

Pouvoir bactériolytique de certaines préparations de lauryl-sulfate

Autor(en): **Lhoest, Th. / Bolle, A. / Stein, E.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Archives des sciences [1948-1980]**

Band (Jahr): **7 (1954)**

Heft 6

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-738947>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

- a) E_Q excès de couleur déterminé à partir de la grandeur Q de la photométrie en trois couleurs;
- b) $E_{sp.}$ excès de couleur déterminé à partir de la classification spectrale de Yerkes.

Les étoiles classées dans le système de Yerkes sont résumées dans le tableau 16 de [2].

L'accord fréquent entre E_D et E_Q peut être considéré comme satisfaisant, sachant que Q est moins bien défini physiquement que D .

BIBLIOGRAPHIE

1. M. GOLAY. *Archives des Sciences*, vol. 7, fasc. 6, 1954.
2. H. L. JOHNSON et W. W. MORGAN. *Ap. j.*, vol. 117, n° 3, p. 313, 1953.
3. J. BERGER. *Contributions de l'Institut d'Astrophysique*, Paris, série A, n° 127.

Th. Lhoest, A. Bolle, E. Stein et F. Chodat. — *Pouvoir bactériolytique de certaines préparations de lauryl-sulfate.*

Les résultats que nous présentons sont détachés d'un ensemble de recherches faites aux Laboratoires de Pharmacognosie et de Pharmacie galénique de l'Université de Genève (Professeur A. Mirimanoff) sur l'interférence de l'écran protidique dans la réaction mouillant anionique-micro-organisme.

Certaines préparations de lauryl-sulfate, le Duponol C en particulier, ont montré un pouvoir bactériolytique intense. Nous consignons ici ce phénomène et proposons une explication de son mécanisme.

Partie expérimentale.

L'*agent lytique* est un mélange où prédomine le lauryl-sulfate de sodium. La préparation industrielle de ce mouillant ne permet pas encore d'éliminer des impuretés dont la nature et la proportion ne sont pas fixées. A chaque produit commercial correspond donc une composition particulière. Cette inconstance se traduit par l'inégalité du pouvoir lytique des

diverses préparations: une quadruple dose de lauryl-sulfate de Siegfried ne montre par l'effet produit par le Duponol C. La cause de cette inefficacité — rôle inhibiteur d'une impureté, par exemple — nous échappe encore !

Les *conditions de nos expériences* sont les suivantes:

Milieux de culture liquides: bouillon de viande Difco (pH initial 6,8) et solution nutritive synthétique de Friedlein en tubes à essais, avec ou sans aération.

Trois germes Gram négatif, le *E. coli* B sauvage, le *Proteus* 4 que nous a remis le Dr V. Bonifas, le *Pseudomonas fluorescens* et deux germes Gram positif, *Staphylococcus aureus* Oxford, *B. subtilis* souche Caron, furent éprouvés.

Le Duponol C ou une autre préparation de lauryl-sulfate fut employé aux concentrations finales de: 2 ‰, 1 ‰ (surtout) et à des concentrations inférieures allant jusqu'à 1/5.000. L'adjonction du mouillant ne modifie pas sensiblement le pH du milieu de culture: Difco témoin: pH 6,8, Difco + 1 ‰ de Dup. C: pH 6,8 Difco + 2 ‰ de Dup. C: pH 6,9.

Le moment où intervient un agent est une question capitale en bactériologie. Parfois nous avons ajouté le mouillant avant l'inoculation; cette technique, utile à certains égards, présente cependant de sérieux inconvénients: l'agent exerce son action durant des périodes très différentes du développement de la population microbienne, la phase de latence et celle de multiplication ! D'autres fois, les additions de mouillant furent faites après 3 heures, 6 heures, etc., de culture. Beaucoup plus simples à comprendre sont ces adjonctions précoces ou tardives qui surprennent la population bactérienne à un moment bien précis de son développement.

L'inhibition et l'arrêt de la croissance, ainsi que la clarification des troubles dus aux suspensions de bactéries (bactériolyse), ont été mesurés au moyen du néphélomètre de Pulfrich.

Résultats.

