

Catedra de epidemiologie a I.M.F. din Tg.-Mureș (cond.: prof. L. Boér)

CONTRIBUȚII LA STUDIUL EXPERIMENTAL AL MORFOLOGIEI BACILULUI CITROBACTER (ESCHERICHIA FREUNDII)

G. Horváth, Gy. Filep, Susana Almási

Denumirea și clasificarea bacilului citrobacter (*E. freundii*) nu este unitară. După *Kauffmann* (12) „dacă considerăm aceste enterobacterii ca o grupă independentă, atunci denumirea de *Citrobacter* este indicată, dacă această grupă se conține ca o specie a unui gen (genus) *Escherichia* atunci denumirea de *E. freundii* este motivată. Denumirea de *Bethesda* (sau *Bethesda Ballerup*) ar fi indicată pentru o grupă de *E. freundii*, care fermentează lactoza tardiv sau neregulat“.

În prezent sub denumirea de citrobacter se înțeleg acele enterobacterii, care pe lângă unele proprietăți biochimice comune, au capacitatea de a utiliza citratul, ca unică sursă de carbon, și totodată pot fermenta lactoza. Ele se pot întâlni foarte frecvent în natură; în afara organismului uman și animal pot fi decelate în sol (26), în ape de suprafață (3, 23).

Patogenitatea lor încă nu este clarificată. Unii autori (7, 12, 18) o neagă, în timp ce majoritatea covârșitoare a publicațiilor atrag atenția asupra patogenității lor (4, 5, 6, 8, 9, 10), fapt confirmat și de autorii din patrie (3, 13, 15, 16, 17, 19, 21).

Aceasta ne-a determinat să studiem morfologia, fiziologia și ecologia bacilului citrobacter (*E. freundii*). Paralel cu aceasta am dori să-i precizăm rolul în patologia umană.

În lucrarea de față vom expune rezultatele noastre asupra proprietăților morfologice ale bacilului.

Materialul studiat și metodologia

În cadrul experiențelor am utilizat culturi standard de citrobacter (*E. fr.*) provenite de la Centrul Internațional de Salmoanel și *Escherichia* din Copenhaga puse la dispoziția noastră de către Institutul „Dr. I. Cantacuzino”.

Din aceste culturi am elaborat un preparat fixat cu formol și umbrat cu aur, pe care l-am examinat la microscop electronic de masă T.E.S.L.A. B.S. — 242.

Pentru studiul microstructurii bacilului, culturile standard — după fixarea lor conform metodei Pallade — au fost incluse într-un amestec metil — butyl metacrilat 1:4, apoi polimerizate la 56°C și secționate cu ultramicrotomul Reichert pentru a fi examinate la microscop electronic.

Rezultate:

În figura nr. 1 observăm o citoplasmă neomogenă, care conține totodată conglomerate (concentrări) de citoplasmă, precum și porțiuni penetrabile pentru razele microscopului electronic.

În figura nr. 2 distingem 3 conglomerate bine delimitate, omogene, iar în rest o structură granuloasă.

Pe ambele fotocopii putem descoperi: peretele celular bistratificat, precum și membrana citoplasmatică.

Figura nr. 3 reprezintă un aspect de diviziune celulară și 2 cili. Observăm inserția unui cil la nivelul membranei citoplasmatică, traiectul cilului care traversează peretele celular și morfologia ondulată a traiectului cilului în porțiunea sa extracelulară.

Figura 3/a anexată în scop comparativ, reprezintă *Esch. coli* cu cili (cit. Gunsalus I. C., Stanier R. J.).

Pe figura 4 se poate vedea *Esch. freundii*, care dispune de fimbrii și seamănă totodată cu varianta de *Esch. coli* cu fimbrii; (publicată de Gunsalus I. și Stanier R. J. fig. 4/a).

Figura 5 reprezintă peretele celular în secțiune cu o structură granuloasă și contur dublu. În secțiunea longitudinală notată cu litera A vedem concentrarea cromatinei în 4 puncte distincte, legate între ele prin formațiuni filamentoase și granuloase. Acest aspect seamănă cu anafaza diviziunii mitotice.

