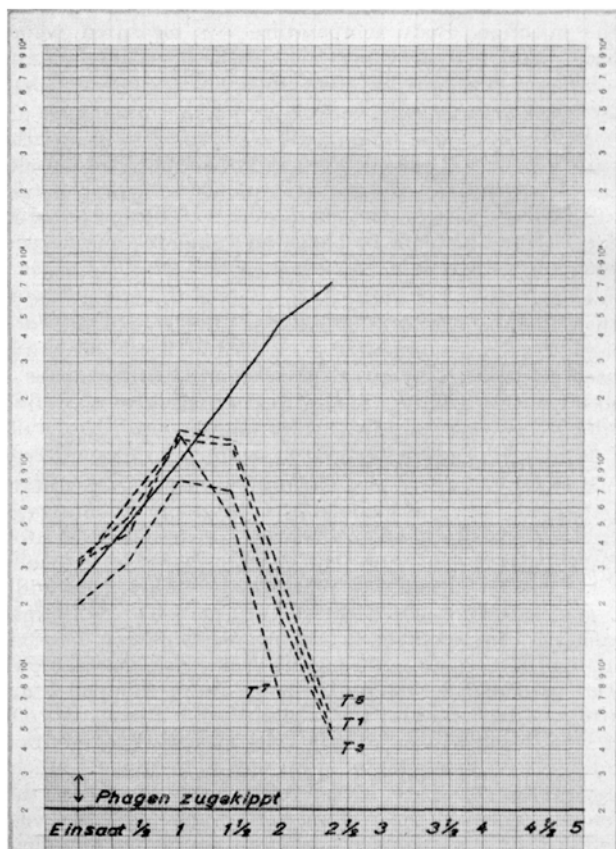


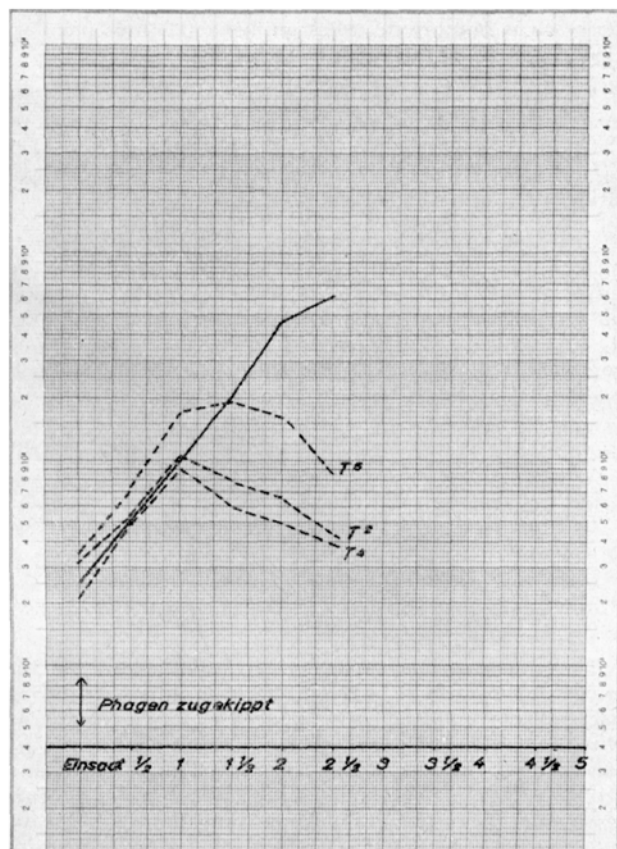
Comparaison de l'activité respiratoire d'*Esch. coli* pendant la bactériolyse due aux bactériophages de la série T_1 à T_7

Dans des communications précédentes¹, considérant la série T des bactériophages d'*Escherichia coli* Delbrückii, nous avons mis en évidence, *in vitro*, que des dérivés de la quinazoline inhibent les bactériophages T_1 , T_3 , T_5 , T_7 , mais ne semblent avoir aucune action vis-à-vis de T_2 , T_4 , T_6 . Ayant utilisé précédemment la méthode de Warburg² afin de déterminer les variations de la consommation d'oxygène pendant la multiplication microbienne (en particulier, pendant la phase logarithmique), nous avons pensé qu'elle serait indiquée pour l'analyse plus exacte du processus de la lyse de bactériophages de types différents. Ce test touchant au métabolisme du complexe [bactérie-bactériophage] permettra peut-être de déceler des différences particulières.

