

Reçu le 22 février 1961.

ORIGINE TISSULAIRE DES ENZYMES CHITINOLYTIQUES INTESTINAUX DES LOMBRICS

PAR

Julienne DEVIGNE et Charles JEUNIAUX
(Institut Léon Fredericq, Biochimie, Université de Liège)

(1 figure)

La présence de chitinase et de cellulase dans le tube digestif des Lombricidés a été mise en évidence par TRACEY (1951). Ayant trouvé ces enzymes non seulement dans les contenus intestinaux, mais encore dans des broyats de parois d'intestin lavé, cet auteur conclut que ces enzymes sont sécrétés par l'animal lui-même, tout en n'excluant pas la possibilité d'une sécrétion concomitante par des microorganismes vivant dans l'intestin. L'objet de ce travail est de confirmer l'existence d'enzymes chitinolytiques chez deux espèces de Lombrics (*Lumbricus terrestris* L. et *Lumbricus rubellus* HOFFMSTR.) (1), de préciser leur localisation dans le tube digestif, d'y signaler la présence d'une flore bactérienne chitinolytique, et enfin de démontrer expérimentalement l'origine tissulaire de ces chitinases par des élevages en milieu stérile et par l'emploi d'antibiotiques.

1. — Méthode

A. — DOSAGE DES ENZYMES CHITINOLYTIQUES

a) Principe :

Etant donné les faibles activités des extraits enzymatiques et leur turbidité, la chitinase n'a pu être mesurée par la méthode néphélométrique (JEUNIAUX, 1951). Nous avons dosé l'activité chitinolytique par mesure de l'acétylglucosamine libérée, à pH 5.2 (2) et 37° C., en présence de suspension colloïdale de chitine comme substrat (JEUNIAUX, 1958).

(1) Nous tenons à remercier Madame P. VAN GANSEN (Laboratoire de Zoologie et de Biochimie animale, Université Libre de Bruxelles) qui a bien voulu confirmer nos identifications.

(2) Nous avons vérifié que le pH optimum de la chitinase intestinale des Lombrics est compris entre 5 et 5.2

On sait que la libération enzymatique d'acétylglucosamine à partir de chitine nécessite non seulement l'intervention de chitinase, mais encore celle d'une oligosaccharidase, la chitobiase

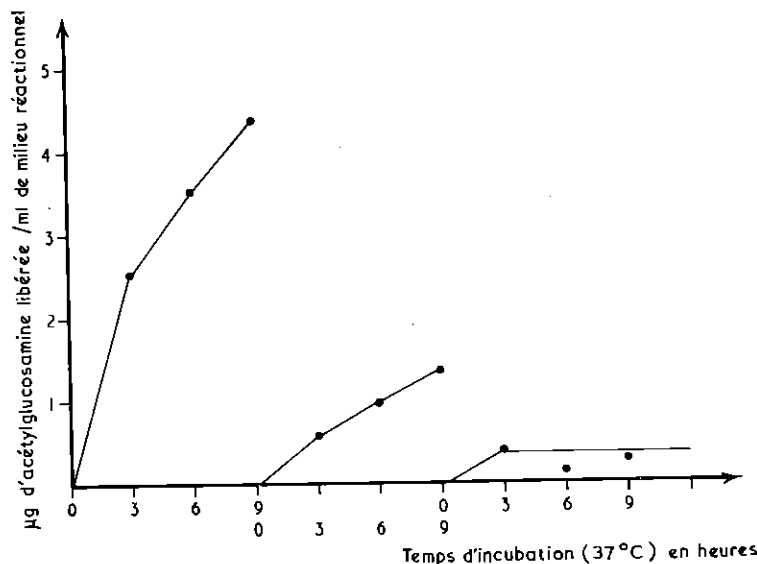


FIG. 1. — Libération d'acétylglucosamine à partir d'une suspension colloïdale de chitine, sous l'action répétée de solutions de chitobiases.