Le graphique n° 1 figure (valeurs turbidimétriques) les événements que nous avons plusieurs fois observés lorsqu'une culture de *E. coli* B sauvage se développe au contact du mouil-

lant (Duponol C) ou entre en contact avec le mouillant à un moment précis de sa croissance.

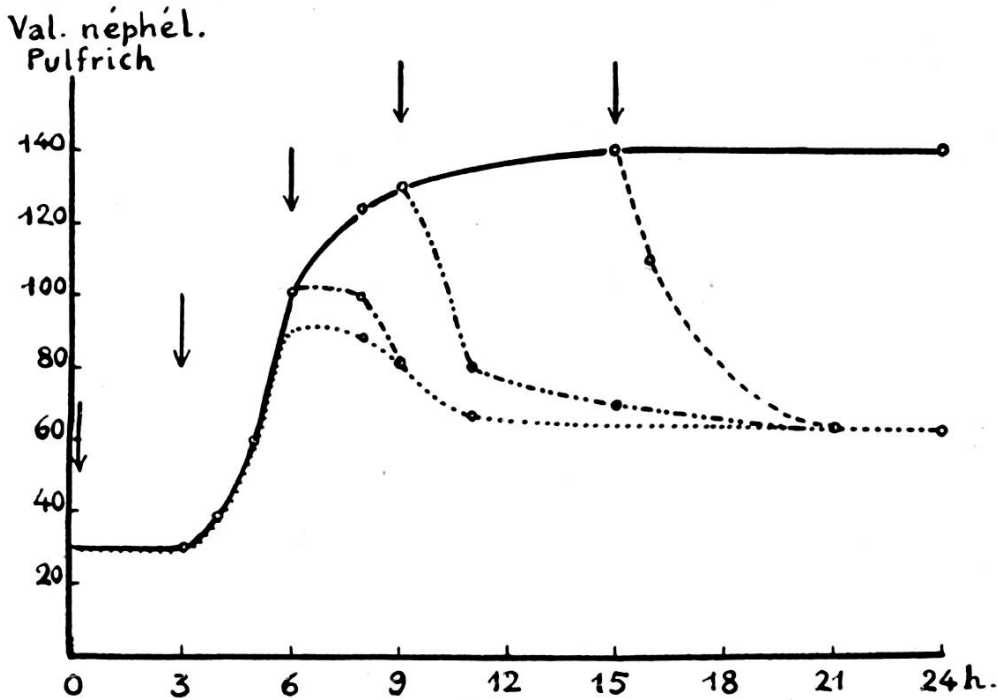


Fig. 1.

Valeurs successives néphélométriques présentées par une culture de *E. coli* B sauvage traitée par le Duponol C à la concentration finale de 1‰. Milieu de culture: Difco liquide non aéré, ni agité. Trait plein: témoin. Traits pointillés: expériences. La flèche indique le moment auquel s'effectue l'addition du mouillant. Pour les deux premières additions, 0 h et 3 h (phase de latence), les courbes coïncident; nous n'en avons donc tracé qu'une. Filtre intercalé dans le néphélomètre de Pulfrich: L.2,38,

Action du Duponol C à 1‰ sur E. coli B sauvage (fig. 1).

Mouillant ajouté avant l'inoculation ou durant la période de latence, soit 3 heures après l'inoculation:

Dans les deux cas les résultats sont les mêmes: jusqu'à la 5^e heure de culture, la croissance est, au point de vue du trouble, comparable à celle du témoin. A partir de ce moment, la courbe expérimentale s'écarte progressivement de celle du témoin, forme un plateau entre la 6^e et la 8^e heure, puis redescend (clarification partielle) jusqu'à un palier constant. Un trouble résiduel appréciable persiste.

Mouillant ajouté après la période de latence, soit aux heures suivantes:

