

## Satelitismo microbiano: *Actinomyces israeli*-*Streptococcus* sp.

Por P. NEGRONI y C. A. N. DAGLIO

Recientemente, sembrando en tubos de agar blando glucosado en columna, el material extraído de un foco actinomicótico cervicofacial hemos tenido la oportunidad de observar en los cultivos de 48 hs. de incubación a 37°C. el fenómeno particular que relatamos en este trabajo.

Como puede apreciarse en la fotografía que lo ilustra, se desarrollaron colonias típicas de *Actinomyces israeli* (Kruse, 1896) algo mayores de 1 mm. de diámetro, multilobuladas, compactas, blancuecinas rodeadas de una constelación de pequeñas colonias lenticulares.

Nuestra primera impresión fué la de que se trataba de un hecho ya señalado por Negroni y Bonfiglioli <sup>(1)</sup> en ciertas cepas de *Act. israeli* de colonias poco compactas que al desarrollarse en contacto con la pared del tubo se presentaban con un núcleo central denso rodeado de numerosísimas colonias diminutas, como si hubieran estallado al contacto de la resistencia ofrecida por el vidrio. Sin embargo, examinando más detenidamente este aspecto particular del desarrollo, pudimos comprobar que se extendía a casi todas las colonias de *Actinomyces*, tanto las desarrolladas en contacto con las paredes del tubo como las situadas en el interior.

Observando bajo el microscopio el material tomado de la colonia grande central y de las pequeñas satélites, nos sorprendió el hallazgo de que la primera era, efectivamente, un *Actinomyces* pero, las segundas correspondían a un *Streptococcus* sp. Se trataba pues de un caso de satelitismo desarrollándose las colonias del *Streptococcus* a varios milímetros a la redonda de las de *Actinomyces*, como si este último microorganismo sintetizara cierto factor difusible, necesario para el crecimiento del *Streptococcus*.

En el fenómeno de satelitismo descrito por Grassberger en 1897 el *Haemophilus influenzae* dependía de cierto factor sintetizado por el *Staphylococcus* designado posteriormente como factor V e identificado por Lwoff a la coenzima de Warburg y Christian (trifosfopiridin-nucleótido).

En nuestro caso se trata de un *Streptococcus* procedente, posiblemente, de la boca que depende para su desarrollo de un factor sintetizado por el *Act. israeli*.

Según los datos bibliográficos que hemos obtenido, Rane y Subbarow (citados por Koser y Saunders, 1938) demostraron que una cepa de *Streptococcus* hemolítico requería para su desarrollo una mezcla de glutatión, tiocromo, flavina, ácido nicotínico, betaina, glucosamina y un precipitado cálcico alcohólico de extracto de hígado. Según Peterson y Peterson <sup>(3)</sup> el *Streptococcus* hemolítico puede sintetizar la tiamina, pero el *Streptococcus salivarius* carece de esta propiedad y fué precisamente utilizado por Niven y Smiley <sup>(4)</sup> como método biológico para la determinación de la vitamina B<sub>1</sub>. Kliger Grossowicz y Bergner <sup>(5)</sup> demostraron que ciertas bacterias requieren ácido nicotínico y tiamina en un medio de cultivo glucosado. Snell <sup>(6)</sup> confirmó los resultados de Peterson y Peterson, comprobando que el *Str. salivarius* requiere tiamina o cocarboxilasa (pírofosfato de tiamina). Es sabido la importancia que tiene esta coenzima en el metabolismo de los hidratos de carbono por catalizar la oxidación del ácido pirúvico. Ciertos microorganismos como la levadura pueden sintetizarla a expensas de la tiamina y fosfatos, pero debido al tamaño mayor de su molécula (incapaz de atravesar la membrana celular), no utilizan la cocarboxilasa presente en el medio de cultivo.

De lo expuesto dedujimos que nuestro *Streptococcus* fuera, probablemente el *Streptococcus salivarius* que necesita la tiamina como factor de crecimiento. Desgraciadamente no hemos podido obtener su cultivo y, por consiguiente, clasificarlo.

Recordaremos que la tiamina o vitamina B<sub>1</sub> contiene, según la fórmula establecida en 1936, el núcleo pirimidina unido al núcleo tiazol y que las pirimidinas y purinas son constituyentes esenciales del ácido nucleico. La tiamina conserva sus propiedades por calentamiento en medio ácido, pero las pierde por igual tratamiento en medio alcalino.

