

Diversité de la résistance aux isoniazides des germes contenus dans des souches de mycobactéries

Autor(en): **Hauduroy, P. / Wachsmuth, C.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie Suisse des Sciences Medicales = Bollettino dell' Accademia Svizzera delle Scienze Mediche**

Band (Jahr): **13 (1957)**

Heft 5-6

PDF erstellt am: **21.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-307347>

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.

Institut d'Hygiène et de Bactériologie – Lausanne
 Directeur: Prof. P. Hauduroy

Diversité de la résistance aux isoniazides des germes contenus dans des souches de mycobactéries

Par P. Hauduroy et C. Wachsmuth

La découverte des isoniazides et leur application dans la thérapeutique antituberculeuse a rapidement révélé, en bactériologie, des faits très importants.

Les mycobactéries pathogènes peuvent, en effet, acquérir une résistance à cette variété d'antibiotiques et son acquisition semble avoir des rapports, pour certains chercheurs, avec une diminution de leur pouvoir pathogène pour le cobaye et une perte de leur pouvoir catalasique.

Nous ne citerons pas ici tous les travaux publiés sur ces faits, nous contentant de rappeler les noms de *W. Steenken*, de *Steenken* et *Wolinsky* (1, 2), de *Middlebrook* et de *Cohn* (3, 4), qui ont apporté une première et importante contribution à ces recherches.

Mais, nous devons remarquer que dès les premières publications, quelques contradictions sont apparues dans les faits observés. *W. Steenken*, *Steenken* et *Wolinsky* (1, 2), s'ils trouvent dans certains cas une diminution ou une perte du pouvoir pathogène pour le cobaye en même temps qu'une augmentation de la résistance à l'INH, ne lient pas d'une façon absolue les deux faits et estiment même qu'il existe un manque de parallélisme entre eux.

Middlebrook, par contre, écrit: «Les mutants de plusieurs souches de bacilles tuberculeux virulents qui sont hautement résistants à l'activité antimicrobienne de l'isoniazide in vitro et dont le pouvoir pathogène est nettement atténué pour le cobaye dans certaines conditions expérimentales, ne manifestent plus d'activité catalasique in vitro en présence ou en l'absence d'isoniazide» (4).

Affirmation première qui paraît s'être légèrement modifiée à la lumière d'autres expériences. Il semble que *Middlebrook* et ses différents collaborateurs sont arrivés maintenant aux conclusions suivantes:

a) *B. tuberculeux*, sensible à l'INH + catalase positive = pouvoir pathogène normal pour le cobaye.

b) *B. tuberculeux*, résistant à l'INH + catalase *négative* = pouvoir pathogène très nettement diminué pour le cobaye.

c) *B. tuberculeux*, résistant à l'INH + catalase *positive* = pouvoir pathogène faiblement diminué pour le cobaye.

On peut donc conclure de ces travaux :

1. que le pouvoir pathogène est lié plus à l'activité catalasique qu'à la résistance à l'INH;

2. que l'activité catalasique n'est pas forcément liée à la résistance aux isoniazides.

Les résultats expérimentaux publiés pendant plusieurs années n'ont pas toujours abouti à des conclusions identiques.

Morse (5), *Karlson* (6), *Hirano* (7), *Mitchison* (13), *S. M. Stewart* (14), *Le Joubioux* (18), *Gernez-Rieux* (8), *Viallier* (9), *Vischer* (10), *Connalty et Gaffney* (11), *Peizer*, *Minkin et Widelock* (12), *Rist* (19) apportent des observations se rapprochant toutes les unes des autres par certains côtés, mais dans lesquelles de nombreuses exceptions sont parfois signalées.

Quelles peuvent être les raisons de ces exceptions et de ces apparentes contradictions ?

Steenken et *Wolinsky*, se basant sur des faits expérimentaux, pensent que « le phénomène de la perte de virulence pour le cobaye est lié à d'autres facteurs qui viennent s'ajouter au développement de la résistance à l'INH » sans cependant, ajoutent ces auteurs, « qu'on puisse exclure une relation entre les deux faits » (2). C'est là une première explication.

Mais, *Mitchison* (13), *S. M. Sheila* (14) en ont suggéré une autre. Ils se sont demandé s'il ne pouvait pas exister dans les souches étudiées à la fois des éléments sensibles et des éléments résistants.

Le microbiologiste se trouverait donc en présence de populations bactériennes mixtes, non homogènes. Et si l'on admet leur réalité, bien des contradictions et des exceptions signalées tout à l'heure s'expliqueraient.

Remarquons que cette notion de « mélange de germes » est d'une gravité extrême.

Elle déborde et de beaucoup les questions de sensibilité et de résistance aux antibiotiques. *Hauduroy*, *Hauduroy* et *Cevey* (15) ont été les premiers à en démontrer formellement et expérimentalement l'existence et à en signaler l'importance.

Les colonies bactériennes que nous manipulons ne comprennent-elles pas des milliards d'êtres ? Ils ont tous, bien entendu, la même morphologie et les mêmes réactions tinctoriales. Mais, si nous voulons y réfléchir un instant, ne serait-il pas étrange que tous ces éléments, pris individuellement, soient toujours et absolument semblables, qu'il existe

entre eux une ressemblance physiologique, biochimique telle qu'ils aient tous, sans exception, les mêmes réactions, les mêmes propriétés? Ne serait-il pas étrange que chacun d'eux soit en quelque sorte la réplique répétée jusqu'à l'infini d'un modèle unique? Que tous, enfin – et c'est le problème qui nous occupe ici – possèdent les mêmes qualités de sensibilités ou de résistance vis-à-vis d'un antibiotique déterminé?

Mais, ce n'est là que poser des questions, formuler une hypothèse dont seule une démonstration expérimentale permettra de prouver la réalité.

