

27 JUIN 1953.

M. Dalcq.

la température sur la production colilytiques de l'actinomycétine,

MARIE GHUYSEN,

MAURICE WELSCH.

culture bactériolytique de certains ions des bactéries tuées d'une part, et de positifs vivants d'autre part (2*). S, au moins en partie, à des agents S nous pouvons désigner commodément le principe colilytique et principe staphylococcique. On note, que la présence de cations de base où l'actinomycétine est élaborée, agit sur les colilytiques et la cinétique de leur

microorganisme utilisé est le *Streptomyces* cultivé en flacons d'Erlenmeyer d'un volume de milieu de culture, maintenus à température antérieurement décrit (2*, 7*). La composition suivante : peptone Wilson : 10 g, NaCl : 1 g, eau distillée : pour faire 100 ml. Après addition d'un sel du métal bivalent (Cu, Zn, Cd) dont on veut étudier les effets, on a recherché pour diverses concentrations de 10⁻⁵. Il convient de remarquer que les sels de base sont susceptibles de modifier l'état de traces, à titre d'impuretés.

Biol., 1937, t. 126, p. 244 ; *J. Bacter.*,

Méd. expérim., 1947, t. 18, suppl. 2.

Biol., 1947, t. 29, p. 362.

de Biol., 1952, t. 146, p. 1268.

de Biol., 1952, t. 146, p. 1812.

Physiol., 1953, t. 61, p. 259.

Pathol. u. Bakter., 1946, t. 9, p. 379.

Des prélèvements sont effectués dans les diverses cultures à intervalles variés. Après élimination du microorganisme par centrifugation, l'actinomycétine est dialysée contre eau distillée ; puis, ses principes colilytique et staphylococcique sont titrés par les méthodes néphélométriques antérieurement décrites, le premier, en solution de phosphates (M/30) à pH 8,0 (2*, 8*), le second, en solution plus complexe [PO₄H₂K, PO₄HK₂, SO₄(NH₄)₂, Cl₂Mn], à pH 7,0 (4*, 6*).

Résultats expérimentaux. — 1) L'activité du principe colilytique se manifeste normalement, au moins au début de la réaction, selon la cinétique d'une réaction pseudomonomoléculaire, exprimée par l'équation : $k.C = (1/t) \cdot \log (T_0/T_t)$, où C représente la concentration en principe colilytique, T₀ et T_t les concentrations (trouble) du substrat microbien respectivement aux temps 0 et t, k la constante de vitesse (9*). Toutefois, le principe colilytique, obtenu après culture dans le milieu de base à température supérieure à 28°, n'agit conformément à cette cinétique normale que pour des périodes d'autant plus courtes que la température d'incubation a été plus élevée. Lorsque celle-ci atteint 37°, la cinétique est exprimée par l'équation : $k \cdot \sqrt{C} = (1/\sqrt{t}) \times \log T_0/T_t$; d'ailleurs retrouvée également lorsque l'actinomycétine, obtenue à 28°, agit dans les solutions autres que le tampon phosphaté usuel (6*).

2) L'allure de la cinétique est, d'autre part, influencée par l'addition, au milieu de base, d'ions bivalents. Ainsi, les actinomycétines élaborées en présence de Cu⁺⁺, Ni⁺⁺, Cd⁺⁺ ou Fe⁺⁺, même à 28°, donnent une cinétique anormale. Inversement, le principe obtenu en présence de Ca⁺⁺ donne une cinétique normale, même si la température d'incubation a été portée jusqu'à 32°. En présence de Mn⁺⁺, Mg⁺⁺ ou Zn⁺⁺, celle-ci peut être élevée jusqu'à 36° environ et, en présence de Co⁺⁺, jusqu'à 38°, température maximale compatible avec un développement convenable de l'actinomycète, sans que la cinétique prenne le type anormal.

3) L'addition de Co⁺⁺ aux milieux de culture renfermant déjà d'autres ions bivalents permet d'obtenir une cinétique de type normal après incubation à des températures plus élevées qu'en son absence (Co⁺⁺, Mg⁺⁺, Fe⁺⁺, par exemple), et parfois même jusqu'à la limite de 38° (Co⁺⁺, Mg⁺⁺).