Faltaba pues indagar si ciertos *Actinomyces* son capaces de sintetizar la tiamina. Orr y Reader <sup>(7)</sup> demostraron que el *Act. coralinus* requiere la presencia de vitamina B<sub>1</sub> en un medio de cultivo mineral para su desarrollo y lo utilizaron como método biológico para su determinación. MacKinnon <sup>(8)</sup> observó, por el contrario, que el *Act. albus* estimulaba el crecimiento del *Trichophyton discoides* en un medio sintético y permitía el del *Phycomyces blakesleeanae* y como obtuviera los mismos resultados mediante la adición de tiamina, dedujo que el *Act. albus* sintetizaba esta substancia.

De extraordinario interés resultan las investigaciones de Brecher y Wigglesworth <sup>(15)</sup> quienes revelaron que existen microorganismos

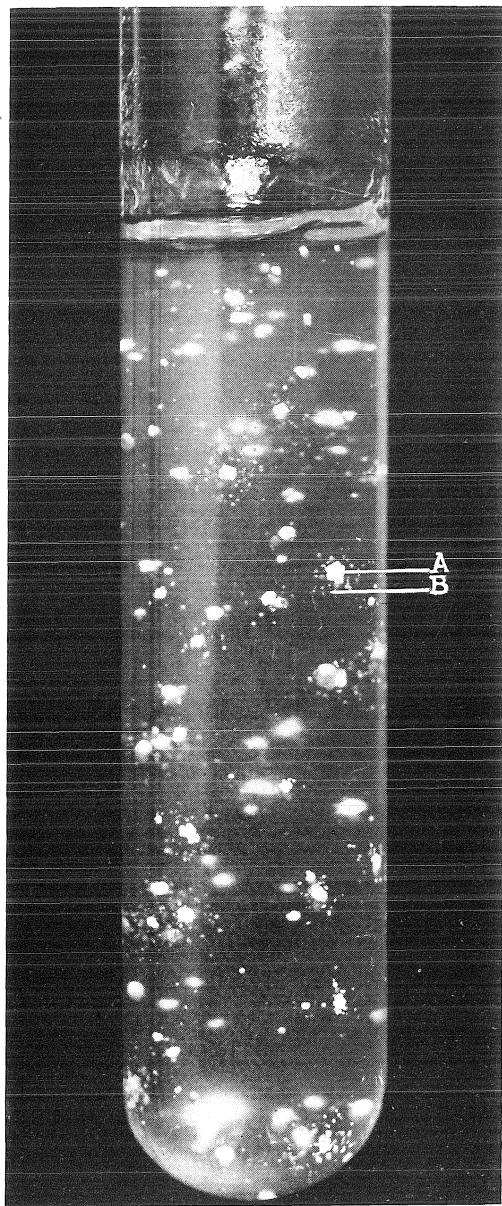


FIG. 1. — Satelitismo microbiano del *Streptococcus* sp., colonias (B) respecto al *Actinomyces israeli* (A).



simbióticos en insectos chupadores que se alimentan de sangre durante todo su ciclo vital (*Rhodnius* y *Triatomas*). Estos autores aislaron de la cloaca de adultos y ninfas de *Rhodnius* un *Actinomyces*, designado por Erickson *Act. rhodni* cuya presencia parece necesaria para las mudas y la reproducción y que, según sus experiencias, se debe a que el *Actinomyces* en cuestión provee del complejo vitamínico B necesario para que pueda actuar la hormona de las mudas.

*Nuestras experiencias:* Con el objeto de demostrar que el *Act. israeli* sintetiza probablemente la tiamina, obtuvimos su desarrollo en caldo glucosado (anaerobiosis), lavándolo por centrifugación con solución fisiológica dos veces. El sedimento obtenido fué suspendido en solución fisiológica y dividido en cuatro lotes: a) suspensión no calentada, b) suspensión calentada a 70°C. durante media hora, c) suspensión adicionada de hidrato de sodio (0,1 ml. de OHNa N/1 para 2 ml. de suspensión) calentada como la precedente, y d) igual que la anterior pero adicionada de solución normal de HCl. El material c) y d) fué neutralizado después del calentamiento.

