI FONZO, Attività antibatterica dell'acido para-aminobenzoico « Il Farmaco », 4, 287-295 (1947).
- S. R. GREEN, WARREN e S. WAKSMAN, Effect of organic acids on streptomycin activity, Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 67, 295-288 (1947).
- M. JALILI, Synergic effect of ascorbic acid and riboflavin on penicillin in vitro, Nature, 153, 731-732 (1946).
- R. LECOCQ e J. SOLOMIDÉS, Action antibiotique exercée sur le colibacille par l'acide para-aminobenzoïque, pur et associé à la penicilline ou à streptomycine, Sèance du 24 nov. 1947 de l'Académie de Sciences, rif. in Presse Medicale, 71, 826 (1947).
- TRIA e LENTI, Azione della vitamina B, associata alla penicillina, sullo sviluppo dello stafilococco in vitro, Archivio di Scienze biologiche, 31, 315-322 (1946).
- S. A. WAKSMAN, Microbial antagonisms and antibiotic substances, New York, The Commonwealth Fund., II, 266 (1947).
-