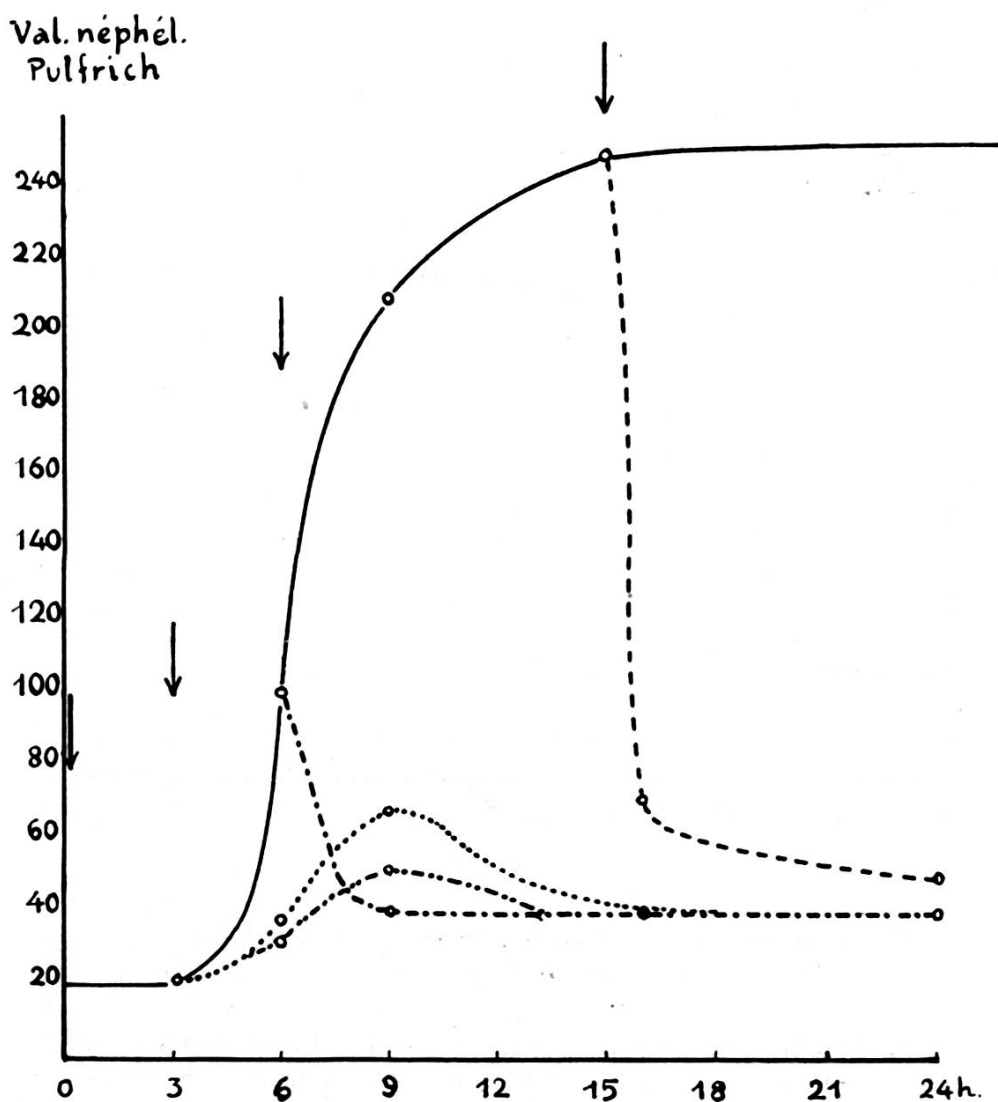


Fig. 2.

Mêmes systèmes expérimentaux, mais concentration finale du Duponol C: 2⁰/₀₀. Les tubes à essais, dont les valeurs turbidimétriques sont consignées dans le graphique 2, ont été agités avant la lecture, ce qui n'est pas le cas pour les tubes dont les valeurs sont inscrites dans le graphique 1.

6^e heure. La croissance est brusquement interrompue, ce qui se traduit par un plateau de la courbe entre la 6^e et la 8^e heure; la clarification partielle surgit alors et à la 9^e heure la courbe rejoint celle des expériences de 0 et 3 heures. Le trouble résiduel persistant a la même importance que celui des expériences précédentes.

9^e heure. L'addition du mouillant détermine d'emblée une clarification très efficace jusqu'à la 11^e heure, puis ralentie

ensuite. A la 21^e heure, le palier correspondant au trouble résiduel des expériences antérieures est atteint.

15^e heure. Même processus qu'à la 9^e heure, mais plus accentué.

*Mêmes expériences, mais avec la concentration 2 ‰
de Duponol C.*

Remarque: Dans cette figure 2, la croissance du témoin semble plus importante que dans les expériences précédentes. Cette illusion vient du fait que les flacons de ces essais ont été agités avant la mesure turbidimétrique.

