

restée stérile qu'on peut alors ensemer à l'aide d'une jeune culture sensible de coli φ . Celui-ci se développe partout sauf au niveau de plages circulaires révélant la présence en leur centre d'une colonie active de *B. coli* producteur de colicines. Le nombre des colonies actives ainsi révélées est très variable d'une selle à l'autre : très élevé et pouvant même atteindre 100 p. 100 dans les selles qui se sont montrées d'emblée actives par la méthode globale, il peut être faible, et même nul, dans les isolements de selles négatives par la méthode globale. Il en résulte que le nombre de selles fraîches normales dans lesquelles on trouve, par cette méthode, des colonies actives s'élève à 70 p. 100. Quant aux 30 p. 100 des selles restant négatives, elles deviennent positives à leur tour, tant par la méthode globale que par la méthode quantitative après isolement entre double couche de gélose, si on laisse séjourner 24 h. à 37° l'émulsion homogène qui avait été faite des matières fécales dans 10 vol. d'eau peptonée. Il en résulte que pratiquement toutes les selles normales contiennent donc des *B. coli* actifs mais en proportion très variable d'un individu à l'autre.

Après avoir ainsi recherché la fréquence des *B. coli* actifs en examinant un échantillon de matières fécales de nombreux individus normaux différents, nous avons ensuite, au contraire, concentré nos recherches sur les selles quotidiennes de 2 individus seulement, donnant des résultats, l'un positifs et l'autre négatifs par la méthode globale. Il en résulte que chez ce dernier, le nombre des colonies actives est resté de façon permanente très faible dans les selles fraîches ; bien entendu, ce nombre devenait élevé dans la suspension des matières fécales en eau peptonée après 24 heures de séjour à l'étuve. Quant au premier, le nombre des colonies actives est resté toujours élevé de l'ordre de 100 p. 100, sauf pendant quelques jours où le sujet a été atteint d'entérite et où la technique globale est alors devenue négative et corrélativement le nombre des colonies actives a considérablement diminué.

Il semble donc que la proportion des colonies actives dans l'intestin des individus normaux bien que restant relativement constante est susceptible de varier considérablement selon l'état du tube digestif. Ceci est une indication en faveur d'une recherche systématique des coli actifs dans les états pathologiques.

Une autre recherche, également en cours, concerne le peuplement en coli actifs des matières fécales chez le nouveau-né. Déjà, nous avons constaté leur apparition dans les selles de deux enfants à partir du deuxième jour de leur existence.

(Institut de Bactériologie de l'Université et de la Province de Liège.)

LA PLURALITÉ DES COLICINES ET LEUR SENSIBILITÉ VARIABLE
A LA TRYPSINE ET AUX PROTÉASES MICROBIENNES,

PAR ANDRÉ GRATIA ET M^{me} BETZ-BAREAU.

Dans la conférence qu'il fit récemment au 7^e congrès de chimie biologique (1), Florey a rapporté la purification, réalisée avec Heatley,

(1) H. W. Florey. 7^e Congrès de Chim. biol., 4 octobre 1946.

d'une colicine correspondant au « principe V », autrefois décrit par l'un de nous (2). Cette colicine purifiée manifestant malheureusement une sensibilité extrême à la trypsine, nous avons fait une recherche systématique de la sensibilité à la trypsine et aux protéases microbiennes des colicines sécrétées par les 51 souches qui sont actives contre le paratyphique B, parmi les quelque 200 souches de *B. coli* antibiotiques de notre collection (3, 4).

A cette fin, on enseme des boîtes de Petri contenant de l'eau peptone gélosée, chacune à l'aide de 8 souches différentes de coli actifs, en déposant avec un fil de platine une gouttelette de chaque culture. Ces ensemencements punctiformes sont disposés 4 par 4 sur 2 lignes, parallèles à un diamètre de la boîte et séparées l'une de l'autre par une zone intermédiaire de 3 cm. Après 48 h. de culture à 37°, on répand sur cette zone quelques gouttes de trypsine Poulenc à 1 p. 1.000 qu'on laisse agir pendant 1 h. à 37°. Puis on stérilise la boîte en l'exposant pendant 2 h. aux vapeurs de chloroforme ; on l'ensemence ensuite par immersion uniforme à l'aide d'un disque de papier filtre imbibé d'une culture sensible, de paratyphique B en l'occurrence. Le lendemain, la lecture du résultat montre que chaque colonie active est entourée d'une plage vierge qui, du côté extérieur des lignes d'ensemencement, est régulièrement circulaire et représente l'activité normale de la souche, tandis que, du côté intérieur, là où la trypsine a été déposée, elle sera, ou bien en tous points semblable au côté extérieur témoin, ou bien réduite à un croissant plus ou moins large, ou enfin complètement effacée, selon que la colicine produite par la souche aura été, soit totalement résistante, soit partiellement, soit totalement détruite par la trypsine.

