

proportion de germes encore vivants<sup>1</sup> et de substituer, au moins de façon approximative, une rapide coloration sur lame à la laborieuse numération des microbes vivants par les procédés usuels.

R. VENDRELY

Institut de chimie biologique de la Faculté de médecine de Strasbourg, le 28 février 1947.

### Summary

The existence of a process of directed mutation for a *Bacterium coli* through the action of the desoxyribonucleic acid released by another *Bacterium coli* during its autolysis raises the question of the behavior of the two sorts of nucleic acids during the autolytic desintegration of the bacterial cell. Working with several germs, we have seen that autolysis releases a nucleoproteid fraction containing from 20 to 30 per cent of nucleic acid. The desoxyribonucleic acid represents 50 to 70 per cent of the total nucleic acid; this value is very much higher than that of the initial germs, which contain but 20 to 30 per cent. The signification of the easy mobilization of the desoxyribonucleic acid by autolysis is discussed, according to the observations made in using ROBINOW's method of nuclear staining.

<sup>1</sup> Dans le cas spécial des levures S. STRUGGER (Flora 37, 73 [1943]) a déjà montré que l'emploi de certains colorants acridiniques permet de distinguer aisément cellules vivantes et cellules mortes.

### Essais de solubilisation et de détoxification de la Tyrothricine

La Tyrothricine<sup>1</sup> est un antibiotique extrait du *Bacillus brevis* par DUBOS<sup>2</sup>. Cet extrait s'oppose au développement de micro-organismes gram-positifs, *in vivo* et *in vitro*, et agirait à la façon d'un principe toxique plutôt que comme une enzyme. La Tyrothricine est un mélange de deux composants, actifs séparément, la gramicidine et la tyrocidine, obtenables sous forme cristalline. En général, à côté d'autres substances inactives, la gramicidine et la tyrocidine représentent respectivement 20% et 50% du poids total de la Tyrothricine totale. Ces substances peuvent être séparées et cristallisées en utilisant le fait que le chlorhydrate de la tyrocidine est beaucoup moins soluble dans l'éther que la gramicidine.

La Tyrothricine, la tyrocidine et la gramicidine – cette dernière beaucoup moins cependant – donnent dans l'eau distillée exempte d'électrolytes, de très stables solutions colloïdales. La gramicidine et, tout spécialement, la tyrocidine, se comportent comme des substances modifiant la tension superficielle. Cette propriété de la tyrocidine permet à la gramicidine de se maintenir d'une façon stable en solution colloïdale. Elle explique également l'action biologique de la tyrocidine: au point de vue physico-chimique, la substance se comporte comme un détergent cationique et possède les propriétés toxiques de ce genre de composé. Dans toutes les applications de la gramicidine, cette substance a été employée sous

forme de Tyrothricine, c'est-à-dire en association avec la tyrocidine,

1<sup>o</sup> parce que la présence de tyrocidine dans le mélange augmente la stabilité de la solution colloïdale de gramicidine;

2<sup>o</sup> parce que la tyrocidine possède, par elle-même, une certaine activité *in vivo*, même contre les gramm-négatifs;

3<sup>o</sup> parce que la Tyrothricine pourrait contenir des substances actives autres que la gramicidine et la tyrocidine, substances que la purification de l'extrait pourrait enlever.

La Tyrothricine ne peut être injectée en raison de son action hémolytique et de son action toxique sur les globules blancs. A l'heure actuelle, son emploi est limité aux infections localisées, accessibles à l'irrigation ou à l'application directe. Son emploi par injection serait intéressant à deux points de vue: le prix de la Tyrothricine est très inférieur à celui de la Pénicilline et son action n'est pas limitée par les conditions de conservation requises pour la Pénicilline.

Ceci étant, il nous a paru intéressant d'éprouver la possibilité d'employer, sous certaines conditions, la Tyrothricine en injection. Pour cela:

1<sup>o</sup> la suspension colloïdale n'était pas souhaitable et

2<sup>o</sup> l'action toxique sur les globules sanguins devait être annihilée.

Il semblerait que ce double but peut être atteint en un temps. Les solutions obtenues sont d'une limpidité parfaite et l'action toxique sur les érythrocytes et les poly-nucléaires suspendus dans du Ringer glucosé contenant 100 γ par cm<sup>3</sup> de Tyrothricine traitée se révèle nulle. – D'autre part, la Tyrothricine ainsi traitée maintient *in vitro*, aux mêmes dilutions, la même action antibiotique que la Tyrothricine native. Il en est de même pour l'injection intraperitoneale, chez la souris, contre plusieurs doses létalées de pneumocoques. Les essais en injection dans la circulation sont en cours.

