

triäthylammoniumäthyläther des Dekandiols über den Bis-triäthylammoniumpropyläther des Oktandiols zum Bis-triäthylammoniumbutyläther des Hexandiols stark abfällt. Umgekehrt konnte gezeigt werden, dass dies nicht etwa eine Folge des veränderten Abstands der N- und O-Atome ist, indem die Bis-triäthylammonium-äthyl-, -propyl- und -butyläther des Dekandiols annähernd gleiche Wirksamkeit aufweisen. In der Reihe dieser quaternierten basischen Äther wird also die Wirksamkeit nicht so sehr durch den Abstand der beiden quartären N-Atome als vielmehr durch die Natur des mittleren Molekülteils,  $(\text{CH}_2)_n$ , und, in geringerem Massse, durch die Art der Substituenten (RRR) der N-Atome bestimmt<sup>1</sup>.

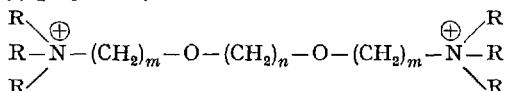
Wir werden in einer umfassenderen Mitteilung auf dieses Gebiet zurückkommen und bei dieser Gelegenheit die chemisch-experimentellen Angaben nachtragen.

E. GIROD und F. HÄFLIGER

Pharmazeutische Forschungsabteilung der J. R. Geigy AG. Basel, den 13. März 1952.

### Summary

In the series of homologous  $\omega, \omega'$ -bis-(ammonium-alkoxy)-polymethylenes,



the curarizing potency is not primarily correlated to the whole chain length between the nitrogen atoms, but is determined by the nature of the middle section,  $-(\text{CH}_2)_n-$ , of the molecule and to a lesser degree by the substituents, (RRR), of the nitrogen atoms.

<sup>1</sup> S. LOEWE und S. C. HARVEY, Arch. exper. Path. Pharmakol. 214, 214 (1952), kommen aus anderen Überlegungen ebenfalls zur Auffassung, dass bei den bis-quartären Ammoniumverbindungen keine feste Beziehung zwischen dem N-N-Abstand und der kurareähnlichen Wirksamkeit besteht.

### PRO LABORATORIO

#### Détermination de l'association synergique binaire d'antibiotiques et de sulfamides

La nécessité d'employer en clinique des combinaisons d'antibiotiques ou de sulfamides rend indispensable la détermination de l'association utile. Toutes les associations ne sont pas obligatoirement efficaces, certaines étant sans effet, d'autres diminuant l'action d'une des substances utilisées, peu d'associations étant réellement synergiques.

L'importance de cette détermination n'a pas échappé à de nombreux auteurs, dont BENHAMOU fait une récente revue en exposant les diverses techniques utilisées<sup>1</sup>. Il existe, selon cet auteur, trois méthodes pour la réaliser:

- 1<sup>o</sup> les dilutions,
- 2<sup>o</sup> les disques imprégnés,
- 3<sup>o</sup> les courbes de croissance.

Le nombre des antibiotiques et des sulfamides disponibles en clinique rend très onéreuse, en temps et en

matériel, l'épreuve de la synergie des associations binaires. Pour 5 substances, il y a 10 associations; pour 7 substances, 21 associations, et pour 8 substances, 28 associations binaires. Nous avons donc été amenés à établir une technique qui permet d'éprouver les 21 associations binaires de 7 antibiotes et sulfamides et qui peut être adaptée à un nombre plus grand de substances. La technique de l'épreuve est presqu'aussi facile que celle désormais usuelle des disques imprégnés secs, et sa réponse est obtenue également dans le même délai de 24 h. Elle consiste dans l'emploi de bandes de papier-buvard imprégnées à la place des disques; on dispose ces bandes de telle manière que leur intersection permette d'étudier l'interaction des substances qu'elles contiennent. Nous avons utilisé des bandes imprégnées de pénicilline, de terramycine, d'auréomycine, de dihydrostreptomycine et de chloromycétine, ainsi que de deux sulfamides, la 6-sulfanilamino-2,4-diméthylpyrimidine (Elkosin) et le 2,3-diméthyl-5-sulfanilamidoisoxazol (Gantrisin<sup>1</sup>) auxquels nous avons dû limiter nos essais pour diminuer le nombre des manipulations. Nous avons laissé la bacitracine de côté, à cause du trop faible dosage des conditionnements disponibles.

