

Tyrothricine formolée

- 1° 49 cm³ eau distillée stérile
 + 1 cm³ solution alcoolique Tyrothricine à 2%
 = solution colloïdale opalescente.

Agit *in vitro*, à la dose d'une fraction de γ au cm³ (0,2 γ) durant 6 jours. Après 2 mois d'étuve à 37° C, la solution est encore active à 2 γ par cm³.

Cette solution fut mon témoin.

Voici les modifications qui lui ont été apportées:

- 2° 49 cm³ eau distillée stérile
 + 1 cm³ solution alcoolique Tyrothricine à 2%
 + solution commerciale de Formaldéhyde q. s. ad 3,5⁰/₁₀₀
 = solution colloïdale brisée. Précipitations en gros amas.

Etuve 37° C durant 6 jours.

Après agitation, agit à la dose de 1 γ par cm³ 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° Solution alcoolique de Tyrothricine à 2%
 + solution commerciale de Formaldéhyde q. s. ad 3,5⁰/₁₀₀
 Etuve à 37° C durant 6 jours.

49 cm³ eau distillée stérile
 + 1 cm³ solution alcoolique formolée de Tyrothricine
 = solution limpide sans précipité.

Cette solution est active à la limite de 0,4 γ par cm³ 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° Des essais furent faits avec des solutions de concentrations croissantes en Tyrothricine jusqu'à 10%.

Solution alcoolique à 3–4–5–10% de Tyrothricine
 + solution commerciale de Formaldéhyde q. s. ad 3,5⁰/₁₀₀
 Etuve à 37° C durant 6 jours.

49 cm³ eau distillée stérile
 + 1 cm³ de ces différentes solutions alcooliques formolées de Tyrothricine
 = solutions colloïdales comme en 1°, même activité.

Les solutions à pourcentages en Tyrothricine supérieurs à 4 γ par cm³ 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 cm³ du produit formolé.

Les souches microbiennes utilisées furent un staphylocoque doré, un staphylocoque citreus, le streptocoque non hémolytique, souche Lancefield (H₆₀D₁₅ – 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 cancérigènes 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 limpidité 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 plasmolyser 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 déplasmolyse n'est pas modifiée non plus. Recherchant une action des rayons ultra-violet 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 plasmolyse et à la déplasmolyse par rapport aux cellules ayant séjourné dans des solutions témoin ou dans l'eau.

P. COTTET

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 benzopyrene plasmolyze and deplasmolyze 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 Körperklassen angehören, und die zum Teil noch in sehr geringen Konzentrationen das Tuberkelbazillenwachstum hemmen.

Wählt man nun an Stelle der genannten Kulturmedien das KIRCHNER¹- oder das DUBOS-Milieu², die neben einfachen definierten Bestandteilen noch Serum respektive «Tween 80» enthalten, und prüft unter diesen Bedingungen verschiedene als wirksam bekannte Hemmstoffe, so erfährt die Wertigkeitsskala dieser Inhibitoren beträchtliche Änderungen (Tabelle I). Während das Hemmvermögen einzelner weniger Stoffe in allen Kulturmedien in denselben Größenordnungen liegt, so sind bei den meisten andern die zur Wirksamkeit notwendigen Grenzkonzentrationen sehr viel höher, wenn in KIRCHNER- oder DUBOS-Medium getestet wird. Wir werden a. a. O. ausführlicher auf diese Verhältnisse eingehen und erwähnen hier lediglich die wichtigsten Punkte unserer Versuchsergebnisse.

Tabelle I

Die Abhängigkeit des Hemmvermögens verschiedener Substanzen auf Tuberkelbazillen vom Kulturmedium

Substanz	Kleinste eben noch hemmende Konzentration* in Nährmilieu nach		
	LOCKEMANN	KIRCHNER	DUBOS
β -Naphthylamin ³	1:400 000	1:1 000	>1:1 000
p-Phenetidin ³	1:800 000	>1:1 000	1:1 000
p-Aminodiphenylmethan ⁴	1:800 000	1:1 000	>1:1 000
Promin ⁵	1:5 000	1:2–4 000	1:1 000
Sulfathiazol	1:25 000	1:1 000	1:4 000
Chaulmoogra-säureester (Moogrol)	1:50 000	1:1 000	1:1 000
Streptomycin	1:600 000	1:100 000	1:500 000

* in Mol/l

Es hat sich folgendes gezeigt:

1. Serum und «Tween 80» reduzieren die Hemmkraft zahlreicher Stoffe in ähnlichem Umfang.
2. Diese antagonistische Beeinflussung ist sowohl bei Serum wie bei «Tween 80» an bestimmte Konzentrationen dieser Antagonisten gebunden.
3. Dieser Antagonismus ist auch auf festen Agar-nährboden, sofern sie Serum oder «Tween 80» enthalten, zu beobachten.
4. Der antagonistische Effekt von «Tween 80» kann durch geeignete Verdünnung dieses «detergent» von dessen Diffusionswirkung auf die Tuberkelbazillen⁶ getrennt werden.
5. In Serum- und «Tween 80»-freien Medien liegt die Hemmkraft der geprüften Inhibitoren bei Tiefen- und Oberflächenwachstum in derselben Größenordnung⁷.