A la concentration 2 ‰, le retard de croissance se marque dès le début de la phase de multiplication, tant pour une addition faite avant l'inoculation que pour une addition faite à la fin de la phase de latence. Les courbes figurant les processus déroulés dans ces deux conditions ne sont plus superposables comme c'était le cas pour la concentration 1 ‰. En doublant la concentration du mouillant on se borne, au point de vue turbidimétrique, à accentuer les phénomènes décrits plus haut. La clarification, en particulier, laisse un trouble résiduel de moindre importance.

La sensibilité d'*E. coli* B sauvage au Duponol C est encore plus grande lorsque la bactérie est cultivée en milieu synthétique aéré de Friedlein. Une culture de 15 heures, chargée à ce moment de Duponol C 2 ‰ retrouve en 15 minutes presque sa limpidité initiale. Un éclaircissement peut encore être obtenu à la concentration de 1/5.000 !

Une suspension d'*E. coli* B sauvage dans une solution de liquide de Ringer se clarifie rapidement sous l'influence du Duponol C. L'addition de bouillon de viande à de tels systèmes ralentit considérablement la lyse par le mouillant.

Viscosité du trouble résiduel.

Au fur et à mesure que progresse la bactériolyse (*E. coli*) sous l'influence du Duponol C, la viscosité du liquide de culture augmente. Des glaires peu sédimentables apparaissent alors dans le bouillon de culture. Examinées au microscope et au microscope électronique, ces matières sont constituées de

déchets microbiens et de bactéries épargnées par la lyse. Les glaires résultent de la transformation d'une partie du trouble résiduel. Lorsqu'une lyse restreinte est réalisée par le Duponol C sur des germes autoclavés (*E. coli*), ni l'augmentation de viscosité, ni les glaires ne surgissent. Ces derniers faits prouvent la part jouée par l'autolyse enzymatique dans le processus de bactériolyse déclenché par le mouillant anionique.

Croissance postlytique.

Environ 24 heures après la clarification, les tubes de culture se troublent de nouveau. La lyse épargne toujours un certain nombre de germes, normalement colorables et responsables des multiplications ultérieures. Cette sélection temporaire n'isole pas des cellules dotées d'une sensibilité à la fois moindre au mouillant et transmissible aux « générations » suivantes. Des expériences ont en effet montré que des bactéries (*E. coli*) issues de la repousse (microbes multipliés postérieurement à la lyse au Duponol C) et replacées dans les conditions décrites de l'expérience de lyse, ont conservé leur sensibilité initiale à l'égard du mouillant. Des estimations de survie¹, consécutive à un traitement au lauryl-sulfate Fluka opéré sur une culture Difco aérée de 2 heures 30 minutes d'âge, évaluent le nombre de germes épargnés, nombre variable en fonction de la concentration du mouillant:

| Survie après contact | Concentration: 0,4 ⁰ / ₀₀ | Concentration: 2 ⁰ / ₀₀ |
|-------------------------|--|--|
| de 15 minutes | 8% | 3 % |
| de 30 » | 10 | 3 |
| de 60 » | 25 | 5,5 |

L'addition de 1000 unités/cc de Pénicilline, faite simultanément à celle de Duponol C 1⁰/₀₀, empêche toute repousse sans pour cela augmenter la lyse. Les germes épargnés par le Duponol C sont décimés par la Pénicilline.

¹ Mesures dues à l'obligeance de M^{me} E. Kellenberger, du Centre de Microscopie électronique de l'Université de Genève.

En résumé et complément, on peut dire que la propension de *E. coli* B sauvage à la lyse par le Duponol C :

grandit avec la concentration du mouillant, est indépendante du pH initial du milieu entre les valeurs 6,1 et 7,4, est indépendante du degré d'aération du liquide de culture, est meilleure dans un bouillon usagé-filtré (où se sont développées antérieurement les mêmes bactéries) que dans un bouillon frais, est apparemment nulle pour des germes durant la phase de latence, est grande pour des germes appartenant à une culture âgée (9 à 15 heures) de même que pour des germes chauffés durant 15 minutes à 60°, persiste *pro parte* chez des germes autoclavés.