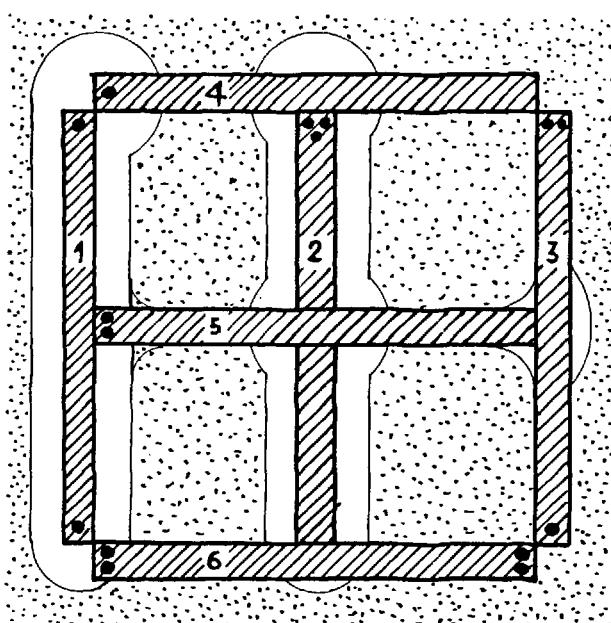


Fig. 1. Synergies. 1 et 2 sont actifs. 5 et 2 ont une action synergique. 4 et 2 ont une action synergique. 1 et 4 ont une action synergique. 1 et 5 n'ont pas d'action synergique. 3 et 5 ont une action synergique, quoiqu'ils soient inactifs seuls.

Matériel et imprégnation. Des feuilles de papier-buvard «Sihl-Blotting» n° 2954<sup>2</sup> sont découpées au massicot<sup>3</sup> en bandes de 6 mm de largeur, qui sont ensuite débitées

<sup>1</sup> Nous remercions les maisons Ciba et F. Hoffmann-La Roche pour la grande obligeance avec laquelle elles nous ont fourni des substances purées.

<sup>2</sup> Fournies par la maison M. MUHLEBACH, avenue du Mail, 8, Genève.

<sup>3</sup> Nous remercions M. PAUL BOISSONNAS, photographe, pour les facilités techniques qu'il nous a accordées dans ses ateliers.

en tronçons de 60 mm. La contenance en eau est déterminée par pesée. On dispose ces bandes sur un portoir fait de grillage de laiton, on marque de façon conventionnelle à l'encre de Chine (voir croquis) et on stérilise dans un tambour à l'autoclave, puis on sèche au séchoir 24 h.

On trempe séparément chaque support dans la solution aqueuse de la substance choisie, on essore à l'ouate stérile et on dessèche sous le vide dans un exsiccateur garni de  $\text{CaCl}_2$  anhydre.

Nous avons, après essai de diverses doses, choisi d'imprégnier avec 22 unités d'antibiotique par bande, ou 2,2 mg de sulfamidé.

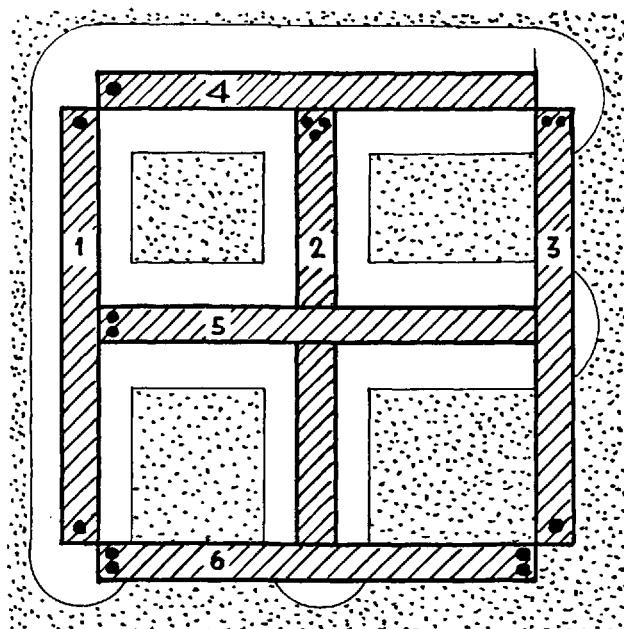


Fig. 2. Pas de synergie. Les aires d'inhibition se croisent sans se modifier.