(JEUNIAUX, 1959). Nous avons vérifié que la teneur en chitobiase des extraits enzymatiques étudiés est suffisamment élevée pour permettre un emploi correct de cette méthode.

b) Mode opératoire :

Le milieu réactionnel se compose de 1 ml. de suspension colloïdale de chitine (2 mg/ml), 2 ml. de solution enzymatique (extrait aqueux de la paroi intestinale ou solution du contenu du tube digestif), 1 ml. de tampon acide citrique 0.6 M- Na_2HPO_4 1.2 M, de pH 5.1. Au temps 0, puis après 90 et 180 minutes d'incubation à 37° C., on prélève 1 ml. du milieu réactionnel, qu'on dilue dans 1 ml. d'eau bidistillée, contenue dans un tube à centrifuger. On couvre d'un capuchon de verre, assurant une étanchéité suffisante, et on porte aussitôt au bain-marie bouillant. La solution y demeure 10 minutes, afin de provoquer l'inactivation complète des enzymes et la précipitation d'une partie des protéines. Après refroidissement et centrifugation, on mesure la teneur en acétyl-

glucosamine de la solution. (STROMINGER et LELAND, 1959) par l'établissement d'une référence.

c) Substrat pour les chitobiases polytiques.

L'emploi de suspensions de chitine pour le dosage de très faibles quantités de chitobiase est très délicat. Les milieux étudiés sont riches en chitobiase, de sorte que la libération de petites quantités de chitobiase ne résulte pas de l'hydrolyse de petits polymères, mais de la présence de particules de chitine.

Nous avons donc utilisé une suspension de chitine débarrassée de la chitobiase par l'action répétée de solutions de chitobiase, nous utilisons une suspension de chitine (Nutritional Biochemicals) de 40 mg. de β -glucosidase et de tampon acide citrique. La suspension est soumise à une préincubation de thymol comme agent conservateur. La chitine est remise en suspension par β -glucosidase et de tampon acide citrique pendant 9 heures. La libération progressive de la chitobiase montre la diminution de la teneur en chitobiase de ces incubations successives. La chitine est bidistillée et gardée en suspension colloïdale de chitine.

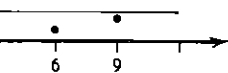
B.

DES M.

a) Prélèvement aseptique

Le tube digestif est divisé en différents tronçons. Les tronçons sont conservés dans une vitre stérile. A l'issue de ces tronçons, qu'on dépose dans une solution longitudinale, on mesure la teneur en chitobiase à partir de cette suspension. Les suspensions sont mises en culture.

d'acétylglucosamine à l'intervention de chitinase, la chitobiase



Incubation (37°C) en heures

à partir d'une suspension colloïdale de chitobiases.

La teneur en chitobiase est suffisamment élevée pour être dosée par la méthode.

de suspension colloïdale chitine (extrait aqueux du tube digestif), 1 ml. de pH 5.1. Au temps 0, à 37°C., on prélève 1 ml. d'eau bidistillée, contenue dans un bouchon de verre, assurant l'étanchéité au bain-marie bouillant. On cherche à provoquer l'inactivation progressive d'une partie des protéines. On mesure la teneur en acétyl-

glucosamine de la solution surnageante par la méthode de REISSIG, STROMINGER et LELOIR (1955). Chaque série de dosages est précédée par l'établissement d'une courbe étalon au moyen de 3 solutions de référence.

c) *Substrat pour la mise en évidence de faibles activités chitinolytiques.*

L'emploi de suspensions colloïdales de chitine comme substrat pour le dosage de très faibles activités chitinolytiques risque de donner lieu à des interprétations abusives dans le cas où les solutions enzymatiques étudiées sont riches en chitobiase. En effet, des solutions concentrées de chitobiase, dépourvues de chitinase, sont capables de provoquer la libération de petites quantités d'acétylglucosamine à partir de telles suspensions de chitine (JEUNIAUX et DEVIGNE, 1960a). Cette libération ne résulte pas de l'hydrolyse de la chitine elle-même, mais de l'hydrolyse de petits polymères d'acétylglucosamine, probablement adsorbés aux particules de chitine (JEUNIAUX et DEVIGNE, 1960b).