culture bactérienne en bouillon Difco à 6%. La suspension de bactériophages (de concentration déterminée: par exemple pour T_1 : 0,2 ml d'une culture diluée à 10^{-6}) est placée dans le petit appendice latéral. La substance expérimentée est ajoutée à la concentration désirée, soit dans le récipient principal, soit dans un second appendice si l'on veut en étudier l'action au cours du développement du bactériophage. La quantité de bactéries, facteur important, doit être déterminée soigneusement au début de chaque essai: soit néphélométriquement, soit par le volume d'oxygène consommé pendant un temps déterminé. Le développement bactérien optimum correspond à une consommation d'oxygène d'environ 20 mm³ en 30 min lorsque l'équilibre de température à 37°C a été réalisé. On ajoute alors la suspension de bactériophages. La température est maintenue rigoureusement à 37°C pendant toute l'expérience, c'est-à-dire pendant 3 à 4 h. Des lectures manométriques du volume d'oxygène utilisé ont lieu toutes les 30 min.



Courbes 1. *E. coli* Delbrückii + phages T_1 , T_3 , T_5 , T_7 en bouillon Difco 6%. *E. coli* Delbrückii (contrôle) —, Bactériophages - - - -.



Courbes 2. *E. coli* Delbrückii + phages T_2 , T_4 , T_6 en bouillon Difco 6%. *E. coli* Delbrückii (contrôle) —, Bactériophages - - - -.

Méthode. Nous avons analysé le métabolisme bactérien (variation de la quantité d'oxygène utilisée) à l'aide de la méthode de Warburg. La souche d'*Escherichia coli* Delbrückii et la série T (de 1 à 7) des bactériophages ont été choisis comme tests. Dans le récipient se trouve la

Résultats. La courbe de l'intensité respiratoire ainsi que la courbe de croissance d'*Esch. coli* Delbrückii ont une allure très semblable à celles d'*Esch. coli* 207, souche expérimentée précédemment². Il s'ensuit que ces deux souches doivent avoir un métabolisme très voisin.

¹ R. MEIER, L. NEIPP et W. KUNZ, Schw. med. Wschr. 87, 1427 (1957). – L. NEIPP, W. KUNZ et R. MEIER, Exper. 13, 74 (1957).

² L. NEIPP, W. KUNZ et R. MEIER, Schw. Z. Path. Bakt. 19, 331 (1956).

Les essais effectués avec la série T des bactériophages ont montré le très intéressant phénomène suivant: les différents types T montrent un processus de lyse différent qui permet de les ordonner en deux groupes.

Dans le premier groupe, les bactériophages T_1 , T_3 , T_5 , T_7 provoquent la bactériolyse après un certain temps de latence qui dépend de divers facteurs (quantité de phages ensemencés, moment où cette addition a lieu, etc.). Cette lyse se traduit par une diminution rapide de la « consommation d'oxygène » pouvant aller jusqu'à la suppression presque totale de celle-ci; par suite, la courbe respiratoire fait une chute rapide qui aboutit presque à la valeur zéro. Cette courbe correspond également à celle d'*Esch. coli* 207 jusque dans ses moindres détails.

L'autre groupe qui comprend les bactériophages T_2 , T_4 , T_6 est caractérisé, après une phase de latence déterminée, par une bactériolyse qui s'effectue plus lentement. La « consommation d'oxygène » s'élève seulement jusqu'à une certaine valeur et y stationne longuement. Cette phase lytique régulière se traduit sur la courbe par un « plateau » qui peut être légèrement descendant; l'intensité respiratoire se maintient à un niveau déterminé ou diminue légèrement en dessous de celui-ci.

On peut en déduire que le dommage subi par les bactéries ou le nombre de celles qui sont atteintes par l'action phagique est différent dans les deux cas.

En outre, nous avons pu vérifier que la lyse produite avec le groupe $T_{2,4,6}$ quoique plus lente, est complète. Celle qui est déployée par $T_{1,3,5,7}$, d'abord beaucoup plus rapide, se révèle par la suite incomplète et montre l'apparition ultérieure d'individus résistants.

Conclusions. Le cours de la bactériolyse, suivi par la mesure du volume d'oxygène utilisé par les bactéries, est différent chez les bactériophages $T_{1,3,5,7}$ et $T_{2,4,6}$. Après un temps de latence, elle est rapide et incomplète avec $T_{1,3,5,7}$; elle est lente avec un « plateau » respiratoire et complète avec $T_{2,4,6}$. Le mécanisme biochimique de la bactériolyse semble donc différent dans les deux cas.