- |                  |                              |
|------------------|------------------------------|
| 1 Elkasin        | 5 Gantrisin                  |
| 2 Terramycine    | 6 Auréomycine                |
| 3 Chloromycétine | 7 Streptomycine (sans tache) |
| 4 Pénicilline    |                              |

*Technique de l'épreuve.* On coule 50 cm<sup>3</sup> de gélose dans des boîtes de Petri de 11 cm de diamètre. Le lendemain, après 20 à 24 h, on peutensemencer les milieux, en respectant les normes décrites par CHABBERT<sup>1</sup> pour la technique des disques, qui visent à obtenir une densité de population convenable au départ. 2/10<sup>e</sup> de cm<sup>3</sup> de la suspension microbienne permettent un étalage régulier et complet sur ces Petri; 15 min suffisent pour que tout le liquide ait été absorbé par la gélose.

On dispose alors les bandes de manière à obtenir la figure d'un carré muni de ses axes médians, au moyen de 6 bandes par Petri. On commence par former les axes médians, en croix, puis on peut disposer les côtés des carrés. On suit un schéma préétabli qui assure que chaque antibiotique sera au contact de tous les autres. On ne peut pas éviter que certaines combinaisons se répètent.

*Lecture.* Après un séjour de 20 à 24 h à 37°, l'inhibition due à un antibiotique actif se traduira par une surface oblongue dépourvue de croissance bactérienne entourant

la bande portant cet antibiotique. A l'intersection de deux bandes portant un antibiotique actif, les surfaces d'inhibition se rencontrent et peuvent former des figures différentes suivant que les antibiotiques sont ou non synergiques. Nous devons dire que l'action simultanée de deux antibiotes fortement actifs ne pourra pas, en général, être interprétée comme synergique ou non. La synergie sera visible dans tous les cas où l'action d'un antibiotique déterminant une aire d'inhibition sera augmentée par celle d'un autre antibiotique inactif ou peu actif par lui seul, ou dans les cas où 2 antibiotes inactifs seuls ont une action de synergie. Nous représentons par des schémas les figures formées.

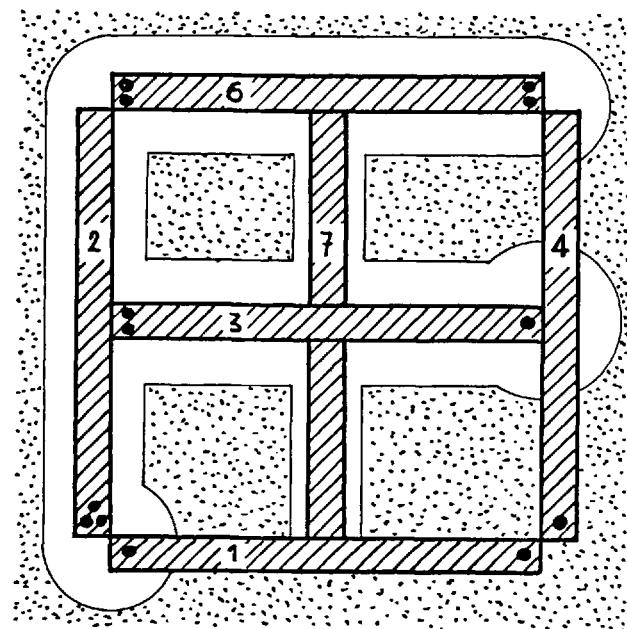


Fig. 3. Il est aisé de voir que la chloromycétine 3 (déjà active seule) voit son action augmentée par celle de la pénicilline 4 (inactiveseule) et que la terramycine 2 est «activée» par l'action synergique de l'Elkasin 1 (inactifseul), que la streptomycine 7 et la chloromycétine 3, actives toutes les deux, sont sans effet l'une sur l'autre, de même que l'auréomycine 6 et la terramycine 2.

A titre d'exemple, nous donnons le schéma d'une partie de l'épreuve concernant une souche de colibacille provenant d'une pyurie.

Nous remercions le professeur E. GRASSET, directeur de l'Institut d'hygiène, pour l'intérêt, les suggestions et les critiques qu'il nous a prodiguées au cours de ce travail.

V. BONIFAS

Institut d'hygiène et de bactériologie de l'Université de Genève, le 10 mars 1952.

#### Summary

A technique is described permitting both the tests of sensitivity of microorganisms to antibiotics and sulfonamides and the test of the possible synergy of binary combinations of the substances used. The technique is as rapid and easy as the usual technique of impregnated discs.

<sup>1</sup> Y. CHABBERT, Ann. Inst. Pasteur 76, 68 (1949).