

those giving a large one. As a measure of this proportion in a given test (or, in other words, of the intensity of the larva's preference for one orientation) we may use the

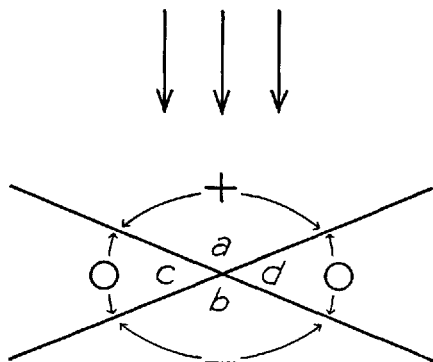


Fig. 2.—Scoring method. The arrows indicate the direction of the light. The signs +, —, and 0 indicate the scores given to larvae heading in directions within the respective sectors.  
 $L a = L b = 135^\circ$ ;  $L c = L d = 45^\circ$ .

absolute value of the difference  $D$  between the percentages of positive and negative scores obtained in that test. In this way we find:

$D$	Number of larvae	Percentage of these showing expected difference
0–20	21	9.5
21–40	16	12.5
41–60	15	20.0
61–80	20	45.0
81–100	61	44.3

This correlation between the value of  $|D|$  and the occurrence of the expected difference seems inexplicable on the 'error hypothesis'.

In our opinion, our data suggest that in larvae with a strong preference, bouts of wrong movements may indeed be due in many cases (but not in all) to errors in orientation. However, for caterpillars giving low values of  $|D|$  this explanation appears to hold in a small minority of all cases. Here a change in sign of the direction taken by the larva must far more often be due to a real change in the sign of the phototaxis itself.

The duration both of the positive and of the negative phases in the behaviour of a larva varies considerably, even within a single test. Therefore, more extensive experiments will be necessary to decide whether increase in length of the negative phases, or in their frequency, or in both, is the cause of the shift towards photonegativity to be seen in each instar<sup>1</sup>. We are pursuing the work in this direction. In addition, we are attempting a further analysis of the oscillations in sign of phototaxis.

L. DE RUITER and IJ. VAN DER HORN

Zoological Laboratory of the University, Groningen (Netherlands), April 24, 1957.

#### Zusammenfassung

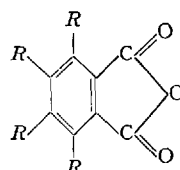
Raupen von *Smerinthus ocellata* L. im dritten bis fünften Larvenstadium zeigen im Phototaxisversuch unregelmässig periodische Umkehr der Kriechrichtung (Fig. 1). Aus der weiteren Analyse der experimentellen Daten ergibt sich, dass dieser Richtungswechsel in der Mehrzahl der Fälle durch einen tatsächlichen Umschlag des Richtungssinnes der Phototaxis verursacht wird.

## PRO EXPERIMENTIS

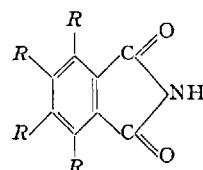
### Sur une nouvelle méthode chromatographique pour la séparation de composés polycycliques aromatiques ou hétérocycliques

On sait que les techniques habituelles de chromatographie utilisent les différences existant entre les composants d'un mélange en ce qui concerne leur faculté de fixation physique sur un adsorbant approprié, constitué en général soit par des composés minéraux, soit par des substances organiques macromoléculaires.

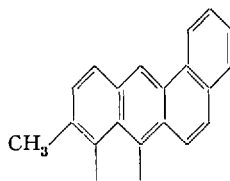
Nous proposons aujourd'hui l'utilisation d'une nouvelle technique chromatographique, basée sur l'utilisation, comme adsorbant, de composés tels que l'anhydride tétrachlorophthalique (I;  $R = Cl$ ) et la tétrachlorophthalimide (II;  $R = Cl$ ). Ces composés présentent en effet, à l'état dissous, une affinité prononcée vis-à-vis de certains types de donneurs d'électrons, tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques, les indoles, les carbazoles, etc., avec lesquels ils fournissent des combinaisons moléculaires de type 1:1 plus ou moins fortement colorées et plus ou moins stables<sup>1</sup>. Cette affinité varie dans larges proportions avec la structure moléculaire des donneurs d'électrons, et existe également lorsque l'anhydride et l'imide tétrachlorophthaliques se trouvent à l'état solide. Dans ce dernier cas, on obtient des adsorbats tout comme dans le cas de la chromatographie ordinaire. Les anhydrides tétrabromo- (I;  $R = Br$ ) et tétraiodophthalique (I;  $R = I$ ), ainsi que les imides correspondantes (II;  $R = Br$  ou  $I$ ) peuvent également se comporter comme de bons adsorbants, les imides étant d'une façon générale moins satisfaisantes que les anhydrides. Si le long d'une colonne constituée avec de l'anhydride tétrachlorophthalique en poudre fine, on fait passer une solution dans l'éther de pétrole ou dans le cyclohexane d'un mélange de plusieurs corps ayant des affinités