4) L'addition d'agar-agar (0,2 g/litre) aux milieux de culture aboutit également à la production d'un principe colilytique donnant une cinétique de type anormal, après incubation à une température qui, en son absence, en fournirait une de type normal. Cette action de l'agar-agar est antagonisée par l'addition de Co⁺⁺.

5) Que l'on utilise le milieu de base tel quel ou enrichi en ions bivalents, isolément ou associés, l'optimum thermique correspondant à la production maximale du principe colilytique est toujours, dans nos conditions expérimentales, de 27°.

6) A cette température, il existe une concentration optimale pour

(8*) M. Welsch, *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1938, t. 128, p. 1172.

(9*) M. Welsch, *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1938, t. 128, p. 799.

chacun des ions bivalents étudiés, isolément ajoutés au milieu de base. Cette concentration optimale est modifiée si l'on altère la quantité

Concentration des électrolytes de base	Concentration M optimale en Mg	Activité colilytique relative	Concentration M optimale en Mg	Activité staphylolytique relative
Doublee.....	0	1,25	0	1,3
Doublee.....	10 ⁻⁴	1,65	10 ⁻³	3,0
Normale.....	0	1,00	0	1,0
Normale.....	5 × 10 ⁻³	1,90	2,5 × 10 ⁻³	3,5
Réduite de moitié...	0	0,80	0	0,4
Réduite de moitié...	10 ⁻²	1,80	10 ⁻²	3,0

Tableau I. — Influence des électrolytes de base sur l'optimum de concentration en Mg (27° C).

d'électrolytes de base (Tableau I) ou si l'on associe deux ions bivalents ou davantage (Tableau II).

Concentration M en Mg	Activité relative			
	colilytique		staphylolytique	
	concentration M en Co			
	0	10 ⁻⁴	0	10 ⁻⁴
0	1,0	1,4	1,0	1,2
10 ⁻⁴	1,0	1,4	—	—
10 ⁻³	1,2	1,8	1,6	3,7
2,5 × 10 ⁻³	1,6	1,8	4,5	4,0
5 × 10 ⁻³	1,8	1,7	4,0	4,0
10 ⁻²	1,7	1,6	3,2	4,0

Tableau II. — Influence du Mg⁺⁺ et Co⁺⁺ sur la production des principes lytiques de l'actinomycétine (27° C).

7) Il est difficile de classer les ions bivalents d'après l'intensité de leur effet sur la production du principe colilytique, car celle-ci présente des irrégularités imprévisibles, attribuables, sans doute, à la présence d'impuretés dans les réactifs, peut-être aussi à des variations, difficilement contrôlables, des conditions d'ensemencement et d'agitation. Toutefois, l'addition de Co au milieu de base, enrichi ou non en Mg⁺⁺, permet non seulement de réaliser des conditions parfaitement reproductibles, mais assure également une production maximale du principe colilytique.

8) Ni les variations de la température d'incubation, ni l'addition d'ions bivalents (Zn⁺⁺ excepté) au milieu de base, ne modifient la cinétique régissant l'activité staphylolytique, laquelle est exprimée par l'équation : $k\sqrt{C} = (1/t) \times (T_0 - T_1)/T_0$ (4).

9) L'optimum thermique correspondant au principe staphylolytique est choisi.

10) A l'exception de Ca⁺⁺ (et d'un point de vue), chaque ion bivalent à concentration convenable, peut staphylolytique élaborée par le rendement optimale varie si l'on modifie (tableau I) ou si l'on associe deux principes (tableau II).

11) Des irrégularités, analogues à propos de l'activité colilytique. Toutefois, l'addition de Mg⁺⁺, en de base, enrichi ou non en Co⁺⁺, gulière et maximale de principe colilytique.

12) Pour obtenir, simultanément, principes colilytiques (300-450 u) il convient d'ajouter à un litre de milieu (NO₃)₂Co.6 H₂O : 0,03 g.

Conclusions. — 1) La production staphylolytique de l'actinomycétine d'incubation de *Streptomyces* a été favorisée par la présence de concentration des ions bivalents éventuellement.

2) Dans les cultures agitées, de quantités convenables de Mg⁺⁺, le rendement maximal des deux principes colilytiques est obtenu.

3) La cinétique d'action du principe colilytique est la même à la température à laquelle il a été élaboré, quelle que soit la durée de culture utilisée.

(Laboratoires de Microbiologie de Liège, et Laboratoires de Biologie)

L'aspect microscopique dans les cultures de *Streptomyces*. Influence de la température sur la production de principes lytiques.