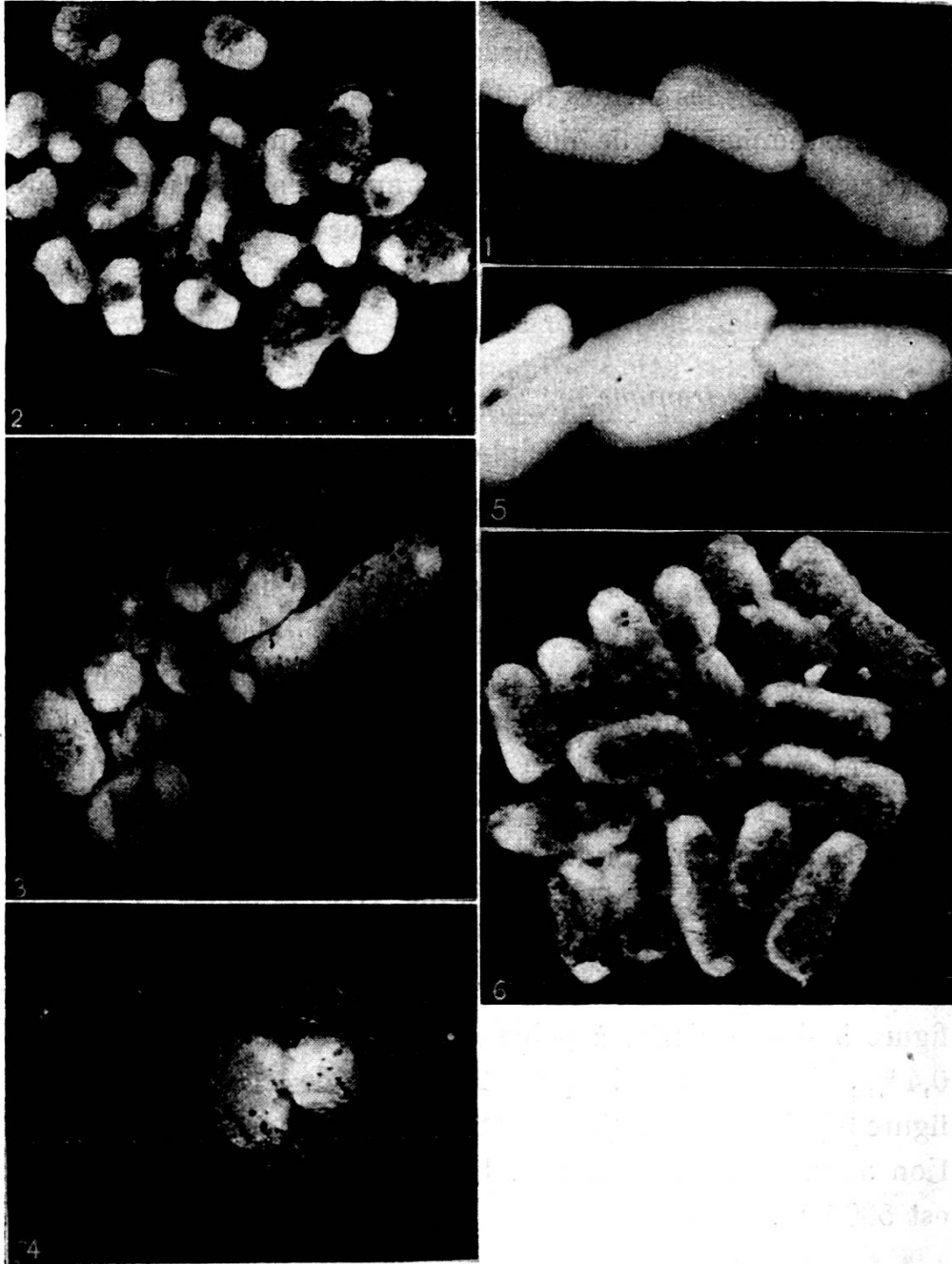
Microscopie électronique.

