

solées à partir de la croissance se-
l'aspect normal, qui renferment un
généralement des plages de lyse lors-

à un isolement, ces cultures donnent
on obtient des subcultures dépour-

es résistantes, obtenues par l'un ou
œuvre et totalement débarrassées de
nt, en fait, parfaitement résistantes
s, étalées sur gélose avec une quan-
ent, au contraire, un certain nom-
es et d'aspect trouble, bien moins
n obtiendrait avec la souche sensi-

mbissent aucune lyse décelable lors-
phage en milieu liquide. D'ailleurs,
la quantité de phage libre, loin
, progressivement.

s paraît être attribuable à un dé-

ées, qu'elle renferme ou non du
plages de lyse centrées par une
dans une culture sensible et que

onies qui se développent sur gé-
nable de *Streptomyces griseus* et
ltures » lysogènes, plus ou moins
toutefois pu identifier des « ger-
phage.

secondaires qui se développent en
sance primitive par l'actinophage.

actériophages sont aisément iso-
Bien qu'elles se comportent, en
s, il est souvent possible de met-
e d'éléments sensibles à l'actino-

un défaut de fixation du phage.

nie générale et médicale

R.P.A., Directeur M. Welsch).

elloye pour son aide bénévole effi-
ce travail.

Activité pneumolytique de l'actinomycétine.

Note de JEAN-MARIE GHUYSEN, présentée par MAURICE WELSCH.

On sait que l'actinomycétine, filtrat de culture actif de *Streptomyces albus*, souche G (1*), clarifie les suspensions de bactéries chauffées et les suspensions de divers germes gram-positifs vivants (2*). Ces deux types d'activité ont tout d'abord été attribués à deux agents distincts, que nous avons dénommés respectivement principe colilytique et principe staphylolytique (3*). Toutefois, dans la suite, nous avons démontré que la lyse de différentes espèces gram-positives vivantes n'est pas due à un seul et même agent. Il existe, en effet, un principe streptolytique, différent du principe staphylolytique (4*). Nous montrons, dans la présente note, que l'actinomycétine renferme encore un système pneumolytique complexe, distinct des autres agents bactériolytiques que l'on y a déjà reconnus.

Matériel et méthodes. — Le substrat soumis à la bactériolyse est fourni par un *Streptococcus pneumoniae* (pneumocoque), fraîchement isolé du liquide céphalo-rachidien d'un patient atteint de méningite. Le type sérologique de cette souche, qui, au moment de son isolement, était hautement virulente pour la Souris, n'a pas été déterminé. La bactérie est cultivée en infusion « cœur-cerveau » (Difco), les suspensions destinées à l'étude de la bactériolyse étant préparées en reprenant dans une quantité convenable de liquide approprié, les cellules centrifugées d'une culture de 24 heures à 37°.

Les progrès de la lyse par l'actinomycétine (éventuellement ceux de l'autolyse spontanée) sont mesurés, à 37°, au moyen du néphélomètre de Pulfrich (2*).

Notre étude a porté sur des germes stérilisés par un chauffage de 3 minutes à 100° et sur des germes non chauffés. Dans les deux cas, on a utilisé des suspensions bactériennes : 1) en eau distillée, 2) en tampon phosphaté de pH 8,2, favorable aux manifestations du principe colilytique (2*, 3*) en solution contenant des phosphates et du sulfate ammonique, de pH 6,8, favorable aux manifestations du principe staphylolytique (5*, 6*).

Trois préparations d'actinomycétine ont été étudiées : 1) une actinomycétine brute complète, concentrée par distillation *in vacuo* et précipitation au sulfate ammonique puis dialysée ; 2) une fraction A, séparée par adsorption sur sable lavé, élution et dialyse, renfermant

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

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

(3*) J. M. Ghuyesen, *C. R. Soc. Biol.*, 1952, t. 146, pp. 1268 et 1812 ; *Arch. intern. Physiol.*, 1953, t. 61, p. 259.

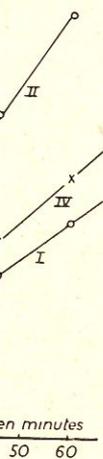
(4*) M. Welsch et J. M. Ghuyesen, *C. R. Soc. Biol.*, 1953, t. 147, p. 1659.

