

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)² peut ainsi être résolu en ses constituants, le 20-méthylcholanthène se trouvant complètement adsorbé sur l'anhydride tétrachlorophtalique 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 adsorbé jaune orangé) de ses dérivés hydrogénés³ (1,2,6,7-tétrahydropyrène, hexahydropyrènes, et décahydropyrènes), ou le 1,2:7,8-dibenzocarbazole (V) (qui donne un adsorbé de couleur rouge vif) de composés aussi voisins que l' α,α' -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'inclusion⁴ 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.

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

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

⁴ 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 KAUFFMANN¹ 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 10¹³ 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, urée².

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

¹ F. KAUFFMANN, *Enterobacteriaceae* (Munksgaard, Copenhagen 1954).

² J. LEDERBERG, *Genetics* 32, 505 (1947).

quantitative, dont les résultats sont donnés dans le Tableau, a pu être réalisée chez deux d'entre eux.

Etude quantitative du nombre de colibacilles naturels et de colibacilles d'implantation (*E. coli* «L») décelables dans 1 g de matières fécales après ingestion d'une souche étrangère de microorganismes (*E. coli* «L»).

	Heures après ingestion de <i>E. coli</i> «L»	Nombre de <i>E. coli</i> par g de fèces	
		<i>E. coli</i> naturels	<i>E. coli</i> «L»
Sujet A	0	$2,0 \cdot 10^8$	—
Ingestion $6 \cdot 10^9$ <i>E. coli</i> «L»	24	$6,0 \cdot 10^7$	$2,0 \cdot 10^7$
	48	$1,7 \cdot 10^6$	$2,2 \cdot 10^7$
	70	$3,2 \cdot 10^6$	$2,0 \cdot 10^6$
Sujet B	0	$2,3 \cdot 10^8$	—
Ingestion $1 \cdot 10^9$ <i>E. coli</i> «L»	18	$2,3 \cdot 10^8$	$1,4 \cdot 10^8$
	22	$1,9 \cdot 10^8$	$1,5 \cdot 10^8$
	48	$2,2 \cdot 10^8$	$2,0 \cdot 10^8$

Les résultats obtenus montrent qu'un mutant d'*Escherichia coli*, présentant divers caractères qui permettent son identification biochimique et résistant à la streptomycine, apparaît dans les selles après avoir été ingéré. Des recherches sont actuellement en cours pour déterminer pendant combien de temps il peut persister dans le tube digestif. D'autres souches de colibacilles, identifiables grâce à certaines propriétés particulières, sont également à l'étude.

Y. POSTERNAK, R. REGAMEY,
P. RENTCHNICK et G. BICKEL

Clinique médicale universitaire et Laboratoire central de l'Hôpital cantonal de Genève, le 21 mai 1957.

Zusammenfassung

Die beschriebene Methode gestattet, das Überleben zu therapeutischen Zwecken oral eingeführter Stämme von *Escherichia coli* in der Darmflora weiter zu verfolgen.

PRO LABORATORIO

A Densitometric Adapter for Direct Plotting of Electrophoretic Curve from Paper Strips

Up to the present time there is perhaps no biochemical method of determination which, in such a short time, has spread so widely in clinical medicine as the paper electrophoresis of proteins¹.

In most cases the clinician must be satisfied with only the evaluation of the electrophoretic strip by estimation firstly because the quantitative measurement of single protein fractions by evaluation is very laborious and the special densitometric apparatuses required are expensive. Finally it is not possible nowadays to imagine a scientific publication in this branch without a documentation with an electrophoretogram².

In view of this situation, I developed the idea of constructing a simple adapter which would permit a densitometric evaluation of electrophoretic strip in a spectrophotometer. After nearly two years of different experiments and constructive improvements, I succe-

eded in constructing an adapter (Mod. IV) which is no longer an emergency solution but a perfect apparatus in which it is possible to register directly the electrophoretic curve³.

Construction and principle. This adapter was constructed for the operation with the Coleman-Junior Spectrophotometer. The adapter consists of two parts: a densitometric and a registering one. Both parts can be separated or connected firmly together by means of the screw S. The Adapter is made of metal (dural, brass, steel).

During the operation, the densitometric part is plunged into the cuvette well of the spectrophotometer; it has the outside dimensions of the original cuvette adapter. Its function is very clearly apparent on the schematic diagram (Fig. 1). The coloured and transparent electrophoretic strip moves horizontally in front of the photocell by winding from the axis B onto the axis A (leading axis). On the upper end of the axis A, a wheel (diameter 34 mm) is fixed. By turning this wheel we are able to shift simultaneously both the electrophoretic and registering strips. Two opposite slits of 2.5 mm width and 32 mm length are cut out in the cylindrical mantle, which can be put on the lower end of this part of the Adapter.

The registering part is simply a flat box (dimensions: 70 × 50 × 14 mm) with the upper lid on hinges (Fig. 2). Through this lid a horizontal slit of 3 mm width and 60 mm length is cut out. On the upper margin of this slit, a millimeter scale is engraved so that the figures rise from 0 on the right to 60 on the left. At the left lower corner of this registering box, a simple device is arranged by means of which the inserted Adapter can be very firmly and reliably fastened to the galvanometer lever housing of the spectrophotometer (Fig. 2).

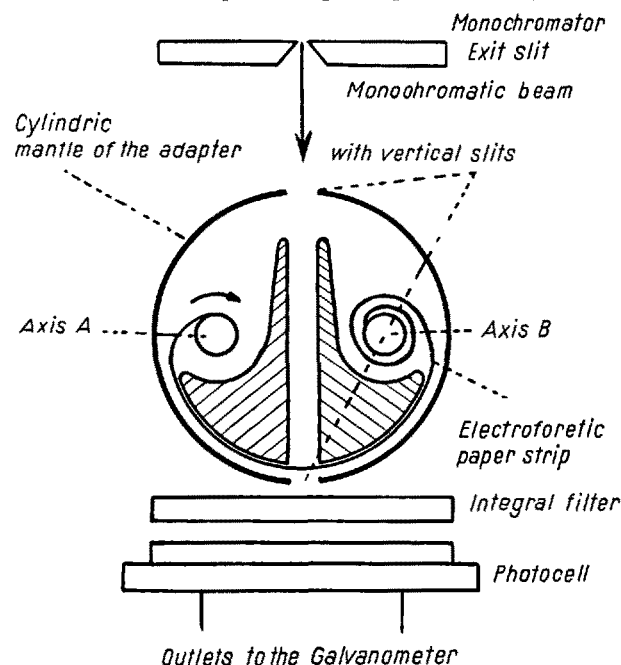


Fig. 1.—Schematic diagram of densitometric adapter.

The registering paper strip is 63 mm wide and 180 mm long with the left margin cut aslant in order to be insert-

¹ A. DITTMAR, Papier-Elektrophorese (Gustav Fischer-Verlag, Jena 1956). — F. WUHRMANN and CH. WUNDERLY, *Die Bluteiweisskörper des Menschen* (Benno Schwabe & Co., Basel 1952).

² M. D. SCHULZ *et al.*, Amer. J. clin. Path. 24, 1110 (1954).

³ CH. EGER, Exper. 12, 37 (1956). — G. CERIOTTI, Exper. 13, 44 (1957). — I became acquainted with this work when I had already overhanded my paper to the publishing board of Experientia.