Les photographies de la planche 1, prises par les soins du Centre de Microscopie électronique de l'Université de Genève, à qui nous adressons nos remerciements, concernent *E. coli* B sauvage en voie de lyse sous l'influence du Duponol C et montrent des signes de dégradation cellulaire d'une rare intensité. Les figures 1 à 4 sont celles de germes de cultures non aérées, les figures 5 et 6 représentent des préparations de cultures aérées. Figure 1 = témoin. La figure 2 (1 heure de contact avec le mouillant à 2 ‰) indique une contraction cytoplasmique plasmolyforme. La figure 3 (2 heures et 2 ‰) révèle l'aspect criblé de la membrane. Dans la figure 4 (2 heures et 2 ‰) la dissolution de la membrane se manifeste et les déchets microbiens forment une flaque périphérique. La figure 5 signale l'effet à peine marqué d'une concentration de 0,4 ‰ de Duponol C après 2 heures de contact. Dans la figure 6 (2 heures et 2 ‰) le cytoplasme en voie de désorganisation accuse un aspect feutré. Le grossissement du microscope est 5000 ×.

Effet du Duponol C sur d'autres bactéries.

Gram négatif: Nous avons étendu à deux autres bactéries Gram négatif, soient un *Proteus* 4 et un *Pseudomonas fluorescens*, les traitements imposés à *E. coli* B sauvage. Ni pour l'un ni pour l'autre nous n'avons observé de retard illimité ou sim-

plement prolongé de la multiplication cellulaire. Le Duponol C n'exerce donc pas d'effet bactériostatique. Par contre, les deux germes sont lysés: légèrement dans le cas du *Pseudomonas*,



fortement dans celui du *Proteus* qui, à cet égard, révèle une sensibilité supérieure à celle de *E. coli* B sauvage. La lyse de ces deux nouveaux germes est également accompagnée d'une augmentation de viscosité du liquide de culture. La sensibilité

et les réactions du *Proteus*, germe éminemment curieux par son comportement génétique (races H, O et formes L) feront l'objet d'un rapport supplémentaire. En conclusion, nous ne pouvons pas souscrire à l'opinion généralement admise que les mouillants anioniques, plus exactement le Duponol C, est atoxique pour les bactéries Gram négatif.

Gram positifs: L'examen, dans les mêmes conditions, du comportement de deux bactéries Gram positif, un *Staphylococcus aureus* et un *B. subtilis* Caron, fournit de tout autres résultats: le Duponol C exerce une action bactériostatique nette, mais ne détermine aucune bactériolyse. Notre observation confirme ici des indications déjà classiques. Cette différence fondamentale entre les microbes Gram + et Gram —, soulignée par l'action du Duponol C, pose à nouveau le problème du mode d'intervention des mouillants anioniques dans l'économie cellulaire.

Discussion.

Le mécanisme par lequel un mouillant altère la vitalité cellulaire n'est pas encore compris malgré l'abondante documentation expérimentale acquise dans ce domaine. Une réponse unique à la question posée est peu probable: les molécules à propriétés tensio-actives sont diverses, la sensibilité aux mouillants varie avec le type de cellule et les signes de l'altération produite sont nombreux.

La description expérimentale qui précède marque les limites du terrain exploré par nous; les conclusions qui suivent sont valables pour l'ensemble ainsi défini. On peut souhaiter que le principe adopté pour interpréter les faits convienne encore à d'autres systèmes comparables.

Nous envisageons un mécanisme unique d'intervention du mouillant anionique au sein des structures et du métabolisme de la cellule. Nous préférons provisoirement cette hypothèse à celle qui attribue à une même molécule une propriété tensio-active et une propriété toxique. L'intervention du mouillant consiste en une dénaturation des protides, telle qu'elle a été décrite par les chimistes: une première réaction où interviennent

des affinités électro-statiques, puis une seconde correspondant à la formation d'un complexe protéine-mouillant. L'élément neuf de notre argumentation se ramène à tenir compte de deux types d'appareil protidique: le protide-enzyme et le protide-plastique, séparation peut-être discutable, mais utile à notre analyse. Dans la cellule la dénaturation se traduit par l'accaparement d'un protide, désormais soustrait au système enzymatique auquel il appartient, et, par le dégagement de protides de l'édifice plastique qu'ils constituaient. Le premier de ces dommages se répercute sur le métabolisme (toxicité), le second sur l'architecture colloïdale (perméabilité).