Nous avons donc utilisé comme substrat une suspension colloïdale de chitine débarrassée des petits polymères d'acétylglucosamine par l'action répétée de solutions de chitobiase. Comme source de chitobiase, nous utilisons une préparation commerciale de β -glucosidase (Nutritional Biochemicals Corporation) dans les proportions suivantes : 40 mg. de β -glucosidase pour 20 mg. de chitine colloïdale dans 60 ml. de tampon acide citrique- Na_2HPO_4 0.05 M de pH 5.2. Cette suspension est soumise à une première incubation de 9 heures à 37°C. en présence de thymol comme antiseptique. Après centrifugation et décantation, la chitine est remise en suspension dans une solution fraîche de β -glucosidase et de tampon, et soumise à une nouvelle période d'incubation de 9 heures. Cette opération est répétée deux fois ; l'épuration progressive de la chitine colloïdale est illustrée dans la figure 1, qui montre la diminution de la libération d'acétylglucosamine au cours de ces incubations successives. La chitine est enfin lavée par de l'eau bidistillée et gardée en glacière en présence de thymol (suspension colloïdale de chitine « épurée »).

B. — ISOLEMENT ET CULTURE
DES MICROORGANISMES CHITINOLYTIQUES

a) *Prélèvement aseptique des contenus intestinaux.*

Le tube digestif est mis à nu ; on le ligature de façon à délimiter différents tronçons. Le reste de la manipulation se déroule en cage vitrée stérile. À l'aide d'instruments stérilisés, on sépare les différents tronçons, qu'on dépose sur des verres de montre stériles. Après incision longitudinale, le contenu est récolté avec 1 ml. d'eau stérile. À partir de cette suspension, on procède aux dilutions sériées et aux mises en culture.

b) Recherche de microorganismes chitinolytiques.

Le milieu de culture utilisé consiste en un gel d'agar-agar contenant des sels minéraux et de la chitine : K_2HPO_4 : 5 g. ; $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$: 0.2 g. ; agar-agar : 20 g. ; suspension colloïdale de chitine (10 g. de chitine sèche par litre) : 150 ml. ; volume final : 1 litre. Les colonies chitinolytiques se reconnaissent facilement à la clarification du milieu qui les entoure.

La préparation des dilutions sériées pour la numération des colonies chitinolytiques et les critères utilisés pour une caractérisation sommaire de celles-ci ont été décrits antérieurement (JEUNIAUX, 1954, 1955).

2. — Localisation de la chitinase dans le tube digestif des lombrics

Trois *Lumbricus terrestris* de grande taille sont utilisés ; les tubes digestifs sont divisés en quatre tronçons par des ligatures. Les tronçons de même nature sont réunis sur des verres de montre et incisés longitudinalement. On sépare les parois intestinales des contenus intestinaux, en lavant au moyen d'un ml. d'eau distillée injectée à la seringue. Les contenus intestinaux sont amenés à un volume de 3 ml. par addition d'eau distillée. Après centrifugation, les liquides surnageants sont utilisés comme solutions enzymatiques. Les culots sont transvasés dans des pèse-substance tarés pour la détermination du poids sec des contenus intestinaux. Les parois intestinales sont lavées au moyen de Ringer glacé. Après détermination du poids frais, on les broie en présence de sable lavé et d'eau distillée (volume final : 5 ml.). Après 24 h. d'extraction en glacière, on centrifuge et on détermine l'activité enzymatique des liquides surnageants.

Les résultats sont présentés dans le tableau I. Ils confirment l'existence d'enzymes chitinolytiques dans le tube digestif des lombrics. On constate un certain parallélisme entre la distribution de l'activité enzymatique dans les contenus intestinaux et dans les parois intestinales. L'activité chitinolytique manque dans le jabot, le gésier et l'œsophage ; elle apparaît dans la portion antérieure de l'intestin, et est maximum au niveau de la portion moyenne, dans les contenus comme dans les parois intestinales. Enfin, au niveau de la portion postérieure, l'activité persiste dans les contenus, mais elle est nulle dans les parois intestinales.