Cu titlu comparativ publicăm fig. 5/a (citată după Gunsalus I. C. — Stanier R. J.), care de asemenea ne prezintă concentrația cromatinei fără a arăta mitoză menționată.

Figura 6 ne arată cum cele 2 corpuri de bacterii sînt legate printr-o bridă protoplasmatică. Dintre cele două bacterii una are formă bacilară, iar cealaltă ovală.

* Pe această cale ne exprimăm mulțumirile noastre către Institutul „Dr. I. Cantacuzino” pentru trimiterea tulpinilor.

Pe suprafața de secțiune a ambelor bacterii se observă o zonă centrală avînd o structură stratificată. Concentrația straturilor nu este uniformă. Zona cu o permeabilitate mai accentuată față de razele microscopului electronic apare într-o colorație mai deschisă, în comparație cu straturile mai dense. Această zonă are o structură omogenă la nivelul celulei ovale, pe cînd la cea bacilară este granulară, fiecare granulă avînd un halou mai transparent, restul citoplasmei este neomogenă, cu un caracter vacuolar.

Figurile 6/a, 6/b au scop comparativ (citate după Gunsalus I. C. și Stanier R. J.), în care la *Esch. coli* se pot observa caractere structurale asemănătoare.

Interpretarea rezultatelor.

Aprecierea clișeelelor efectuate cu microscopul electronic este dificilă. Imaginea obținută este în funcție de mai mulți factori. Astfel, în primul rînd depinde de tehnica utilizată, de prezența diferitelor săruri, de condițiile de pH, care pot duce la modificări considerabile. De aceea unii consideră că elementele corpusculare și concentrațiile de citoplasmă sînt artefacte (11).

Totodată diferențe relativ mici, existente între presiunea osmotică a citoplasmei și mediul exterior, explică fenomenul de plasmoliză și plazmotiză.

Deviații de formă pot apare de asemenea la prepararea unor secțiuni ultrasubțiri.

Analizîndu-se materialul prin prisma datelor de mai sus, pe clișeele noastre pot fi observate schimbări variate. Astfel plasmoliza se poate descoperi în figurile 1, 2 și 3. În figura 4 se văd fimbrii, care spre deosebire de cili sînt elemente mai scurte și drepte. Numărul lor de obicei întrece numărul cililor. Rolul lor nu este încă determinat. E cunoscut faptul că dispun de o antigenitate specifică, nu iau parte la mișcările active ale bacteriilor și se presupune că ar avea un rol în fixarea bacilului pe suprafețele solide și în hemaglutinare.

O altă problemă care necesită explicație o constituie problema substanței cromatine. Și în această problemă opiniile sînt contradictorii. Unii acceptă prezența cromatinei, care poate fi o granulă sau un filament de cromosom, în corpul bacteriei. Alții sînt de părere că aceste granule și filamente apar artificial ca o consecință a manipulărilor tehnice.

Cromatina în realitate, poate îmbrăca forme variate, în funcție de prezența sărurilor și a diferențelor de pH.

Se poate presupune că stratifierea elementelor granuloase ale protoplasmei ar fi în legătură cu activitatea ei multilaterală. Figurile 5 și 6 prezintă structura ultrafină a bacilului *E. freundii*. Fig. 5, după cum am mai amintit, seamănă mult cu anafaza diviziunii celulare mitotice. Pentru fig. 6 pot fi posibile două explicații:

a) Reprezintă conjugarea celor două corpuri de bacterii. Această formă de reproducere în cazul *Esch. freundii* nu este încă complet elucidată.

În fotografie se poate vedea o bridă protoplasmatică care leagă cele 2 bacterii.

b) Poate fi vorba despre un individ în înmugurire, aspect nedescris pînă în prezent la *E. freundii*.

Oricare ar fi modul de regenerare, cert este faptul, că numai bacteria care e în curs de reproducere are formă bacilară, iar protoplasma ei, fiind mult mai diferențiată conține un număr însemnat de granule de nucleoproteide.

