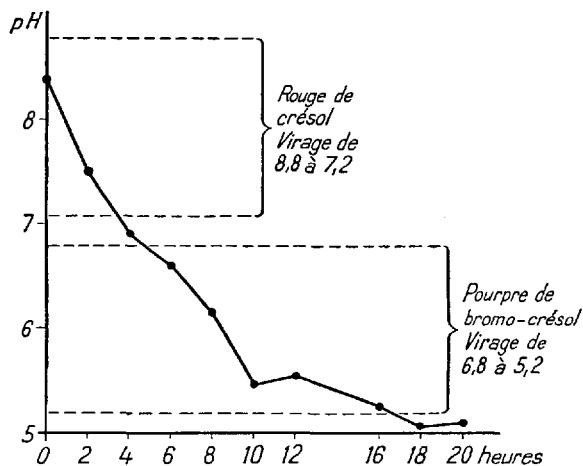


quantités décroissantes de streptomycine, et on note le taux inhibiteur limite d'après le numéro d'ordre du tube précédent immédiatement le premier tube où vire un indicateur coloré, virage traduisant l'acidification du milieu par la fermentation d'un sucre.

Milieu d'entretien et de dosage. Milieu S de MONOD¹. On utilise la saccharose parce que non réducteur^{2,4}. On ajuste le p_H de 9 à 9,5 parce que l'acidité a pour effet d'augmenter le taux inhibiteur limite (voir plus loin, et³). On n'a pas étudié l'action antagoniste du tampon phosphatique⁴.

Entretien de la souche. Effectué sur le milieu susdit, à raison d'un large réensemencement toutes les 24 h environ, à partir d'un implantat initial important. Plusieurs passages sont nécessaires, tant pour éliminer l'implantat initial (et ainsi opérer en milieu synthétique défini), que pour adapter la souche à la nouvelle ambiance.



Observation. Dans ces conditions, et à raison de 2 cm³ de milieu neuf pour 0,5 cm³ de saccharose à 20% et 0,5 cm³ d'une culture de pneumobacille de 12 à 24 h du 30^e au 32^e passage sur S, les taux inhibiteurs limites sont de 0,1 γ/cm³ à p_H 8,8⁵, de 0,15 γ/cm³ à p_H 7,9, de 0,3 γ/cm³ à p_H 6,8, taux calculés en microgrammes de base pure à partir du complexe cristallisé CaCl₂ de MERCK⁶.

Avec un indicateur coloré adéquat, à p_H de virage proche du p_H initial du mélange (rouge de créosol⁷ pour un p_H de 8,8 au départ), on effectue les mesures en 2 h (voir figure).

En résumé, on exalte le pouvoir fermentatif de la souche *Klebsiella pneumoniae* N° 41 par le repiquage quotidien sur milieu synthétique S de MONOD, ce qui permet ensuite des dosages très rapides par la méthode des indicateurs colorés de p_H . Des recherches ultérieures montreront si cette méthode est applicable au dosage de la streptomycine dans les humeurs.

V. BONIFAS et Y. CHESNI

Institut d'hygiène, Genève, le 8 juillet 1948.

¹ J. MONOD, Recherches sur la croissance des cultures bactériennes (Hermann, Paris 1942).

² G. SYKES et M. LUMB, Nature 158, 271 (1946).

³ S. A. WAKSMAN, Les Antibiotiques (Masson, Paris 1947).

⁴ S. A. WAKSMAN, E. BUGIE et A. SCHATTZ, Proc. Staff. Mayo Clin., 19, 537 (1944). – G. WERNER, communication orale.

⁵ p_H initial du mélange, mesuré au potentiomètre de Beckman.

⁶ Streptomycine déposée dans les tubes au moyen de la seringue micrométrique Agla, à partir d'une solution à 100 γ/cm³ dans de l'eau distillée alcaline.

⁷ Solution à 1/5000, à raison de 4 gouttes par tube.

Zusammenfassung

Klebsiella pneumoniae N° 41 wird in einem leicht alkalischen, synthetischen Medium mit Zusatz von Saccharose und einem Indikator (z. B. Kresolrot) wachsen gelassen. Durch Spaltung des Zuckers wird die Reaktion nach der sauren Seite verschoben. Das bei einer bestimmten Streptomycin-Konzentration eben noch stattfindende Wachstum der *Klebsiella* kann nach etwa 2 Stunden am Umschlag des Indikators erkannt werden.

Nouvelle méthode de mesure de la concentration du radio-brome dans le matériel biologique

La méthode de mesure de l'activité des organes due au Br*, dérivée de celle utilisée par P. SUE¹ pour l'I*, s'étant révélée dans quelques cas peu fidèle, nous avons essayé d'y remédier en procédant de façon entièrement différente. En principe, il s'agit de dissoudre le matériel biologique (tissus, organes, organismes) dans un solvant approprié, puis de précipiter dans cette dissolution le Br* sous forme de BrAg.