Les souris injectées sous la peau avec la Tyrothricine pure perdent, à l'endroit de l'injection et parfois à d'autres places, leurs poils sur une surface d'environ 1,5 cm<sup>2</sup>. La peau est à nu sans irritation visible. – Les souris traitées à la Tyrothricine formolée n'offrent pas cette particularité.

Nous relatons dans le protocole ci-après, le mode opératoire et le résultat obtenu qui nous ont permis de faire état des épreuves positives relatées ci-haut.

L'activité antibactérienne de la tyrocidine est inactivée par les protéines sériques. Au contraire, celle de la gramicidine est exaltée par l'addition au milieu-test de 1% d'albumine sérique. Le milieu de culture fut donc le suivant: Peptone 1%, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1,5%, Glucose 0,5% (filtré Seitz), Albumine sérique 1% (filtré Seitz).

On dissout les deux premières substances dans l'eau distillée, on ajuste à pH 7, on autoclave à 120°, 20'. A 80 cm<sup>3</sup> de milieu, on ajoute 20 cm<sup>3</sup> de solution d'albumine sérique à 5% (Bovine Plasma-fraction F. Armour, Chicago) et 10 cm<sup>3</sup> de glucose à 5%. On inocule avec 1 cm<sup>3</sup> de culture de 12 h. On répartit stérilement par 5 cm<sup>3</sup> dans des tubes contenant 0,1 cm<sup>3</sup> des différentes dilutions de la solution-mère de Tyrothricine, à 2% dans l'alcool, dans l'eau distillée.

L'activité d'une bonne Tyrothricine descend généralement à 0,1 à 0,2 γ par cm<sup>3</sup>.

\*

E. HERRELL, Penicillin and other antibiotic Agents. W. B. Saunders Cy., Philadelphia and London, 1946.

<sup>1</sup> J. HENDERSON, The Statue of Tyrothrin as an Antibiotic Agent for Topical Application, J. Am. Pharmac. Ass. 35, 141 (1946).

<sup>2</sup> J. DUBOS and R. D. HOTCHKISS, Origin, Nature and Properties of Gramicidin and Tyrocidin, Trans. a. Stud. College Phys. Philadelphia, 4 Ser., 10, 11 (1942).

*Tyrothricine formolée*1<sup>o</sup> 49 cm<sup>3</sup> eau distillée stérile+ 1 cm<sup>3</sup> solution alcoolique Tyrothricine à 2%  
= solution colloïdale opalescente.Agit *in vitro*, à la dose d'une fraction de γ au cm<sup>3</sup> (0,2 γ) durant 6 jours. Après 2 mois d'étuve à 37° C, la solution est encore active à 2 γ par cm<sup>3</sup>.

Cette solution fut mon témoin.

Voici les modifications qui lui ont été apportées:

2<sup>o</sup> 49 cm<sup>3</sup> eau distillée stérile+ 1 cm<sup>3</sup> solution alcoolique Tyrothricine à 2%  
+ solution commerciale de Formaldéhyde q. s. ad 3,5%  
= solution colloïdale brisée. Précipitations en gros amas.

Etuve 37° C durant 6 jours.

Après agitation, agit à la dose de 1 γ par cm<sup>3</sup> durant 6 jours. Le même résultat est obtenu après exposition de la solution formolée à 37° C durant 2 mois.

Sans agitation, le liquide surnageant est inactif.

Le précipité est soluble dans l'alcool. Cette solution alcoolique ne donne plus de solution colloïdale avec l'eau.

3<sup>o</sup> Solution alcoolique de Tyrothricine à 2%+ solution commerciale de Formaldéhyde q. s. ad 3,5%  
Etuve à 37° C durant 6 jours.49 cm<sup>3</sup> eau distillée stérile+ 1 cm<sup>3</sup> solution alcoolique formolée de Tyrothricine  
= solution limpide sans précipité.Cette solution est active à la limite de 0,4 γ par cm<sup>3</sup> durant 5 jours. L'exposition de cette solution durant deux mois à l'étuve à 37° C ne change pas sa limite d'activité.4<sup>o</sup> Des essais furent faits avec des solutions de concentrations croissantes en Tyrothricine jusqu'à 10%.Solution alcoolique à 8-4-5-10% de Tyrothricine  
+ solution commerciale de Formaldéhyde q. s. ad 3,5%  
Etuve à 37° C durant 6 jours.49 cm<sup>3</sup> eau distillée stérile+ 1 cm<sup>3</sup> de ces différentes solutions alcooliques formolées de Tyrothricine  
= solutions colloïdales comme en 1<sup>o</sup>, même activité.Les solutions à pourcentages en Tyrothricine supérieurs à 4 γ par cm<sup>3</sup> donnent des précipités croissant en importance en raison directe de ces pourcentages.Ces précipités se redissolvent dans l'alcool et ces solutions donnent des suspensions colloïdales avec l'eau. Il y a tendance vers la stabilisation parfaite à 4 γ au cm<sup>3</sup> du produit formolé.Les souches microbiennes utilisées furent un staphylocoque doré, un staphylocoque citreus, le streptocoque non hémolytique, souche Lancefield (H<sub>80</sub>D<sub>15</sub> - groupe D).