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

(6*) L'ion Mn a toutefois été supprimé de la solution originale, car il exerce un effet stimulant, indésirable ici, sur l'autolyse du pneumocoque.

ique (7*), ainsi qu'un enzyme adsorbable sur sable lavé, dé-sédiments (8*).

u distillée. L'actinomycétine es. En outre, leur action dé-nt, ce qui indique l'inter-a fraction A est totalement



en minutes
50 60

pneumocoque chauffé.

rouble mesuré au temps t).

(sec) : I : pH 6,8,
II : pH 8,2.
I : pH 6,8,
V : pH 8,2.

8,2. L'actinomycétine brute dans ces deux milieux. La 6,8, la fraction A, au pH

qu'une lyse de 50 p. cent des minutes, par 200 γ /ml pour le coque vivant et 4 γ /ml pour actionnement seront publiés

3. Discussion. L'actinomycétine brute renferme donc deux principes capables d'assurer la bactériolyse du pneumocoque chauffé. L'un adsorbable sur sable lavé, est plus actif dans la solution à pH 8,2 ; il accompagne les autres principes lytiques de l'actinomycétine et est peut-être identique à l'un d'entre eux, le principe colilytique par exemple. L'autre, non adsorbé, est plus actif dans la solution à pH 6,8 et n'est identifiable à aucun des agents lytiques précédemment décrits. Etant donné les propriétés des deux agents pneumolytiques, on comprend que l'actinomycétine brute présente une activité à peu près semblable aux pH 6,8 et 8,2.

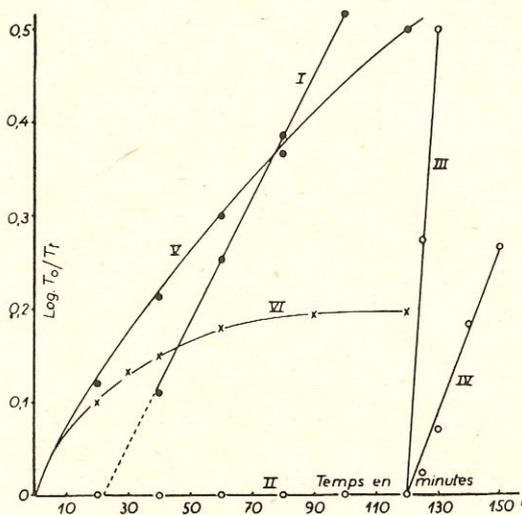


Fig. 2. — Cinétique de la lyse du pneumocoque non chauffé.

Même représentation que pour la fig. 1.

Courbes I et V : fraction B, 400 γ /ml ; I : eau distillée ; V : pH 6,8.

Courbes II et VI : fraction A, de 0,4 à 100 γ /ml : II : eau distillée ; VI : pH 6,8.

Courbes III et IV : fraction A, respectivement 12,5 et 0,4 γ /ml, incubation en eau distillée pendant 2 heures, puis addition de sels (pH 6,8).

B. — 1. Pneumocoques frais ; eau distillée. La dissolution des germes par l'actinomycétine brute ou par la fraction B (fig. 2, courbe I) débute après une période de latence de 20 à 30 minutes environ ; sa vitesse est fonction de la concentration d'actinomycétine utilisée. Par contre, la fraction A ne provoque aucune clarification dans les deux heures d'incubation (fig. 2, courbe II). Si, toutefois, à ce moment, on introduit des électrolytes dans la suspension, on assiste à une lyse extrêmement rapide, dont la vitesse dépend de la concentration d'actinomycétine mise en œuvre (fig. 2, courbes III et IV). La fraction A exerce donc, en fait, une certaine action sur le pneumocoque vivant, en eau distillée, mais celle-ci ne se traduit par une clarification qu'en présence d'électrolytes, phénomène qui rappelle les observations fai-

tes par Nakamura (9*) à propos du lysozyme. Notons que la fraction A ne donne pas ce phénomène avec les pneumocoques chauffés.

2. *Pneumocoques frais* ; pH : 6,8. Dans ces conditions, la suspension microbienne subit une autolyse progressive (50 p. cent de lyse en 3 heures) qui doit être mesurée et dont il faut tenir compte pour apprécier les effets propres à l'actinomycétine. Celle-ci provoque une lyse immédiate, non précédée d'une phase de latence. L'actinomycétine brute est nettement plus active ici qu'en eau distillée, mais c'est l'inverse pour la fraction B, à la condition, toutefois, de négliger la phase de latence existant en eau distillée (fig. II, courbe V). Quant à la clarification produite par la fraction A, elle n'est que légèrement supérieure à celle qui résulte de la simple autolyse et son effet est indépendant de sa concentration (fig. 2, courbe VI).