Distribution de l'activité
et les extraits

Tronçon

- 1) Œsophage, jabot, gésier
- 2) Intestin antérieur
- 3) Intestin moyen
- 4) Intestin postérieur

(1) Activité chitinolytique
d'incubation, par g. de
(2) Activité chitinolytique
d'incubation, par g. de

3. — La flore

Les contenus i
quement et mis e
Le pH de ces mil
tions de pH qui
d'après DE PURV

La flore bactéri
phage, le jabot
l'intestin : nous
sériées, à 16 nu
antérieur, et à 8
l'intestin moyen

On ne constat
la flore bactérie
différents tronço

ytiques.

gel d'agar-agar contenant
g. ; $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$: 0.2 g. ;
chitine (10 g. de chitine
litre. Les colonies chitino-
larification du milieu qui

a numération des colonies
e caractérisation sommaire
JEUNIAUX, 1954, 1955).

ans le tube digestif

taille sont utilisés ; les
nçons par des ligatures.
unis sur des verres de
sépare les parois intes-
tant au moyen d'un ml.
es contenus intestinaux
addition d'eau distillée.
nageants sont utilisés
ts sont transvasés dans
mination du poids sec
estinales sont lavées au
ation du poids frais, on
d'eau distillée (volume
a glacière, on centrifuge
es liquides surnageants.
ableau I. Ils confirment
ans le tube digestif des
llisme entre la distribu-
-contenus intestinaux et
chitinolytique manque
; elle apparaît dans la
maximum au niveau de
comme dans les parois
on postérieure, l'activité
st nulle dans les parois

TABLEAU I

*Distribution de l'activité chitinolytique dans les contenus intestinaux
et les extraits aqueux de broyats de parois intestinales*

Tronçon	Contenus intestinaux		Parois intestinales	
	Poids sec de contenus	Activité (¹)	Poids frais de parois	Activité (²)
1) Œsophage, jabot, gésier	44 mg.	0	222 mg.	10
2) Intestin antérieur..	81 mg.	29	210 mg.	68
3) Intestin moyen....	128 mg.	501	128 mg.	476
4) Intestin postérieur.	97 mg.	46	59 mg.	0

(¹) Activité chitinolytique, en $\mu g.$ d'acétylglucosamine libérée pendant 180 min. d'incubation, par g. de contenus secs.

(²) Activité chitinolytique, en $\mu g.$ d'acétylglucosamine libérée pendant 180 min. d'incubation, par g. de tissus frais.

3. — La flore bactérienne chitinolytique intestinale des lombrics

Les contenus intestinaux des lombrics sont recueillis aseptiquement et mis en culture dans des milieux gélosés à la chitine. Le pH de ces milieux est ajusté à 7, afin de reproduire les conditions de pH qui règnent dans le tube digestif (de 6.5 à 7.7, d'après DE PUYTORAC et MAURET, 1956).

La flore bactérienne chitinolytique est très pauvre dans l'œsophage, le jabot et le gésier. Elle est plus abondante dans l'intestin : nous l'avons évaluée, par la méthode des dilutions sériées, à 16 millions par g. de contenus secs dans l'intestin antérieur, et à 8.7 et 8.4 millions par g. de contenus secs dans l'intestin moyen et l'intestin postérieur.

On ne constate donc pas de parallélisme entre la richesse de la flore bactérienne chitinolytique et la teneur en chitinase des différents tronçons intestinaux.

Qualitativement, la flore chitinolytique de l'intestin moyen diffère de celle des sols dans lesquels vit le lombric, par la forte proportion d'eubactériales (55 à 85 % des microorganismes chitinolytiques, contre 12 % pour la flore des sols), et la faible proportion d'actinomycètes (15 à 40 %, contre 80 % pour la flore du sol). La plupart des eubactériales chitinolytiques sont ces cocci Gram-négatifs, formant, dans l'épaisseur des milieux gélosés, des colonies punctiformes, à développement rapide (visibles après 5 jours de croissance à 25° C.), très chitinolytiques. Ces observations s'appliquent à la flore intestinale de *Lumbricus terrestris* L. comme à celle de *L. rubellus* HOFFMSTR.