Le corps chimique dont on veut suivre le métabolisme et dans lequel le Br* est engagé en tant qu'indicateur commande en partie le choix du dissolvant. De même aussi y a-t-il intérêt à ne pas choisir d'emblée les acides forts susceptibles de déplacer Br* sous forme de Br^{2*} volatile.

Nous avons travaillé avec le triphénylethylène bromé (TE Br), hormone œstrogène de synthèse (BERGER et coll.²). En lieu et place du Br³⁵ stable, nous avons utilisé le Br³² (34 H) obtenu par irradiation neutronique du bromure d'éthyle au cyclotron du Collège de France. Le Br* se combine très facilement au triphénylethylène (réaction d'addition) et la liaison Br-triphénylethylène est très forte. Après de nombreux essais de rupture de cette liaison avec diverses substances, le choix définitif s'est porté sur une solution dans l'alcool à 90° de KOH (5 N) agissant à l'ébullition. Dans ces conditions, l'expérience a montré que, pour une durée d'ébullition de 1 h, les organes étaient entièrement dissous et la saponification du TE Br complète. Pour éviter l'évaporation de l'alcool on procède sous réfrigérateur à reflux.

Les différentes opérations de cette méthode se déroulent de la façon suivante:

¹ Prélever les organes qui sont immédiatement lavés dans de l'eau et le chloroforme pour éliminer le sang ou les liquides organiques qui y adhèrent.

² Peso les organes.

³ Introduire les organes dans des ballons contenant 10 cm³ de la solution alcoolique de KOH (5 N) et 2 cm³ de solution d'entraîneur (solution de NaBr 10 g dans 100 cm³ d'eau distillée). (L'adjonction d'entraîneur permet d'obtenir une masse déterminée de précipité facile à manipuler ultérieurement, ce qui ne serait pas le cas sans cela).

⁴ Fixer les ballons sous le réfrigérateur à reflux et chauffer à l'ébullition pendant 1 h. au moins.

⁵ Interrompre le chauffage et laisser refroidir.

⁶ Ajouter à chaque ballon 10 cm³ d'eau distillée, puis quelques gouttes de tournesol.

⁷ Neutraliser rapidement la solution alcaline jusqu'à virage du tournesol par NO₃H (solution de NO₃H conc. diluée de moitié).

⁸ Et ajouter immédiatement alors 5 cm³ au moins de NO₃H en excès. On peut aussi ajouter en une fois 10 cm³ de la solution NO₃H diluée de moitié. (L'expérience a montré que l'excès de NO₃H ainsi ajouté favorisait la précipitation de AgBr d'une part, empêchait la précipitation simultanée des protéines en solution d'autre part.)

¹ P. SUE, J. Chim. Phys. 38, 123, 148 (1941).

² P. et R. DAUDEL, M. BERGER, NG PH. BUU-HOI et A. LACAS-SAGNE, Exper. 2, 70 (1946).

9^o Précipiter BrAg par adjonction de 5 cm³ d'une solution de NO₃Ag (20 g dans 100 cm³ d'eau distillée).

10^o Centrifuger les précipités obtenus. Il y a intérêt à utiliser pour cela des tubes de centrifuge à fond amovible type SUE - qui permettent de récupérer beaucoup plus facilement et plus rapidement les précipités. La filtration des précipités est souvent très longue et entraîne des pertes de matières plus importantes.

11^o Sécher à l'étuve à 90-100° les précipités qui ont été portés sur verre de montre.

12^o Remplir les porteurs avec une quantité constante et connue des précipités secs et mesurer l'activité.

L'ensemble de ces opérations ne demande pas plus de 3 h. pour 8 organes étudiés simultanément lorsqu'on dispose d'une série de 8 réfrigérateurs. Pour des mesures quantitatives absolues, il est nécessaire de disposer d'un étalon formé de la substance marquée dont on suit le métabolisme. Dans notre cas, après avoir obtenu le TEBr*, on en préleve une certaine quantité qui est pesée très exactement. On peut alors enrober la substance dans une quantité comme BrAg inactif (on malaxe les deux corps sur un verre de montre avec un pilon de mortier) ou aussi et mieux, on place la quantité bien déterminée de TEBr* dans un ballon contenant la solution alcoolique de KOH; on fait alors subir à cet échantillon toutes les manipulations déjà décrites. Finalement, le Br* de l'étalon se trouve enrobé dans le précipité de BrAg comme celui des organes étudiés. Connaissant le poids du TEBr* employé comme étalon, le poids du précipité de BrAg obtenu finalement et l'activité de ce précipité, il est aisé de calculer le poids du TEBr* contenu dans chaque organe.

Selon que l'on désire une grande sensibilité ou une grande précision on pourra alors utiliser une méthode de mesure sous faibles ou fortes¹ épaisseurs.

Du point de vue du rendement de la méthode, nous avons vérifié que le 91,5% en moyenne de l'activité introduite dans les organes se retrouvait finalement dans le précipité avec une erreur moyenne sur le rendement de 4,5%.

Il semble que cette nouvelle méthode puisse être considérée dans son principe et ses applications comme une méthode très générale pour l'emploi des radio-indicateurs en biologie.