J. LEURQUIN

Laboratoire A. CHRISTIAENS, Bruxelles, le 12 décembre 1946.

*Summary*

As Tyrothricin - DUBOS's discovery of the antibiotic agent extracted from cultures of *B. brevis* - does not give true aqueous solutions and retains, in the colloidal state of the usually employed solutions, toxic properties for polymorphonuclear blood cells, we have attempted to effect the solubilization and detoxification of this compound. Treatment with formalin in given proportions results in making it water-soluble. The action of the formalin-treated compound on blood cells suspended in Ringer's solution seems to show a loss of toxicity. Subcutaneous and intramuscular injections in mice do not give visible general toxic effects, and the experiments incite to further investigations in this direction.

*Le benzopyrène, fluorochrome vital pour les cellules épidermiques d'*Allium cepa**

A. GRAFFI a démontré que certains corps stéroïdes et en particulier des hydrocarbures cancérogènes pénètrent à l'intérieur des cellules animales ou végétales *in vivo* et qu'ils se fixent sur des granulations qu'il pense être des mitochondries. Pour contrôler ces faits et pour vérifier s'ils sont compatibles avec la vie cellulaire, nous avons étudié le comportement des cellules épidermiques du bulbe d'*Allium cepa* vis-à-vis du benzopyrène. L'épiderme débité en carrés de 5 mm de côté environ était placé dans une solution faite selon le procédé de GRAFFI, c'est-à-dire que le benzopyrène dissous dans la glycérine à l'ébullition était maintenu à l'état moléculaire par l'adjonction de sérum. Les proportions choisies étaient les suivantes: benzopyrène 0,01 g; glycérine 10 g; sérum 10 g. Cette solution diluée avec de l'eau conserve sa limpide et sa fluorescence bleue. Déjà à la concentration en benzopyrène de 1:1 million, correspondant à une concentration de 1:1000 de glycérine, on constate après une minute l'apparition d'une fluorescence du cytoplasme, particulièrement intense aux deux pôles cellulaires, et distribuée en petits grains périphériques dans certaines cellules. Les échantillons placés dans l'eau ou dans une solution témoin de glycérine-sérum ne présentent qu'une fluorescence primaire diffuse et légère. Les cellules ayant absorbé le benzopyrène sont encore susceptibles de plasmolysé sous l'influence du nitrate de potassium hypertonique avec la même vitesse et sous la même forme, généralement convexe, que pour les séries contrôle. La déplasmolysé n'est pas modifiée non plus. Recherchant une action des rayons ultra-violets par l'intermédiaire d'un effet photodynamique éventuel, nous avons soumis les cellules imprégnées de benzopyrène au rayonnement de la lampe à analyse Hanau de 20 minutes à 2 heures et nous n'avons pas constaté de différence notable quant à la plasmolysé et à la déplasmolysé par rapport aux cellules ayant séjourné dans des solutions témoin ou dans l'eau.

P. COTTER

Institut et jardin botaniques de l'Université de Berne, le 25 mars 1947.

*Summary*

In the epidermic cells of *Allium cepa* stained with a benzopyrene-glycerol-serum medium the fluorescence microscope shows a blue cytoplasmic fluorescence. The cells which have absorbed benzopyrène plasmolize and deplasmolize in the same time as the control cells. No photodynamic effect could be observed when stained cells were irradiated with ultra-violet light.

*Zur Austestung von Wachstumsinhibitoren für Tuberkelbazillen *in vitro**

Die gebräuchlichste Testmethode zur Prüfung von Wachstumsinhibitoren für Tuberkelbazillen besteht darin, die Substanzen synthetischen Nährflüssigkeiten (LONG-, SAUTON- oder LOCKEMANN-Medium) beizumischen und die Menge der als Oberflächenschwimmkultur gewachsenen Bakterien mit entsprechenden Kontrollkulturen zu vergleichen. Auf diese Weise konnten zahlreiche Stoffe gefunden werden, die ganz verschiedenen Körperfunktionen angehören, und die zum Teil noch in sehr geringen Konzentrationen das Tuberkelbazillenwachstum hemmen.