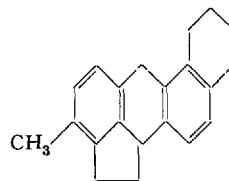
I



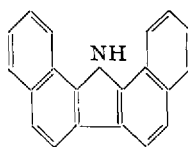
II



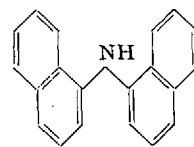
III



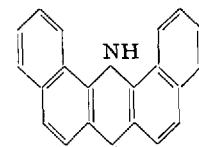
IV



V



VI



VII

<sup>1</sup> P. PFEIFFER, *Organische Molekülverbindungen* (F. Encke, Stuttgart 1927). — N. P. BUU-HOI et P. JACQUIGNON, *C. r. Acad. Sci.* 234, 1056 (1952); *Bull. Soc. chim. France* 1957, 488.

différentes vis-à-vis de cet anhydride, on obtient les phénomènes de résolution classiques de la chromatographie. Par exemple, un mélange de 20-méthylcholanthène (III) et de son dérivé 1,2,3,4,11,14-hexahydrogéné (IV) (on obtient un tel mélange dans l'hydrogénation de III)<sup>2</sup> peut ainsi être résolu en ses constituants, le 20-méthylcholanthène se trouvant complètement adsorbé sur l'anhydride tétrachlorophthalique avec une coloration rouge vermillon, le dérivé hydrogéné restant dans la phase liquide à l'état de solution incolore. L'hydrocarbure adsorbé peut ensuite être élué de son support par passage à un pH alcalin, et repris par un solvant approprié. On peut séparer aisément de la même manière le pyrène (qui donne un adsorbant jaune orangé) de ses dérivés hydrogénés<sup>3</sup> (1,2,6,7-tétrahydropyrène, hexahydropyrènes, et décahydropyrènes), ou le 1,2:7,8-dibenzocarbazole (V) (qui donne un adsorbant de couleur rouge vif) de composés aussi voisins que l' $\alpha,\alpha'$ -dinaphtylamine (VI), ou la 3,4:5,6-dibenzophénothiazine (VII), lesquelles restent en solution. Notre méthode est particulièrement utile pour la séparation et le dosage de faibles quantités d'hydrocarbures cancérogènes existant dans un milieu biologique complexe.

La présente technique chromatographique s'apparente aux méthodes analytiques de séparation qui sont basées sur la formation de composés d'inclusion<sup>4</sup> avec les urées et les thiourées; elle se rapproche aussi des méthodes de résolution des racémiques, basées sur l'adsorption sélective d'un des énantiomorphes sur un support optiquement actif.

N. P. BUU-HOÏ et P. JACQUIGNON

*Institut du Radium de l'Université de Paris, le 24 avril 1957.*

#### Summary

A new chromatographic technique is described, which makes use of the affinity of anhydrides and imides of tetrahalogenophthalic acids towards aromatic and heterocyclic polycyclic compounds. This method has been successfully applied to the resolution of some problems of analytical organic chemistry.

<sup>2</sup> H. WIELAND et E. DANE, *Z. physiol. Chem.* **219**, 240 (1933). – L. F. FIESER et H. HERSHBERG, *J. Amer. chem. Soc.* **60**, 940 (1938).

<sup>3</sup> J. W. COOK et L. C. HEWETT, *J. chem. Soc.* **1933**, 401. – E. A. COULSON, *J. chem. Soc.* **1927**, 1298.

<sup>4</sup> Voir la littérature dans F. CRAMER, *Einschlussverbindungen* (Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg 1954).

