

L'activité antibiotique du type « actinomycétine » chez les *Streptomyces*,

par LUCIA BERGAMINI, JEAN-MARIE GHUYSEN et MAURICE WELSCH.

En conclusion de l'examen de plusieurs centaines de souches d'Actinomycètes, l'un de nous pouvait écrire, il y a quelques années : « les diverses propriétés antimicrobiennes, bactériolytiques et bactériostatiques, directes ou indirectes, sont fréquemment associées chez les Actinomycètes où elles constituent un tout : l'activité antibiotique du type de l'Actinomycète » (1).

Depuis lors, l'étude approfondie de la souche type, *Streptomyces albus* G, et de son actinomycétine (2), a montré que celle-ci renferme, en réalité, plusieurs principes actifs distincts : agents colilytiques et staphylolytiques (1, 3), streptolytiques (4) et pneumolytiques (5) ; protéases dissolvant la caséine (4) ou la kératine ; mucinase. Par contre, les essais effectués pour y mettre en évidence des nucléases sont restés entièrement négatifs (6).

Nous avons recherché la présence de ces diverses activités dans les filtrats de culture d'une centaine de *Streptomyces*, la plupart antérieurement isolés du sol, ou d'autres substrats naturels par l'un de nous (1), et l'existence d'une éventuelle corrélation entre certaines d'entre elles.

Techniques. — Les divers Actinomycètes ont été ensemencés, à partir de conidies développées sur gélose lactosée à l'extrait de champignon, dans le milieu décrit par Ghuysen (7). Ces cultures, effectuées en flacons d'Erlenmeyer d'un litre de capacité, renfermant 250 ml de milieu nutritif, ont été maintenues en agitation (1), à 28°, pendant 3 jours. Les liquides limpides et pratiquement stériles, obtenus après centrifugation, constituent les diverses « actinomycétines » examinées.

Dans toutes les recherches d'activité bactériolytique, l'actinomycétine étudiée, portée à 37°, est ajoutée à raison de 10 p. cent, en volume, à une suspension microbienne en eau distillée, également amenée, au préalable, à la température de 37°. Les progrès de la lyse, après un temps arbitrairement choisi, sont mesurés au néphélomètre de Pulfrich (1).

L'activité colilytique (lyse d'*Escherichia coli* chauffée) n'a pas été recherchée, car des travaux antérieurs ont établi qu'en milieu adéquat elle pouvait être décelée chez 90 p. cent des souches environ.

(1) M. Welsch, *Rev. belge Pathol. Méd. exp.*, 1947, t. 18, suppl. 2.

(2) M. Welsch, *C. R. Soc. Biol.*, 1937, t. 126, p. 244.

(3) J. M. Ghuysen, *C. R. Soc. Biol.*, 1952, t. 146, p. 1268, 1812 ; *Arch. intern. Physiol.*, 1953, t. 61, p. 259 ; J. M. Ghuysen et M. Welsch, 5^e Congr. intern. Microbiol., Rome, 1953, Rés. comm., t. 2, p. 174.

(4) M. Welsch et J. M. Ghuysen, *C. R. Soc. Biol.*, 1953, t. 147, p. 1659.

(5) J. M. Ghuysen, *C. R. Soc. Biol.*, 1954, t. 148, p. 729.

(6) M. Welsch, *C. R. Soc. Biol.*, 1948, t. 142, p. 1589.

(7) J. M. Ghuysen, *C. R. Soc. Biol.*, 1953, t. 147, p. 1502.

Les activités staphylolytique et streptolytique ont été examinées et les résultats obtenus récemment rapportés ici même (8). Pour la staphylolyse, les filtrats sont considérés comme inactifs (I) s'ils ne provoquent qu'une réduction de trouble inférieure à 10 p. cent en 4 heures, modérément actifs (II) lorsque la clarification atteint de 11 à 25 p. cent, actifs (III) si elle s'élève entre 26 et 50 p. cent, très actifs (IV) lorsque cette valeur est dépassée. Pour la streptolyse, les indications correspondantes, mais valables pour une heure d'incubation seulement, sont : I : moins de 15, II : 16 à 40, III : 41 à 70 et IV : plus de 70 p. cent.