Des 51 souches ainsi soumises à l'expérience, 10 produisent des colicines totalement détruites par la trypsine. Parmi elles se trouvent la souche de coli V de Gratia et la souche de coli CF de Florey ; 13 produisent des colicines partiellement détruites, l'étendue, très variable d'ailleurs, de la destruction se mesurant par la réduction plus ou moins grande du diamètre de la plage vierge, côté trypsiné, par rapport au côté non trypsiné ; 28, enfin, produisent des colicines totalement résistantes, le diamètre de la plage vierge restant le même des 2 côtés.

Etant donné que parmi ces souches actives, un certain nombre agissent sur plusieurs microbes différents, il nous a paru essentiel de rechercher si la trypsine influençait de façon égale les activités d'une souche à l'égard de tous les microbes sensibles ou bien si elle faisait, au contraire, une discrimination entre les diverses activités. Pour cette recherche, nous avons choisi 35 souches actives à la fois sur le para B, sur le coli φ et sur le dysentérique Sonne. Le résultat est résumé dans le tableau ci-dessous :

- (2) A. Gratia. *C. R. Soc. Biol.*, 1925, t. 93, p. 138. *Ann. Inst. Pasteur*, 1932, t. 48, p. 413.
 (3) A. Gratia et P. Fredericq. *C. R. Soc. Biol.*, 1946, t. 140, p. 1032 ; 7^e Congrès de Chim. biol., 4 octobre 1946.
 (4) P. Fredericq. *C. R. Soc. Biol.*, 1946, t. 140, pp. 1033, 1055 et 1057.
 5^e Assemblée annuelle Soc. Suisse Microbiol. Bâle, 22 juin 1946 ; 7^e Congrès de Chim. biol., 4 oct. 1946.

	para B	dys. Sonne	coli	total
Colicines totalement détruites ...	5	6	5	16
Colicines partiellement détruites	6	22	26	54
Colicines totalement résistantes ...	24	7	4	35
Total	35	35	35	

Il résulte que les activités diverses des souches qui sont actives sur plusieurs microbes sensibles, sont différemment influencées par la trypsine et sont donc vraisemblablement dues, tout au moins dans certains cas, à des substances spécifiquement distinctes. En effet, le nombre d'activités partiellement détruites par la trypsine est supérieur au nombre des souches actives (54 au lieu de 35), d'autre part, tandis que les activités contre le coli φ sont presque toutes atteintes, sauf pour 4 souches, celles pour le para B sont respectées dans la grande majorité des souches (24 sur 35). Il semble donc bien que les colicines actives contre le para B seraient généralement différentes de celles qui sont actives sur le coli φ , et offriraient à la trypsine une résistance beaucoup plus grande. Notons aussi que, parmi les souches dont les colicines résistent totalement à la trypsine, les 7 souches dont l'activité sur le dysentérique Sonne est respectée et les 4 souches dont l'activité sur le coli φ est intacte sont des souches différentes, mais le total de ces 11 souches est compris dans les 24 souches dont les colicines actives sur le para B sont résistantes. Signalons enfin qu'une souche (coli 88), dont l'activité sur le para B est totalement détruite, conserve, par contre, intacte l'activité sur le dysentérique Sonne. Tous ces faits confirment l'extrême diversité des colicines.

Y a-t-il parallélisme entre l'action de la trypsine et celle des anti-colicines produites par des microbes antagonistes (5)? Nous avons étudié l'action antagoniste d'une souche de *B. protéus* et de 5 souches de Bacilles Gram positifs sporulés, parmi nos 51 souches de *B. coli* actifs sur le para B. La technique employée est la même que celle décrite ci-dessus pour la trypsine, sauf que, dans ce cas, sitôt après avoir commencé les 2 rangées parallèles de coli actifs, onensemence le microbe antagoniste entre les 2 rangées sous forme d'une strie qui suit le diamètre de la boîte à égale distance entre les 2 rangées de coli. De la sorte, les colicines d'une part, les protéases du bacille antagoniste d'autre part, diffusent à la rencontre les unes des autres et se mélangent dans la zone intermédiaire. Il en résulte que, des 51 souches de *B. coli* actives contre le para B, la grande majorité, soit 46 souches, voient leurs colicines détruites par les anti-colicines des 6 bacilles antagonistes essayés, 5 seulement produisent des colicines spécifiquement résistantes à l'action de certains bacilles antagonistes, tout en étant sensibles à d'autres, aucune ne sécrète de colicine résistant à la fois à tous les antagonistes.

La sensibilité aux protéases microbiennes est donc incomparablement plus grande; sans doute, les expériences faites avec les protéases microbiennes, bien que qualitativement semblables à celles faites avec la trypsine, sont quantitativement plus sévères, tant pour la durée plus

longue de l'action que par la concentration plus grande des agents antagonistes. Il conviendrait d'établir pour la trypsine et pour chacun des agents antagonistes des courbes de leur action en fonction de leur concentration relative.

(Laboratoire de Bactériologie de l'Université et de la Province de Liège,
M. A. Gratia.)

(5) A. Gratia et P. Fredericq. 7^e Congrès de Chimie biologique, 4 octobre 1946.