### PRO EXPERIMENTIS

#### Méthode d'identification dans la flore intestinale d'une souche d'*Escherichia coli* implantée par voie buccale

L'inconvénient majeur des antibiotiques à large champ d'activité, plus spécialement lorsqu'on les administre par voie buccale, est de provoquer une raréfaction plus ou moins rapide de la flore microbienne saprophyte du tube digestif. Cette stérilisation relative de l'intestin prépare le terrain à divers microbes de superinfection, plus spécialement à certaines races pathogènes de staphylocoques, de streptocoques ou de colibacilles, de même qu'à certains champignons dont le plus régulièrement agressif est la *Candida albicans*.

Divers thérapeutes ont essayé, au cours des dernières années, de remédier à cet inconvénient par l'implantation, dans le tube digestif des malades ainsi menacés, de

souches d'*Escherichia coli*. De nombreux travaux ont été consacrés à ce problème. Ils se sont régulièrement heurtés à la difficulté de repérer à coup sûr les microorganismes administrés et de les différencier de la flore intestinale préexistante. Les selles d'un individu normal renferment, en effet, une multitude de souches différentes d'*Escherichia coli*, dont le recours à la typisation sérologique de KAUFFMANN<sup>1</sup> permet seule l'identification. Il est possible, grâce à cette méthode, de reconnaître parmi ses congénères le colibacille d'implantation et de déceler son éventuelle persistance dans l'intestin du sujet traité.

Dans le but de vérifier l'efficacité de l'implantation, nous avons choisi un mutant, *Escherichia coli* «L» (*E. coli* «L»), présentant des caractères biochimiques nettement différents de ceux des colibacilles isolés chez une série de sujets dont nous avons au préalable étudié la flore intestinale saprophyte. La souche «L» est lactose-, xylose- et galactose-; elle produit de l'indol à partir du tryptophane et attaque l'urée. De plus nous l'avons rendue résistante à 400 µg/ml de streptomycine, ce qui facilite son isolement, la plupart des germes normalement trouvés dans les selles étant sensibles à cet antibiotique.

La probabilité de l'existence naturelle dans l'intestin d'un microorganisme ayant les propriétés de *E. coli* «L» est négligeable. La présence de germes d'emblée résistants à de fortes concentrations de streptomycine est en revanche moins aléatoire. Il est dès lors indispensable d'avoir recours, lors des essais d'implantation microbienne, à un microorganisme qui ne soit pas identifiable uniquement par sa résistance.

Nos expériences ont porté sur quatre sujets en bonne santé qui ont été suivis, du point de vue bactériologique, durant cinq mois. Ils se sont alimentés comme d'habitude les trois premiers mois, puis ont été soumis à un régime protidique pendant une semaine, à un régime glucidique durant une autre semaine, après quoi ils ont repris leur alimentation habituelle. Au cours de cette période de cinq mois, 150 souches de colibacilles ont été isolées de leurs selles; aucune n'a présenté l'ensemble des caractères de *E. coli* «L».

Pour la recherche de *E. coli* «L», les selles ont été ensemencées sur plaques de gélose d'Endo contenant 400 µg/ml de streptomycine. Un gramme de selles, prélevé immédiatement après la défécation, est suspendu dans 10 ml de NaCl à 0,9 %, agité pendant 10 min, puis soumis à une série de dilutions. 0,1 ml de chacune de ces dilutions est ensemencé sur plaques d'Endo avec streptomycine. Tous les examens ont été pratiqués avant et après ingestion, à l'occasion d'un repas, d'une ampoule de bouillon contenant environ 10<sup>13</sup> germes de la souche «L». Les colonies «L» apparaissent incolores, translucides, petites, tandis que la plupart des autres microorganismes de la flore intestinale normale sont inhibés par la streptomycine ou présentent des caractères morphologiques qui permettent facilement leur différenciation d'avec *E. coli* «L». Les colonies «L» sont ensuite repiquées sur gélose ordinaire, puis réensemencées pour contrôle dans les différents milieux nécessaires à leur identification: lactose, xylose, galactose, tryptophane, urée<sup>2</sup>.

Chez les quatre sujets soumis à l'expérience l'ingestion de *E. coli* «L» a été régulièrement suivie, après 18–20 h, de l'apparition de ce germe dans les fèces. Une étude

<sup>1</sup> F. KAUFFMANN, *Enterobacteriaceae* (Munksgaard, Copenhagen 1954).

<sup>2</sup> J. LEDERBERG, *Genetics* **32**, 505 (1947).