P. DAUDEL, S. NEUKOMM, E. LESEIN,
L. HENRIET et R. DAUDEL

Institut du Radium, Laboratoire Curie, Paris, le 7 mai 1948.

Summary

Description of a new method for extraction and measurement of radio-bromine in biological material. This method was especially adapted for the study of triphenylethylene bromine, synthetic estrogen. It seems to be utilizable in many other problems.

¹ M. HAISINSKY et B. PULLMAN, J. de Physique 8, 33 (1947).

Der Einfluß der Temperatur des Auges auf die spektrale Empfindlichkeitskurve

Auf Grund theoretischer Überlegungen wurde erwartet, daß die Empfindlichkeit des Auges temperaturabhängig wäre. Hierüber wird demnächst ausführlicher an anderer Stelle berichtet werden. Kurz zusammengefaßt, handelt es sich um folgendes: Die kleine Energie der «roten Lichtquanten» würde zur Zerlegung eines Moleküls der lichtempfindlichen Substanzen nicht genügen. Die Wärmebewegung der Moleküle könnte aber die

fehlende Energie liefern. Deshalb müßte die Empfindlichkeit des Auges für *rotes* Licht bei *höherer* Körpertemperatur größer sein. Die Genauigkeit von absoluten Empfindlichkeitsmessungen ist nicht groß. Deshalb wurden die Helligkeiten von zwei spektralen, roten Lichtern, nämlich 660 und 730 m μ miteinander verglichen. Bei 730 m μ soll der Einfluß größer sein als bei 660 m μ .

Das Licht wurde von einem Farbenmischapparat geliefert, dessen Aufbau demnächst ausführlicher beschrieben werden wird. Es wurden zwei verschiedene Versuchsanordnungen verwendet. In den ersten Meßreihen bestand das Photometerfeld aus zwei Hälften, die mit den betreffenden Wellenlängen beleuchtet wurden. Die Versuchsperson mußte auf gleiche Helligkeit einstellen. Es zeigte sich hierbei, daß unter den recht ungünstigen Versuchsbedingungen leicht systematische Fehler auftreten. Darum wurde dieses Verfahren aufgegeben; statt dessen wurden die zwei Wellenlängen im Flimmerphotometer verglichen. (Bei dieser Methode werden die beiden Farben abwechselnd auf ein und demselben Feld dargeboten.)

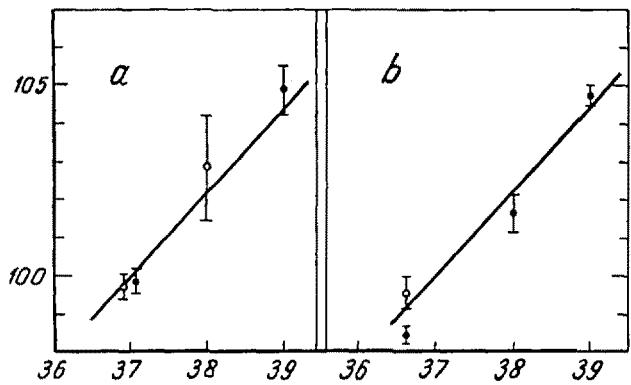


Abb. 1. Einfluß der Temperatur auf das Helligkeitsverhältnis zwischen den Wellenlängen 660 und 730 m μ . Ordinate: Weite des Spaltes bei 660 m μ . Ausgezogene Linien: berechnet.

a Verfasser (deuteranomal), b deuteranop,
○ steigende Temperatur, • abnehmende Temperatur.

Die Temperatur der Versuchsperson wurde durch ein heißes Bad von ungefähr 45°C erhöht. Die Temperatur in der Mundhöhle stieg dann in ungefähr 20 Minuten auf 39°C; sie wurde sorgfältig mit Hilfe eines Thermometers bestimmt.

Als Versuchspersonen wurden Farbenblinde, bzw. Farbenschwache gewählt. Bei einem farbentüchtigen Auge könnte die spektrale Empfindlichkeitskurve durch relative Änderungen der Beiträge der drei von HELMHOLTZ angenommenen Rezeptoren beeinflußt werden. (Vgl. die demnächst erscheinenden, einschlägigen Untersuchungen des Verfassers¹.) Person a (= Verfasser) war deuteranomal, b deuteranop. Es wurde zunächst sichergestellt, daß ihre Empfindlichkeitskurve unter gewöhnlichen Versuchsbedingungen unveränderlich ist.

In der Abbildung sind die Resultate für diese zwei Versuchspersonen wiedergegeben. Das Photometer war, bei normaler Temperatur, für beide Versuchspersonen übereinstimmend auf 100 eingestellt. Die eingezeichneten Fehlergrenzen wurden auf Grund der bekannten Formel

$$\alpha = \sqrt{\frac{\sum \Delta x_i^2}{n(n-1)}}$$

berechnet. Hierbei bedeutet Δx_i die Abweichung der i -ten Einstellung vom Mittelwert. Es wurden bei jeder

¹ HL. DE VRIES, Physica 14, 319 (1948).