

Aislamiento de una estirpe de *Streptomyces griseus* no productora de Estreptomicina

por

F. Bustinza

De una muestra de tierra recogida por mí en la Cueva de Zugarramurdi, en Navarra, he aislado una serie de *Streptomyces* con el aspecto morfológico y con características culturales similares al *Streptomyces griseus*, pero dicha estirpe no produce estreptomicina.

Para el aislamiento he diluído la muestra de tierra en agua destilada estéril a las concentraciones de 1 en 1.000, 1 en 10.000 y 1 en 100.000. De estas diluciones se pusieron 1 c. c. por placa Petri y se adicionó después en cada placa 10 c. c. de *agar-albúmina de huevo* previamente fundida y enfriada después hasta unos 42°-44°, se mezcló bien por ligero movimiento de rotación de las placas, se dejaron éstas enfriar para que se solidificara el medio y después se pusieron las placas en la estufa a 28°. Por cada dilución se sembraron tres placas.

A los pocos días de incubación aparecieron en las placas pequeñas colonias mates de color blanquecino algo grisáceo con el aspecto típico de colonias de Actinomicetos. Tomé de las colonias, hice las preparaciones correspondientes y confirmé por el examen microscópico que se trataba de un Actinomiceto.

Resembré de esas colonias en placas de *agar-glucosa-esparraguina* para obtener un cultivo puro y de las placas se resembró a tubos con *agar-glucosa-esparraguina* en los que los *Streptomyces* esporulan bien y que es el medio que corrientemente empleo para conservar cultivos de *Streptomyces*.

Cultivé también en portas en los que había puesto previamente gotas de *agar-glucosa-esparraguina* diluido y así pude seguir la formación del micelio secundario o aéreo a expensas del micelio primario y asimismo la formación de las cadenas de esporas, lo que me permitió identificar al Actinomiceto aislado como un *Streptomyces*.

El aspecto macroscópico de este *Streptomyces*, en los medios a base de *agar-glucosa-esparraguina*, era del todo similar al *Streptomyces griseus* de mi colección, que yo había traído en 1946 de los Estados Unidos y que es el que corrientemente empleamos en las experiencias y prácticas de obtención de estreptomycinina. En vista de ello decidí explorar las facultades antagonistas del *Streptomyces* que había aislado y para ello preparé seis placas Petri con medio nutritivo que llamamos *medio de exploración* (1), hice una suspensión en agua destilada estéril de esporas del *Streptomyces* aislado y las repartí con pipeta fina estéril en estria longitudinal a lo largo de una línea paralela al diámetro de cada Petri. Se incubaron durante tres días las placas así sembradas en la estufa de cultivo a 28° y al cabo de ese tiempo se sembraron en dirección perpendicular a la colonia del *Streptomyces* cultivos en caldo de veinticuatro horas de diversas bacterias: *Estafilococo H*, *Escherichia coli*, *Bacillus mycoides*, *Mycobacterium phlei*, *Mycobacterium smegmatis*, *Sarcina lutea*, *Klebsiella 41*, *Klebsiella ozenae*, *Pseudomonas aeruginosa* y una especie de *Protus*.

Se incubaron las placas en la estufa a 37° y a las veinticuatro horas se hicieron las observaciones, resultando que las colonias de *Escherichia coli*, *Klebsiella 41*, *Klebsiella ozenae*, *Pseudomonas aeruginosa* o bacilo pociánico y *Protus sp.* crecían perfectamente hasta el borde mismo de la colonia del *Streptomyces*. El *estafilococo H* no crecía en las proximidades del *Streptomyces*, lo que indicaba que era algo sensible a la sustancia segregada por éste; los dos *Mycobacterium* ensayados, el *M. phlei* y el *M. smegmatis* eran bastante sensibles y la *Sarcina lutea* y el *Bacillus mycoides* eran muy sensibles a la sustancia o sustancias segregadas por el *Streptomyces*.

(1) La composición de este medio es la que sigue: peptona, 5 gramos; glucosa, 10 gramos; extracto de carne Difco, 3 gramos; cloruro sódico, 5 gramos; agar-agar, 15 gramos; agua destilada, 1.000 c. c., y ajustar el pH a 7,5.

Las fotografías 1 y 2 corresponden a algunas de estas experiencias.

Como las bacterias Gram negativas ensayadas no se revelaron sensibles a la influencia del antibiótico elaborado por ese *Streptomyces* y en cambio eran sensibles a la estreptomycinina, pude inferir que no era estreptomycinina la sustancia responsable de la acción antagonista de ese *Streptomyces* frente al *Bacillus mycoides*, *Sarcina lutea* y especies saprofitas de *Mycobacterium*.

Sabíamos, por los trabajos de Waksman, que existen numerosas estirpes de *Streptomyces griseus* que no producen estreptomycinina, y aunque el *Streptomyces* aislado tenía todo el aspecto de un *Streptomyces griseus*, dudamos en la identificación y aprovechando la visita del Dr. Addinall, envié con él al Profesor Waksman varios cultivos y entre ellos uno al que le puse en la etiqueta la letra Z y que correspondía al cultivo del *Streptomyces* aislado de la tierra de la cueva de Zugarramurdi.