4. — Effet de lavages répétés sur la teneur en chitinase des parois d'intestin moyen

Nous avons cherché à déterminer l'origine (exogène ou tissulaire) de la chitinase de *Lumbricus terrestris*, en mesurant l'activité chitinolytique de parois d'intestin moyen parfaitement débarrassées de toute trace de contenu digestif. Cette opération est assez facilement réalisable chez le lombric, étant donné l'absence d'appendices glandulaires, de cæca ou de villosités, à l'exception du typhlosolis, au niveau de l'intestin moyen. Par lavages au moyen de Ringer glacé et brossages répétés de la muqueuse au moyen d'un fin pinceau, on peut éliminer la presque totalité des contenus digestifs. Pour contrôler l'efficacité de ces manipulations, nous avons dosé l'activité chitinolytique des liquides de lavage successifs, et nous y avons évalué la quantité de matières sèches ainsi que le nombre de germes bactériens d'origine intestinale. Toutes les manipulations sont donc réalisées en cage vitrée aseptique au moyen de verrerie et de matériel stérilisés.

Le tableau II rassemble les résultats obtenus au cours d'une expérience de ce genre, ayant porté sur deux gros individus de *Lumbricus terrestris*.

On constate que les lavages et brossages successifs de la muqueuse intestinale éliminent quasi complètement les contenus intestinaux. En effet, le nombre de bactéries et le poids de matières sèches diminuent considérablement dans les eaux de lavage. Les parois intestinales lavées sont donc pratiquement

Persistence de l'act.
après lavage

Contenus de de
intestins moyens

1^{er} liquide de lavage

2^e liquide de lavage

Parois lavées de 2
testins moyens

(¹) Activité, en µg
solution enzymatique

(²) Activité, en µg
frais.

débarrassées de
quent d'enzymes
nase des eaux de
l'activité chitino
moyen est élevé
approximativem
contenus intestin
frais, elle est du
un extrait de par
tableau I).

Ces observati
d'une origine ba

TABLEAU II

Persistence de l'activité chitinolytique dans les parois de l'intestin moyen, après lavages et brossages répétés de l'épithélium intestinal

	Poids de matières sèches, en g.	Nombre total de germes chitinolytiques	Activité totale ⁽¹⁾ (µg./180 min./3 ml. de solution)	
Contenus de deux intestins moyens..	0.130	29 millions	84.6	
1 ^{er} liquide de lavage.	0.022	2.2 millions	24.6	
2 ^e liquide de lavage..	0.007	10 000	15.7	
	Poids frais en g.		Activité totale ⁽¹⁾ par g. ⁽²⁾	
Parois lavées de 2 intestins moyens ...	0.137	—	79.1	656

⁽¹⁾ Activité, en µg. d'acétylglucosamine libérée, en 180 min., pour 3 ml. de solution enzymatique totale.

⁽²⁾ Activité, en µg. d'acétylglucosamine libérée en 180 min., par g. de tissu frais.

que de l'intestin moyen
le lombric, par la forte
% des microorganismes
re des sols), et la faible
%, contre 80 % pour la
les chitinolytiques sont
l'épaisseur des milieux
développement rapide
C.), très chitinolytiques.
ntestinale de *Lumbricus*
s HOFFMSTR.

La teneur en chitinase moyen

origine (exogène ou tissu-
stris, en mesurant l'acti-
n moyen parfaitement
digestif. Cette opération
lombric, étant donné
cæca ou de villosités, à
e l'intestin moyen. Par
brossages répétés de la
peut éliminer la presque
trôler l'efficacité de ces
vité chitinolytique des
avons évalué la quantité
e de germes bactériens
tions sont donc réalisées
verrierie et de matériel

obtenus au cours d'une
deux gros individus de

brossages successifs de la
mplètement les contenus
actéries et le poids de
ment dans les eaux de
ont donc pratiquement

débarrassées de toute trace de contenu intestinal, et par consé-
quent d'enzymes d'origine extra-tissulaire. La teneur en chiti-
nase des eaux de lavage diminue d'ailleurs fortement. Néanmoins,
l'activité chitinolytique du broyat de parois lavées d'intestin
moyen est élevée. L'activité totale du broyat d'intestin est
approximativement égale à l'activité totale décelée dans les
contenus intestinaux. Exprimée par rapport au poids de tissus
frais, elle est du même ordre de grandeur que celle mesurée dans
un extrait de parois d'intestin moyen, sommairement lavées (voir
tableau I).