Conglomerarea cromatinei se poate observa și la *E. coli*. Fig. 6/a, 6/b și 6/50 (cit. Gunsalus I. C., Stanier R. J.).

Comparînd observațiile noastre referitoare la *Citrobacter*, cu datele altor autori privind *E. coli*, se constată că între cele 2 specii există o asemănare morfologică accentuată, uneori chiar o identitate.

Concluzii

În cursul examinărilor efectuate la *E. freundii* am făcut următoarele observații:

1. Bacilul *Citrobacter* are cili, uneori chiar fimbrii, totodată dispune de un perete celular dublu. În citoplasmă se pot observa formațiuni de cromatină care

uneori sînt legate între ele prin granulații și filamente. Acest tablou seamănă foarte mult cu anafaza mitozei celulare.

2. În secțiuni ultrafine am observat tabloul conjugării sau forma rară a reproducției prin înmugurire.

3. Nu am putut constata o diferență morfologică însemnată între *E. freundii* și *E. coli*.

Sosit la redacție: 1 aprilie 1961.

Bibliografie

1. ALFÖLDI-IVANOVICS-RAUSS: Orvosi mikrobiológia (1960). Medicina Kiadó, Bp. 258, 270; 2. BARNES L. A., CHERRY W. B.: Am. J. Publ. Health (1946), 36, 481; 3. BOËR L., DOMOKOS L., AKSZENYUK M., SZEKELY B., HORVATH G., KELEMEN M.: Rev. Med. (1962), 1, 48; 4. BURIAN V., PESAK V., KOPL I., URBACKOVA M., VOJTOVA M.: cit. Sedlák (1957); 5. CEFALU M., REALMUTO A.: Bolettino I.S.M. (1955), 34 (3—4); 6. EDWARDS P. R., WEST M. G., BRUNDER D. W.: J. Bact. (1948), 55, 711; 7. EDWARDS P. R., EWING W. H.: Am. J. Publ. Health (1952), 42, 665; 8. FRANTZEN A.: Acta Path. Microbiol. Scand. (1950), 27, 647; 9. FREDERICQ P., BETZ-BAREAU M.: C. R. Soc. Biol. (1948), Paris, 142, 1180; 10. GALBRAITH E. L., CROSSLEY V. M.: Canad. J. Publ. Health. (1953), 44, 172; 11. GUNSALUS I. C., STANIER R. J.: The bacteria, Academic Press, New-York, London, 1960; 12. KAUFFMANN F.: Enterobacteriaceae, Munksgaard, Copenhagen, 1954; 13. KELEMEN L., BOËR L., AKSZENYUK M., HORVATH G., SZEKELY B.: Rev. Med. (1963), 4, 415; 14. KLEINMEYER H., SCHAFFER E.: Zbl. Bakt. I. Orig. (1956), 165, 97; 15. MINTZER L.: Arch. Roum. Path. Expér. (1959), vol. 18, 4, 585; 16. MINTZER L., BENEȘ S.: J. Microbiol. Epidemiol. Immunol. (1957), 8, 8; 17. MINTZER L., ZILIȘTEANU E.: Microbiologia, București, 2 (1961), 2, 135; 18. MORAN A. B., BRUNER D. W.: J. Bact. (1949), 58, 695; 19. NESTORES-CU N.: Bacteriologia medicală, Edit. Med. Buc.; 20. POPOVICI MARCELA: Rev. Igienă-Microb. Edip. (1952), 6, 20; 21. SAKAZAKI R., NAMIOKA S., OSADA A., JAMADA C.: Japan J. Exp. Med. (1960) vol. 30, 1, 13; 22. SEDLÁK I., RISCHE H.: Enterobacteriaceae Infektionen, Leipzig 1961, 171, 14; 23. STUART C. A., WHEELER K. M., RUSTIGIAN R., ZIMMERMANN A.: J. Bact. (1943), 45, 101; 24. SEELIGER H.: Ztschr. Hyg. Infekt. Kr. (1952), 134, 383; 25. THOMAS S. B., DRUCE R. G., FLSON K.: J. appl. Bact. (1960), 23, 2, 169.