3. *Pneumocoques frais* ; pH : 8,2. Dans ces conditions, l'autolyse est tellement rapide (50 p. cent de lyse en 40 minutes) que les effets propres de l'actinomycétine ne peuvent être décelés.

4. *Discussion.* L'actinomycétine renferme donc deux principes susceptibles d'intervenir dans la lyse du pneumocoque non chauffé. L'un, adsorbable sur sable lavé, favorise son autolyse dans la solution de pH 6,8. Il provoque, en eau distillée, des modifications importantes de la cellule qui se traduisent par sa lyse très rapide dès que l'on ajoute des électrolytes. Ses caractères en font plutôt un inducteur d'autolyse et ne permettent donc guère de l'identifier au principe dissolvant les pneumocoques chauffés qui l'accompagne dans la fraction A. Par contre, il n'est pas exclu qu'il représente tout ou partie du principe staphylolytique.

L'autre, non adsorbé, ne peut être identifié à aucun des principes lytiques antérieurement décrits. Il assure la dissolution des pneumocoques non chauffés en eau distillée. Est-il identique au principe dissolvant les pneumocoques chauffés qui l'accompagne dans la fraction B ? La division de celle-ci en deux fractions, par extraction sélective (8*), au moyen de solutions ammoniacales de diverses concentrations, montre qu'elle renferme au moins deux agents pneumolytiques distincts. L'un (10*) assure la dissolution du pneumocoque non chauffé, en eau distillée, et celle du pneumocoque chauffé, en solution de pH 6,8. L'autre agit exclusivement sur le pneumocoque non chauffé, en eau distillée.

Conclusions. — L'actinomycétine renferme au moins quatre agents distincts, susceptibles d'intervenir dans la lyse des pneumocoques, chauffés ou vivants. Deux d'entre eux sont peut-être identiques à des agents lytiques antérieurement individualisés par leur action sur d'autres substrats. Les deux autres, spécifiquement pneumolytiques, en sont certainement distincts.

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

(9*) O. Nakamura, *Zeitsch. f. Immunitätsf.*, 1923, t. 38, p. 425.

(10*) La mucinase que M^{lle} Bergamini a décelée dans l'actinomycétine brute, se retrouve dans cette fraction. Nous ignorons encore si elle fait partie ou non du système pneumolytique.

L'activité antibio che

par LUCIA BERGAMINI, J

En conclusion de l'examen des Actinomycètes, l'un de nous a étudié les diverses propriétés physiologiques, directes ou indirectes, des Actinomycètes où elles se manifestent du type de l'Actinomycète

Depuis lors, l'étude approfondie de *Actinomyces albus* G. et de son activité enzymatique, en réalité, plusieurs enzymes ont été isolées : une amylolytique et staphylolytique (5) ; protéases dissolvantes (6) ; nase. Par contre, les enzymes nucléases sont restées entières.

Nous avons recherché les principes actifs dans les filtrats de culture d'une souche purement isolée du sol, ou dans les filtrats (1), et l'existence d'une activité enzymatique.

Techniques. — Les divers types de conidies développées dans le milieu de culture, dans les flacons d'Erlenmeyer de 250 ml, dans un milieu nutritif, ont été cultivés pendant 3 jours. Les liquides linéaires obtenus par centrifugation, constituent le matériel de recherche.

Dans toutes les recherches effectuées, portée à 37° C, dans une suspension microbienne préalable, à la température ambiante, pendant un temps arbitrairement choisi (1).

L'activité colilytique a été recherchée, car de l'existence de celle-ci on pouvait être sûr.

- (1) M. Welsch, *Rev. bel. Biol.*, 1953, t. 1, p. 1.
- (2) M. Welsch, *C. R. Soc. Biol. Paris*, 1953, t. 2, p. 1.
- (3) J. M. Ghuyssen, *C. R. Soc. Biol. Paris*, 1953, t. 2, p. 2.
- (4) M. Welsch et J. M. Ghuyssen, *Microbiol.*, Rome, 1953, R. 1, p. 1.
- (5) J. M. Ghuyssen, *C. R. Soc. Biol. Paris*, 1953, t. 2, p. 1.
- (6) M. Welsch, *C. R. Soc. Biol. Paris*, 1953, t. 2, p. 1.
- (7) J. M. Ghuyssen, *C. R. Soc. Biol. Paris*, 1953, t. 2, p. 1.

BIOLOGIE. COMPTES RENDUS