Ces observations paraissent incompatibles avec l'hypothèse
d'une origine bactérienne prédominante de la chitinase.

5. — Répercussions d'un élevage en milieu stérile additionné d'antibiotiques sur la flore bactérienne et la teneur en chitinase de l'intestin moyen

Nous avons cherché à provoquer des modifications quantitatives ou qualitatives de la flore bactérienne intestinale, par des élevages en milieux stériles contenant divers antibiotiques.

Des tests de sensibilité aux antibiotiques ont révélé que, dans leur grande majorité, les bactéries du tube digestif des lombrics sont peu sensibles à la pénicilline, et très sensibles à l'auréomycine et à la terramycine.

Les conditions d'élevage aseptique qui ont donné les meilleurs résultats consistent à garder les vers dans des boîtes de Roux, remplies jusqu'au 1/3 de leur hauteur d'un mélange de terre de jardin et de terreau; un bouchon d'ouate non dégraissée permet une ventilation et une évaporation suffisantes, tout en assurant l'asepsie. Après stérilisation à l'autoclave, chaque milieu est arrosé au moyen de 10 ml. d'eau stérile ou de solution d'antibiotique à 3 mg./ml. Deux lombrics, préalablement lavés dans de l'eau stérile, sont alors introduits dans chaque milieu. L'élevage se fait dans l'obscurité, à une température de 12-15° C. Les doses d'antibiotiques sont renouvelées quotidiennement (soit 30 mg./jour/500 g. de terre), et les vers sont transférés dans des milieux frais tous les 3 jours.

Un essai préliminaire a montré qu'un élevage d'une durée de 6 jours dans de telles conditions est parfaitement supporté par les animaux, mais n'est pas à même de provoquer une modification sensible de la flore intestinale. Un second essai a duré un mois, pendant lequel on n'a constaté ni mortalité ni comportement anormal des animaux mis en expérience. Le tableau III présente les modifications de la flore bactérienne intestinale et les résultats des dosages de chitinase dans les contenus et les parois de l'intestin moyen. On y compare des vers témoins, élevés en milieu non stérile ou en milieu stérile, à des vers élevés en milieux stériles arrosés d'auréomycine ou de terramycine.

L'examen du tableau III permet de tirer les conclusions suivantes :

1) Le traitement par l'auréomycine a provoqué une nette augmentation de la flore bactérienne chitinolytique intestinale

Influence d'un élevage en milieu stérile sur la flore bactérienne

Milieu d'élevage
1. Terre non stérile, sans antibiotiques ...
2. Terre stérile, sans antibiotiques
3. Terre stérile, + auréomycine
4. Terre stérile, + terramycine

(¹) Acétylglucosaminidase
(²) Acétylglucosaminidase

(17.5 fois plus abondante que dans le milieu non stérile). Les résultats obtenus sont remarquables par leur stabilité. Elles sont résistantes à l'activité chitinolytique que l'activité chitinolytique est pratiquement identique à l'activité des vers témoins du même ordre de grandeur. L'auréomycine que chez les vers témoins. Il n'y a donc aucune

TABLEAU III

Influence d'un élevage en milieu stérile, arrosé ou non d'antibiotiques, sur la flore bactérienne et la teneur en chitinase de l'intestin moyen

Milieu d'élevage	Bactéries chitinolytiques de l'intestin moyen (millions/g. de contenus secs)			Activité chitinolytique	
	Total	Actinomycètes	Eubactériales	Contenus intestinaux (1)	Parois intestinales (2)
1. Terre non stérile, sans antibiotiques ...	8.0	3.7	4.3	940	490
2. Terre stérile, sans antibiotiques	6.5	3.7	2.8	1 220	320
3. Terre stérile, + auréomycine	140.0	4.6	135.4	1 000	270
4. Terre stérile, + terramycine	1.5	0.3	1.2	1 480	470

(1) Acétylglucosamine libérée, en $\mu\text{g.}/180 \text{ min./g.}$ de contenus intestinaux secs.