¹ O. KIRCHNER, Zbl. Bakt. I Orig. 124, 403 (1932).

² R. J. DUBOS und B. D. DAVIS, J. exp. Med. 83, 409 (1946).

³ H. BLOCH, H. LEHR und H. ERLNMEYER, Helv. chim. acta 28, 1406 (1945).

⁴ H. BLOCH, G. BRUBACHER, H. ERLNMEYER und E. SUTER, Helv. chim. acta (im Druck).

⁵ M. I. SMITH, E. W. EMMART und B. B. WESTFALL, J. Pharmacol. 74, 42 (1942).

⁶ R. J. DUBOS, Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 53, 361 (1945).

⁷ Diese Feststellung gilt nur bei Beimpfung mit relativ großen Inocula. Beimpft man dagegen mit sehr wenig Bakterien, so erweist sich die Tiefenkultur als empfindlicher für die Wirkung verschiedener Hemmstoffe⁸.

⁸ W. F. DREA, J. Bact. 48, 547 (1944).

Die Bedeutung dieser Befunde für die *in vitro*-Auswertung tuberkulostatischer Substanzen liegt auf der Hand, besonders wenn man berücksichtigt (siehe Tabelle I), daß zwei im Tierversuch wirksame Präparate, Promin und Streptomycin, im Gegensatz zu vielen andern durch Serum und «Tween 80» nur unwesentlich enthemmt werden.

Wir behalten uns die Diskussion dieses Phänomens für die erwähnte ausführliche Mitteilung vor; ebenso wird dort über Versuche zu einer experimentellen Deutung dieses Antagonismus berichtet werden.

HUBERT BLOCH, H. ERLNMEYER und EM. SUTER

Hygienisches Institut und Anstalt für anorganische Chemie der Universität Basel¹, den 15. März 1947.

Summary

The addition of serum or «Tween 80» to a synthetic culture medium for tubercle bacilli considerably reduces the inhibitory effect of various substances with the exception of streptomycin and promin, whose effect is less weakened, and which retain their tuberculostatic action to a considerable degree. The antagonistic effect of «Tween 80» is still recognizable in small dilutions where its diffusion effect can no longer be observed.

¹ Die Arbeit wurde durch einen Arbeitsbeschaffungskredit des Bundes ermöglicht, für dessen Gewährung wir auch an dieser Stelle danken.

Sur le mécanisme de l'oligurie du Chien brûlé

Nous avons constaté précédemment que, chez le Chien endormi au chloralose et recevant du liquide physiologique en infusion i. v. constante, la brûlure cutanée détermine une chute de la diurèse aqueuse¹. Nous avons montré ensuite que lorsque deux Chiens sont mis en circulation croisée carotidojugulaire, carotido-carotidienne ou jugulo-jugulaire, la brûlure de l'un des animaux provoque une baisse de la diurèse de l'autre, dans les mêmes conditions d'hydratation continue². Ces dernières expériences semblaient indiquer la production, chez l'animal brûlé, d'une substance anti-diurétique véhiculée par le sang. On sait que l'oligurie après brûlure étendue ou shock traumatique a été attribuée à des lésions hypothalamiques³, à l'hémolyse⁴, à une substance vasoconstrictrice, chimiquement indéterminée, ayant pour effet de réduire le débit sanguin du rein⁵. D'autre part, OLSON et NECHELES⁶ ont montré que chez l'animal brûlé, l'injection de plasma ou d'une solution de gélatine a peu d'effet sur la restauration de la diurèse. Par contre, suivant ces mêmes auteurs, une solution isotonique de sulfate sodique est active chez le brûlé et cela bien plus que du NaCl à 2%, la solution de Tyrode, le liquide physiologique contenant 0,87 % de NaHCO₃, etc.

¹ G. BARAC, C. r. Soc. Biol. 140, 580 (1946).

² G. BARAC, C. r. Soc. Biol. (sous presse).

³ L. CHRISTOPHE, La Mort des Brûlés, 94 pages. Masson & Cie., Editeurs, Paris 1939.

⁴ R. J. BING, Bull. Johns Hopkins Hosp. 74, 161 (1944).

⁵ A. C. CORCORAN, R. D. TAYLOR, I. H. PAGE, Ann. Surg. 118, 871 (1943).

⁶ W. H. OLSON et H. NECHELES, J. lab. a. clin. Med. 30, 371 (1945).