La force d'affinité d'un mouillant anionique pour un protide varie en fonction du pH régnant dans le milieu ou communiqué au milieu par la composition même du protide. D'autres causes peuvent encore déterminer des différences d'intensité dans l'affinité des deux éléments d'un couple: mouillant-protéine. Ces facteurs conditionnent, en partie, ce qu'on nomme globalement spécificités réactionnelles; nous les invoquons sans pouvoir encore en fournir la mesure *in vivo*.

Utilisons maintenant les propositions précédentes dans le cas des bactéries Gram (+) et Gram (—):

| | Protide-enzyme | Protide-plastique |
|--------------------|-----------------|-------------------|
| Gram (+) | 1. <i>i</i> | 2. I |
| Gram (—) | 3. <i>i'</i> | 4. I |

i, *i'* et I = intensités d'affinité.

Il suffit de reconnaître à certains protides-enzymes des bactéries Gram (+) une sensibilité au mouillant anionique considéré (exprimée par *i*) plus grande que celle des protides-enzymes correspondants des bactéries Gram (—) (valeur *i'*), pour établir une théorie satisfaisant les exigences des résultats expérimentaux.

En (1) une forte dénaturation des enzymes réduit le métabolisme, provoque en conséquence une bactériostasie marquée et fait avorter *ipso facto* les actes fermentatifs du catabolisme (autolyse).

En (3) une dénaturation moindre des enzymes épargne le métabolisme, en partie tout au moins, et laisse au catabolisme (autolyse) l'occasion de se dérouler.

Il n'est pas nécessaire de supposer des intensités d'affinité dans le couple mouillant-protide plastique, différentes chez les Gram (+) et les Gram (—) (valeur I). L'altération des protides-plastiques, qui s'institue au contact du mouillant, ne devient manifeste qu'avec le concours des enzymes protéolytiques ou, tout au moins, qu'en raison du flot des protides digérés qui filtre avec moins de peine à travers le réseau relâché de la trame colloïdale. Ajoutons à ce propos que le cortex de ribo-nucléate calcico-magnésien des bactéries Gram (+) oppose un important écran au passage vers l'extérieur des produits qui auraient pu se liquéfier à l'intérieur du germe. On sait par des travaux antérieurs que la « négativation » du Gram précède toujours l'autolyse microbienne.

Notre interprétation de la bactériolyse par le Duponol C fait appel au mécanisme de digestion endocellulaire dont l'activité est prématurément déclenchée chez les microbes Gram négatif. Cette autolyse anticipée n'est elle-même qu'une conséquence d'une perturbation de l'équilibre des systèmes compétitifs d'enzymes de la dégradation et d'enzymes de la synthèse. Le mouillant doit altérer ces derniers par le mécanisme sus-décrit pour que les diastases de l'autolyse manifestent si tôt et si fort leur activité naturelle.

Le rôle fermentatif joué par la cellule dans la lyse déclenchée par le mouillant nous est prouvé par les faits suivants: un chauffage de 15 minutes à 120° rend le *E. coli* B sauvage beaucoup moins susceptible d'être lysé par le Duponol C. L'altération définitive des enzymes autolytiques n'est toutefois pas obtenue par un simple autoclavage de la suspension microbienne.

Notre explication évite enfin l'emploi des notions de charges électriques respectives du mouillant et de la surface micro-

bienne, notions où la théorie et les données expérimentales se contredisent constamment.

*Laboratoire de Microbiologie et Fermentation
de l'Institut de Botanique générale et
Laboratoires de Pharmacognosie et de
Pharmacie galénique, Ecole de Pharmacie,
Genève.*

BIBLIOGRAPHIE

- P. MITCHELL. « The osmotic barrier in Bacteria. » *The Nature of bacterial surface*, Blackwell, Oxford, 1949.
- R. BERTHET. Thèse de doctorat, Université de Genève, n° 1132, 1949.
- H. P. LUNDGREN. *Advances in protein chemistry*, vol. 5, 1949, 317.
- F. W. PUTNAM. *Advances in protein chemistry*, vol. 4, 1948, 79.
- M. WELSCH et L. DECAMBE. *Bull. Soc. chim. biol.*, tome 33, 1951, 488.
- A. MIRIMANOFF. *Protoplasma*, vol. 42, 1953, 250.
-