(2) Acétylglucosamine libérée, en $\mu\text{g.}/180 \text{ min./g.}$ de tissus frais.

e en milieu stérile
flore bactérienne
l'intestin moyen

s modifications quanti-
térienne intestinale, par
nt divers antibiotiques.
es ont révélé que, dans
be digestif des lombrics
rès sensibles à l'auréo-

ont donné les meilleurs
ns des boîtes de Roux,
d'un mélange de terre
d'ouate non dégraissée
ion suffisantes, tout en
à l'autoclave, chaque
au stérile ou de solution
ics, préalablement lavés
its dans chaque milieu.
température de 12-15° C.
es quotidiennement (soit
sont transférés dans des

élevage d'une durée de
parfaitement supporté
de provoquer une modi-
Un second essai a duré
ni mortalité ni compor-
périence. Le tableau III
actérienne intestinale et
dans les contenus et les
pare des vers témoins,
stérile, à des vers élevés
ne ou de terramycine.

de tirer les conclusions

a provoqué une nette
chitinolytique intestinale

(17.5 fois plus abondante que chez les vers témoins). Ce change-
ment porte surtout sur les eubactériales punctiformes remar-
quables par leur activité chitinolytique en milieu-chitine gélosé ;
elles sont résistantes à l'auréomycine. On constate par ailleurs
que l'activité chitinolytique des contenus intestinaux est prati-
quement identique à celle mesurée chez les vers témoins. Quant
à l'activité des extraits de parois intestinales lavées, elle est
du même ordre de grandeur chez les vers traités par l'auréomy-
cine que chez les vers élevés en milieux stériles sans antibiotiques.
Il n'y a donc aucune concordance entre l'augmentation consi-

dérable de la flore et les variations insignifiantes d'activité enzymatique.

2) Les individus élevés dans un milieu arrosé de terramycine montrent un appauvrissement en bactéries chitinolytiques de leur tube digestif (cinq fois moins que chez les témoins). Au contraire, l'activité des chitinases tant dans les contenus intestinaux que dans les extraits de parois d'intestin est du même ordre de grandeur que chez les vers témoins. Les légères variations de l'activité enzymatique sont, dans ce cas également, sans rapport avec les modifications subies par la flore bactérienne.

6. — Discussion et conclusions

1) L'existence d'enzymes chitinolytiques dans le tube digestif des lombrics, signalée par TRACEY (1951), a été confirmée. Les chitobiases sont très actives dans toute la longueur du tractus intestinal. La chitinase manque dans l'œsophage, le jabot et le gésier. On en trouve dans tout l'intestin, mais elle est nettement plus concentrée au niveau de l'intestin moyen.

2) La possibilité d'une origine bactérienne des chitinases intestinales a été envisagée. Nous avons en effet constaté l'existence d'une flore bactérienne chitinolytique dans le tube digestif. Elle est abondante (8 à 16 millions de germes par g. de contenu intestinal sec) et localisée principalement dans l'intestin antérieur. Dans une certaine mesure, elle est différente de celle du sol, notamment par la proportion moindre des actinomycètes et la présence de grandes quantités d'eubactériales (surtout cocci) très chitinolytiques.

3) L'ensemble des faits expérimentaux que nous avons exposés nous conduit à conclure que, chez le lombric, la chitinase intestinale est essentiellement d'origine tissulaire. En effet :

a) Il ne semble pas y avoir de concordance entre la teneur en chitinase et la richesse de la flore chitinolytique au niveau de l'intestin.

b) après élimination complète des contenus intestinaux par lavages répétés, les parois de l'intestin moyen conservent une activité chitinolytique aussi élevée que celle de parois sommairement lavées.

c) en conservant d'antibiotiques, no
flore chitinolytique
d'une augmentati
chitinolytiques, so
de la flore bactérie
sur la teneur en c
des parois d'intest

4) Ceci constitue
l'origine tissulaire
digestif d'un anim

L'existence de c
confirmée, et la loc
de la présence d'u
abondante et parti
chitinolytiques son
chez des lombrics
d'antibiotiques, le
subies par la flore
pas de variation d

The presence of
is confirmed; thes
intestine. In spit
of a chitinolytic b
that of soils, the ch
by the intestinal
sterile medium con
flora shows quant
alteration of the

DE PUYTORAC, P. et M.
JEUNIAUX, Ch. (1951).
JEUNIAUX, Ch. (1954).

insignifiantes d'activité

u arrosé de terramycine
éries chitinolytiques de
chez les témoins). Au
ans les contenus intesti-
est du même ordre
Les légères variations de
également, sans rapport
e bactérienne.