Por otro lado preparamos el siguiente medio de cultivo mineral: sulfato de magnesio 0,5 g., fosfato monopotásico 1,5 g., adicionado de 10 g. de glucosa y 1 g. de asparagina para un litro de agua destilada y distribuido en volumen de 20 ml. en frasquitos de Erlenmeyer de 50 c.c. de capacidad. Todos los frasquitos fueron sembrados con igual volumen de una suspensión en agua destilada de esporos de un cultivo de *Phycomyces Blakesleeanus*, disponiendo nuestra experiencia por cuadruplicado en la siguiente forma: 1) medio básico adicionado de 1 ml. de solución fisiológica, 2) adicionado de 1 ml. de suspensión de *Act. israeli* de una opacidad equivalente al tubo N° 3 de la escala de McFarland, 3) adicionados de 1 ml. de la suspensión de *Actinomyces* calentada a 70°C. media hora, 4) íd. en medio alcalino, y 5) íd. en medio ácido.

Resultados: El desarrollo fué casi nulo en los medios 1) y 4) y bueno en los restantes.

#### COMENTARIO

Del resultado de nuestras experiencias deducimos que el *Act. israelis* sintetiza una substancia hidrosoluble, puesto difunde en el medio de cultivo, que permite el desarrollo de un *Streptococcus sp.* ocasionando el fenómeno del satelitismo.

Esta substancia es, probablemente la tiamina, por los siguientes motivos: a) es un factor de crecimiento para el *Streptococcus salivarius*, b) permite el desarrollo del *Phycomyces blakesleeanus* en un medio de cultivo deficiente y sabemos desde los estudios de

Schopfer (1935) que este hongo necesita para vegetar en un medio sintético la presencia de la vitamina B<sub>1</sub>, c) la tiamina es necesaria para ciertos microorganismos cuando la glucosa está presente en el medio de cultivo y nuestro fenómeno de satelitismo fué, precisamente, observado en agar blando glucosado, y d) la substancia sintetizada por el *Act. israeli* se destruye como la tiamina por calentamiento en medio alcalino resistiendo, en cambio, el calentamiento en medio ácido.

### RÉSUMÉ

Nous avons observé le phénomène de satellitisme d'un *Streptococcus* sp. provenant de la bouche (probablement le *Streptococcus salivarius*) vis-à-vis de l'*Actinomyces israeli*. Nous croyons que l'*Act. israeli* synthétise une substance hydrosoluble, difusible dans le milieu de culture qui permet le développement du *Streptococcus*. Cette substance est, probablement, la thiamine puisqu'elle est un facteur de croissance aussi pour le *Phycomyces Blakesleeanus* et elle est détruite par le chauffage en milieu alcalin.

### BIBLIOGRAFÍA

- (1) NEGRONI, P. y BONFIGLIOLI, H. J.: *Trop. Med. & Hyg.*, 1937, 40, 226.
- (2) KOSER, S. A. y SAUNDERS, F.: *Bact. Rev.*, 1938, 2, 99.
- (3) PETERSON, W. H. y PETERSON, M. S.: *Bact. Rev.*, 1945, 9, 49.
- (4) NIVEN, C. F. JR. y SMILEY, K. L. J.: *Biol. Chem.*, 1943, 150, 1.
- (5) KLIGER, I. G., GROSSOWICZ, N. y BERGNER, S.: *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 1943, 52, 332 and *J. Bact.*, 1943, 46, 399.
- (6) SNELL, E. E.: *Ann. Rev. Bioch.*, 1946, 15, 375.
- (7) ORR-EWING, J. y READER, V.: *Bioch. J.*, 1928, 22, 440.
- (8) MCKINNON, J. E.: *Bull. Torrey Bot. Club*, 1942, 69, 21.
- (9) SINCLAIR, H. M.: *Bioch. J.*, 1938, 32, (2) 2185.
- (10) KNIGHT, B. C. J. G.: *Bioch. J.*, 1937, 31, (1), 966.
- (11) FILDES, P.: *Lancet*, 1940, 238, 955.
- (12) SCHOPFER, W. H.: *Plants and vitamins. Chronica Botanica Co.*, N. York, 1943.
- (13) WELCH, A. D.: *Physiol. Rev.*, 1945, 25, 687.
- (14) WOOLLEY, D. W.: *Science*, 1944, 100, 579.
- (15) BRECHER, G. y WIGGLESWORTH, V. B.: *Parasitology*, 1943, 1944, 35, 220.