Al cabo de varias semanas y en carta que lleva fecha del 17 de marzo de 1949, el Profesor Selman A. Waksman, primera autoridad mundial en Actinomycetos, me informó amablemente así: «El cultivo Z que usted me ha enviado es muy similar en aspecto y en propiedades culturales al *S. griseus*, pero no produce nada de estreptomycinina».

RESUMEN

Hemos aislado de una muestra de tierra de la cueva de Zugarramurdi un *Streptomyces* con todo el aspecto del *S. griseus*, pero esta estirpe no produce estreptomycinina. Es bastante activa *in vitro* frente a las estirpes de *Mycobacterium saprofitos* ensayadas y muy activa frente a *Sarcina lutea* y al *Bacillus mycoides* y es inactiva frente a las estirpes ensayadas de bacterias Gram negativas.

SUMMARY

We have isolated from a sample of soil from Zugarramurdi a *Streptomyces* with the aspect of a *Streptomyces griseus*. It does not produce streptomycin, but is active against the saprofitic *Mycobacterium* tested, and very active against *Sarcina lutea* and *Bacillus mycoides*. It is inactive against the Gram negative bacteria tested.

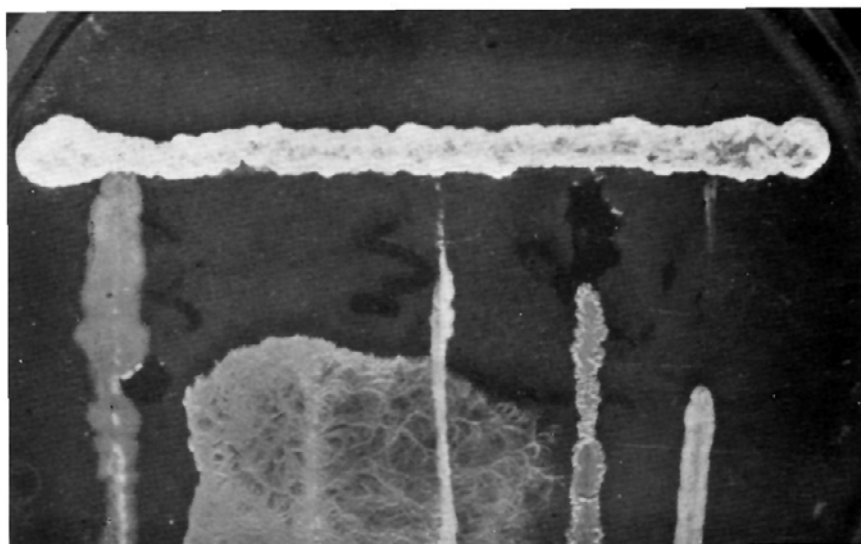


Fig. 1.—La colonia horizontal corresponde a la estirpe de *Streptomyces griseus* aislada de la tierra Zugarramurdi.

Se han sembrado en estría y en dirección perpendicular a la colonia del *Streptomyces*, de izquierda a derecha, las siguientes bacterias: *Escherichia coli*, *Bacillus mycoides*, *Staphylococcus H*, *Mycobacterium phlei* y *Sarcina lutea*.

El *B. mycoides*, después de varios días de crecimiento ha ido invadiendo la placa.

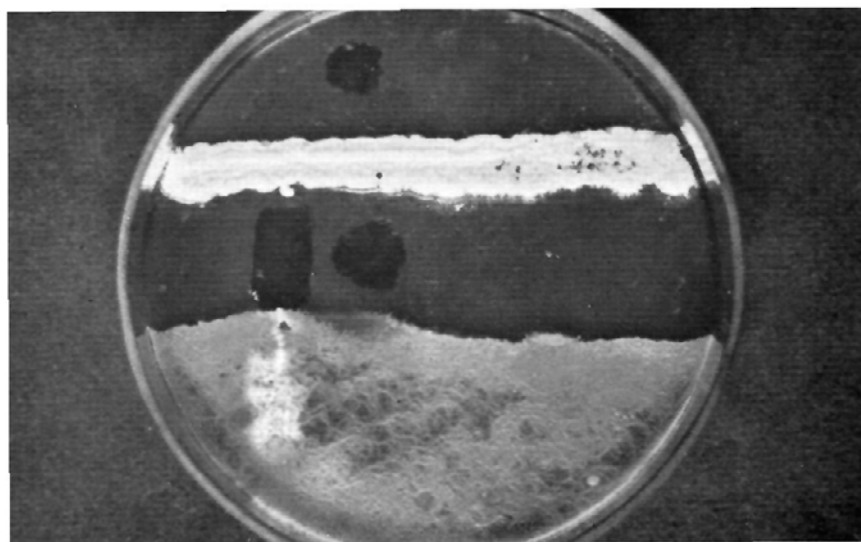


Fig. 2.—La colonia horizontal superior corresponde a la estirpe de *Streptomyces griseus* aislada de la tierra de Zugarramurdi.

La zona inferior de la placa corresponde al *Bacillus mycoides*.