Conclusions

ues dans le tube digestif
(1), a été confirmée. Les
e la longueur du tractus
l'œsophage, le jabot et
stin, mais elle est nette-
estestin moyen.

enne des chitinases intes-
effet constaté l'existence
dans le tube digestif.
ermes par g. de contenu
ent dans l'intestin anté-
st différente de celle du
ndre des actinomycètes
d'eubactériales (surtout

x que nous avons exposés
mbric, la chitinase intes-
laire. En effet :

cordance entre la teneur
tinolytique au niveau de

ontenus intestinaux par
a moyen conservent une
celle de parois sommaire-

c) en conservant des lombrics dans des sols stériles arrosés d'antibiotiques, nous avons provoqué des modifications de la flore chitinolytique intestinale de ces animaux, soit dans le sens d'une augmentation considérable du nombre d'eubactériales chitinolytiques, soit dans celui d'un appauvrissement général de la flore bactérienne. Ces modifications sont sans répercussion sur la teneur en chitinase, tant des contenus intestinaux que des parois d'intestin des lombrics.

4) Ceci constitue la première démonstration expérimentale de l'origine tissulaire d'enzymes chitinolytiques au niveau du tube digestif d'un animal.

Résumé

L'existence de chitinase dans le tube digestif des lombrics est confirmée, et la localisation de cet enzyme est précisée. En dépit de la présence d'une flore bactérienne chitinolytique intestinale abondante et partiellement différente de celle du sol, ces enzymes chitinolytiques sont essentiellement d'origine tissulaire. En effet, chez des lombrics élevés aseptiquement en milieu stérile arrosé d'antibiotiques, les modifications quantitatives et qualitatives subies par la flore chitinolytique du tube digestif n'entraînent pas de variation de l'activité des chitinases intestinales.

Summary

The presence of chitinases in the digestive tract of earthworms is confirmed; these enzymes are more abundant in the middle intestine. In spite of the existence, in the intestinal contents, of a chitinolytic bacterial flora, showing a great difference with that of soils, the chitinolytic enzymes are predominantly secreted by the intestinal tissues. Indeed, after rearing earthworms in sterile medium containing antibiotics, the chitinolytic intestinal flora shows quantitative and qualitative modifications, without alteration of the activity of the intestinal chitinases.

BIBLIOGRAPHIE

- DE PUYTORAC, P. et MAURET, P. (1956). — *Bull. Biol. France et Belgique*, **90**, 122.
JEUNIAUX, Ch. (1951). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **59**, 242.
JEUNIAUX, Ch. (1954). — *Mémoires Acad. Roy. Belg., Classe Sciences*, **28**, fasc. 7.

- JEUNIAUX, Ch. (1955). — *Bull. Soc. Roy. Sc. Liège*, **24**, 254.
JEUNIAUX, Ch. (1958). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **66**, 408.
JEUNIAUX, Ch. (1959). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **67**, 115.
JEUNIAUX, Ch. et DEVIGNE, J. (1960a). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **68**, 411.
JEUNIAUX, Ch. et DEVIGNE, J. (1960b). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **68**, 685.
REISSIG, J. L., STROMINGER, J. L. et LELOIR, L. L. (1955). — *J. Biol. Chem.*, **217**, 959.
TRACEY, M. V. (1951). — *Nature*, **167**, 776.

EXCERPTA

Les EXCERPTA M
extensif d'extraits de
immense de la médecine
20 sections qui font
formant une documente

PHYSIOLOGY, I

Environ 1

ABST

Publica

Nous désirons vous ra
pose pour la traduction
Nous vous prions de n
recevrez un relevé du pr

EXCI

119-123, Herengracht
AMSTERDAM (Hollan