Les activités pneumolytiques ont été recherchées en prenant comme substrat le pneumocoque utilisé par Ghuysen (8) pour étudier l'actinomycétine de *S. albus* G. Trois classes d'activité seulement ont été établies, d'après la réduction de trouble observée après deux heures d'incubation : I : inférieure à 20, II : 21 à 50 et III : plus de 50 p. cent.

L'activité protéolytique exercée sur la caséine a été mesurée en ajoutant 30 p. cent d'actinomycétine, en volume, à une solution aqueuse de caséine à 0,6 p. cent, neutralisée, les deux réactifs étant préalablement portés à 37°. Après 5 minutes de séjour à cette température, un aliquot du mélange est précipité par addition de 9 volumes d'acide trichloracétique à 1 p. cent et le trouble résultant est lu au néphélomètre après repos de 30 minutes à la température du laboratoire. Selon que la réduction du trouble, par rapport à celui d'un échantillon témoin sans actinomycétine, est inférieure à 5, comprise entre 5 et 20, 21 et 40, ou supérieure à 40 p. cent, le filtrat est rangé dans les classes I, II, III ou IV.

L'activité protéolytique sur la kératine a été mesurée en ajoutant 20 p. cent d'actinomycétine, en volume, à une suspension de kératine préparée selon H. P. Lundgren et collaborateurs (9), que nous devons à l'obligeance de M. G. Léger. Le classement des filtrats a été réalisé selon les mêmes critères que pour l'activité caséinolytique, en mesurant directement au néphélomètre la réduction de trouble obtenue après 90 minutes de séjour à 37°.

L'activité mucinasiqne a été déterminée en mesurant, selon les techniques décrites par Bergamini (10), la réduction de viscosité d'une solution de mucine sous-maxillaire de Bœuf, après addition de 50 p. cent d'actinomycétine, en volume. Pour un certain nombre de souches, la dégradation de la mucine a été confirmée par l'apparition, 24 heures plus tard, d'acétyl-glucosamine (11). La classification est faite d'après la réduction de viscosité observée en 30 minutes, à 30°, I : inférieure à 20, II : entre 21 et 50, III : entre 51 et 80, IV : supérieure à 80 p. cent.

Résultats expérimentaux. — 1) Le tableau I montre comment les diverses propriétés recherchées se distribuent chez les 100 Actinomycètes étudiés. Les activités les plus fréquemment observées sont

(8) M. Welsch, *C. R. Soc. Biol.*, 1954, t. 148, p. 604.

(9) H. P. Lundgren, A. M. Stein, V. M. Koorn et R. A. O'Connell, *J. Phys. and Colloid Chem.*, 1948, t. 52, p. 180.

(10) L. Bergamini, *Boll. Soc. ital. Biol. sperim.*, 1951, t. 27, p. 565.

(11) W. T. J. Morgan et L. Elson, *Biochem. J.*, 1934, t. 28, p. 988.

le pouvoir de dégrader la kératine (85 p. cent). Les autres activités sont : 66 p. cent des cultures, elles s'exercent, avec un (73 p. cent) le streptocoque (73 p. cent).

Degré d'activité	Nombre de cultures	
	Staph.	Strept.
I	71	
II	11	
III	16	
IV	2	
Total.....	100	

Tableau I. — Distribution des activités dans les filtrats.

2) Le tableau II montre comment les associations enzymatiques étudiées se distribuent entre elles.

Bactériolyse de :				Nombre de cultures	
Staph.	Strep.	Pneum.		+	-
+	+	+	24	22	
+	+	0	1	1	
+	0	+	2	2	
0	+	+	21	19	
+	0	0	2	1	
0	+	0	2	2	
0	0	+	26	24	
0	0	0	22	18	
Total.....			100	89	

Tableau II. — Associations enzymatiques dans les filtrats.

3) Un premier quart des cultures ont été utilisées (24 p. cent). U