L. NEIPP, W. KUNZ et R. MEIER

Laboratoire de Recherche du Département pharmaceutique de CIBA Société Anonyme Bâle, le 2 mars 1959.

Summary

The course of bacteriolysis as determined by the oxygen consumption of the bacteria is different during bacteriolysis produced by the phages $T_{1,3,5,7}$ as compared with that produced by phages $T_{2,4,6}$. With phages $T_{1,3,5,7}$, the bacteriolysis occurs, rapidly, but incompletely after a latent period. With the phages $T_{2,4,6}$ bacteriolysis occurs slowly and the course of the respiration shows a « plateau » but goes to completion. The biochemical mechanism of the bacteriolysis therefore seems to differ in both cases.

Increase of the Cathepsin Activity of the Liver and of the Skeletal Muscle of Rats treated either with 2,4-Dinitrophenol or with Bacterial Lipopolysaccharide

It is known that protein catabolism is strongly accelerated during fever, as is shown by the increased urinary elimination of nitrogen, especially in the form of ammonia,

uric acid, and creatine (GRAFE¹, COLEMAN², and DUBOIS³, SHAFTER and COLEMAN³). The reasons for this increased catabolism are not completely known.

The present paper deals with the behaviour of cathepsin activity of both liver and skeletal muscle of rats injected with two pyrogenic substances, i. e. either with 2,4-dinitrophenol (DNP) or with the lipopolysaccharide of *Salmonella abortus equi* (LPS)⁴. DNP, when injected intraperitoneally in doses of 4 mg/100 g body weight, produces a rise of body temperature of about 1°C within 1 h. LPS does not constantly increase the body temperature of rats, but in some instances it produces hypothermia. When the amount of LPS injected intraperitoneally in the rat was 0.25 µg/100 g body weight, an increase of 0.7–1°C of rectal temperature was recorded in about 70% of the cases studied within 1 h. In the present investigation, only the rats which developed fever were studied.

Albino rats weighing 160–180 g were used. They were fed on a standard diet and their body temperature was recorded for many days before the beginning of the treatment. The animals were killed by decapitation 2 h after the injection. Body temperature was measured before the injection and before the death. The liver or the muscle of the right leg were immediately dissected and transferred to the cold room at + 2°C.

Different groups of animals were used to study the cathepsin activity of the liver and of the skeletal muscle, in order to decrease the time necessary for the preparation of the homogenates. 10% homogenates were prepared in the Potter-Elvehjem homogenizer. Skeletal muscle was previously finely minced with scissors.

In each case two types of suspension fluids were used: the first one was 0.25 M sucrose, the second one was 0.25 M sucrose containing 0.1% Triton X-100. This was used to produce maximal activation of cathepsin as a result of the disintegration of the particles (lysosomes) in which it is contained (WATTIAUX and DEDUVE⁵).

Cathepsin activity was determined at 37°C by the method of GIANETTO and DEDUVE⁶, with 0.17 M acetate buffer, pH 5.0, and 0.00026 M hemoglobin as substrate. In the case of the homogenates prepared with Triton X-100, also the reaction fluid contained this substance in 0.1% concentration. The reaction was stopped by addition of ice cold 0.3 M trichloroacetic acid. Three different amounts of enzyme material were used for each determination: 20, 50, and 100 mg. In each case, two samples were used: in the first one the reaction was stopped 2 min after the beginning of the incubation; in the second one it was stopped after 10 min. The aromatic degradation products of hemoglobin were then determined on the deproteinized filtrate, with tyrosine as standard. The differences between the readings at 10 and at 2 min were retained as a measure of cathepsin activity. The values obtained were submitted to statistical analysis, the standard deviation being calculated for each average and the 't' value of Fisher for each difference between two averages. Only the data with a 't' value corresponding to a probability $P < 0.05$ were accepted as significant.

Table I shows that in the rats treated either with DNP or with LPS, the cathepsin activity of liver homogenates

¹ E. GRAFE, *Die Wärmeregulation und ihre Störungen*, Oppenheimers Handbuch der Biochemie, Ergänzungswerk, vol. 1.

² E. DU BOIS, J. Amer. med. Ass. 77, 35 (1920).

³ SHAFTER and COLEMAN, Arch. int. Med. 4, 538 (1909).

⁴ The author is indebted to the Firma Wander S.A., Berne, for generous supply of LPS (Pyrexal).

⁵ R. WATTIAUX and C. DEDUVE, Biochem. J. 63, 606 (1956).

⁶ R. GIANETTO and C. DEDUVE, Biochem. J. 59, 433 (1955).