On sait que *Mycobacterium* liquide de Dubos à l'albumine de tomeyne, se multiplie dans un milieu riche en Co⁺⁺. Cette curieuse évolution reste à élucider. Il est intéressant de savoir si l'étude des germes staphylolytiques peut donner son interprétation. C'est cette

(1) R. Linz, C. R. de la Soc. de Biologie.

isolément ajoutés au milieu de base, modifiée si l'on altère la quantité

Activité colilytique relative	Concentration M optimale en Mg	Activité staphylolytique relative
1,25	0	1,3
1,65	10 ⁻³	3,0
1,00	0	1,0
1,90	2,5 × 10 ⁻³	3,5
0,80	0	0,4
1,80	10 ⁻²	3,0

des électrolytes de base concentration en Mg (27° C).

ou si l'on associe deux ions biva-

Activité relative		
staphylolytique		
Concentration M en Co		
10 ⁻⁴	0	10 ⁻⁴
1,4	1,0	1,2
1,4	—	—
1,8	1,6	3,7
1,8	4,5	4,0
1,7	4,0	4,0
1,6	3,2	4,0

ence du Mg⁺⁺ et Co⁺⁺ staphylolytiques de l'actinomycétine (27° C).

ions bivalents d'après l'intensité de principe colilytique, car celle-ci précises, attribuables, sans doute, à la sifs, peut-être aussi à des variations, ditions d'ensemencement et d'agi- au milieu de base, enrichi ou non réaliser des conditions parfaitement ment une production maximale du température d'incubation, ni l'addition milieu de base, ne modifient la ci- blytique, laquelle est exprimée par — T_p/T_o (4).

9) L'optimum thermique correspondant à la production maximale du principe staphylolytique est toujours de 27°, quel que soit le milieu choisi.

10) A l'exception de Ca⁺⁺ (et de Zn⁺⁺ qui n'a pas été examiné à ce point de vue), chaque ion bivalent, isolément ajouté au milieu de base à concentration convenable, peut augmenter la quantité de principe staphylolytique élaborée par le microorganisme ; mais sa concentration optimale varie si l'on modifie les quantités d'électrolytes de base (tableau I) ou si l'on associe deux ions bivalents ou davantage (tableau II).

11) Des irrégularités, analogues à celles que nous signalons plus haut à propos de l'activité colilytique, ont été observées dans ce cas aussi. Toutefois, l'addition de Mg⁺⁺, en concentration appropriée, au milieu de base, enrichi ou non en Co⁺⁺, permet d'obtenir une production régulière et maximale de principe staphylolytique.

12) Pour obtenir, simultanément et avec un rendement maximal, les principes colilytiques (300-450 u/ml et staphylolytique (750-950 u/ml), il convient d'ajouter à un litre de milieu de base : SO₄Mg.7 H₂O : 0,75 g et (NO₃)₂Co.6 H₂O : 0,03 g.

Conclusions. — 1) La production des principes colilytique et staphylolytique de l'actinomycétine est influencée par la température d'incubation de *Streptomyces albus* G et par la nature et la concentration des ions bivalents éventuellement introduits dans le milieu de culture.

2) Dans les cultures agitées, à 27°, en milieu peptoné, la présence de quantités convenables de Mg⁺⁺ et de Co⁺⁺ assure régulièrement un rendement maximal des deux principes à la fois.

3) La cinétique d'action du principe colilytique varie avec la température à laquelle il a été élaboré et avec la composition du milieu de culture utilisé.

(Laboratoires de Microbiologie générale et médicale, Université de Liège, et Laboratoires de Recherches de la Société Labaz, Bruxelles).

L'aspect microscopique de *Mycobacterium tuberculosis* dans les cultures en milieu de Dubos. Influence de la streptomycine,

par R. LINZ.

On sait que *Mycobacterium tuberculosis*, ensemencé dans le milieu liquide de Dubos à l'albumine et au Tween 80 et additionné de streptomycine, se multiplie dans un premier temps et se lyse ensuite (1). Cette curieuse évolution reste difficile à comprendre. On pouvait se demander si l'étude des germes sous le microscope ne contribuerait pas à son interprétation. C'est cette étude qui fera l'objet de la présente

(1) R. Linz, C. R. de la Soc. de Biol., 1952, t. 146, pp. 1636 et 1820.