Bien d'autres ont tenté d'apporter les preuves nécessaires. Certains d'entre eux, admettant à priori comme réel le voisinage dans les cultures d'éléments sensibles et résistants vis-à-vis de l'INH, ont tenté de rendre celles-ci homogènes vis-à-vis d'une certaine dose d'antibiotique. Pour ce faire, ils les ont cultivés sur des milieux contenant des isoniazides en quantité suffisante pour faire «disparaître» toutes les cellules sensibles et conserver cependant les cellules résistantes pour un taux donné d'INH.

Cette technique paraît valable sous la réserve cependant d'une démonstration formelle de la destruction définitive des bactéries sensibles. Elle a, par contre, l'inconvénient – majeur à nos yeux – de ne pas conserver ces mêmes cellules (sensibles) et, de ce fait, de ne rien nous apprendre sur l'importance possible du caractère hétérogène des populations bactériennes.

Le procédé qui nous paraît le plus certain pour apporter une preuve de l'existence des mélanges de germes plus ou moins sensibles aux antibiotiques est l'isolement d'un certain nombre de cellules microbiennes prises une à une au hasard dans une colonie. Leur descendance constituera alors un clone au véritable sens du mot, clone dont nous pouvons étudier les qualités et les propriétés. Il est nécessaire, bien entendu, de séparer le plus grand nombre possible de cellules bactériennes afin d'avoir une image aussi exacte que possible de la «composition» de la culture étudiée.

Deux appareils permettent d'obtenir la séparation de cellules isolées.

Le premier est le micromanipulateur classique. Sa manipulation est longue et nécessite beaucoup de patience. Les résultats en sont excellents. Le docteur *Fust*, poursuivant des recherches semblables aux nôtres, l'a utilisé¹.

Le second appareil, d'une manipulation beaucoup plus simple, plus rapide et plus facile, est le «séparateur de germes» mis au point par l'un de nous (16, 17).

Je rappelle qu'il s'agit d'un appareil producteur d'aérosol pouvant disperser sur des milieux de cultures convenables des gouttelettes d'une émulsion bactérienne, gouttelettes dont un certain nombre contiennent

¹ Communication personnelle.

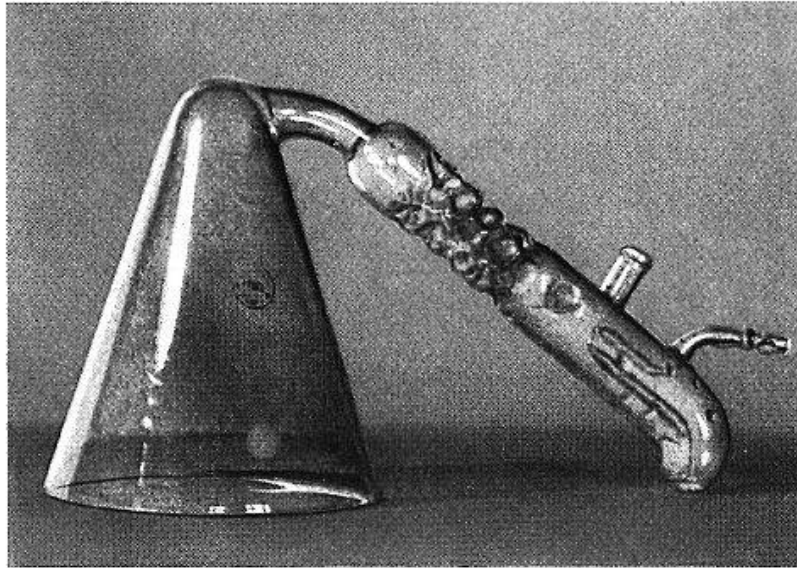


Fig. 1. Séparateur de germes. Il s'agit d'un appareil producteur d'aérosol muni d'un entonnoir.

un seul élément bactérien. En quelques instants, en effet, il est possible d'ensemencer autant de cellules isolées qu'on le désire: quelques unités, quelques dizaines, quelques centaines. C'est de cet appareil que nous nous sommes servis² (fig. 1, 2, 3).

Nous indiquerons d'abord les techniques que nous avons suivies et dirons ensuite les résultats obtenus.

Techniques

Souches microbiennes utilisées

Nous avons utilisé les souches suivantes: No. 628, isolée d'une expectoration en 1952; No. 441 souche H 37 Rv INH résistante désignée à la Mayo Fondation sous l'étiquette INHR-676; No. 576, isolée d'une expectoration en 1948; No. 97 319, isolée d'une expectoration en 1956; No. 590, isolée d'une expectoration en 1948.

Isolement des cellules uniques

Les émulsions microbiennes sont «passées» à travers le «séparateur de germes» et ensemencées sur des boîtes de Petri contenant du milieu de Löwenstein. On scelle soigneusement les boîtes qui sont placées à l'étuve à 37°. Les colonies isolées apparaissent après trente jours en moyenne, toujours avec un peu de retard sur les cultures nées d'un ensemencement normal, c'est-à-dire plus abondant.

Titration de la résistance

Une dizaine de colonies, nées de l'ensemencement de cellules uniques, sont prélevées pour chaque souche étudiée et repiquées en tube sur milieu de Löwenstein et de Dubos.

² J'avais signalé, lors de la première description de cet appareil, qu'il ne permettait pas l'isolement de cellules isolées de mycobactéries.

En réalité, cet isolement est possible. Mais, les séparateurs de germes, fabriqués à la main, ne sont pas toujours identiques entre eux. Il en résulte que certains appareils seulement laissent «passer» les mycobactéries.

Tout appareil nouvellement acheté est essayé dès son arrivée dans le laboratoire et est marqué d'une façon particulière si les essais avec les Mycobactéries sont favorables.

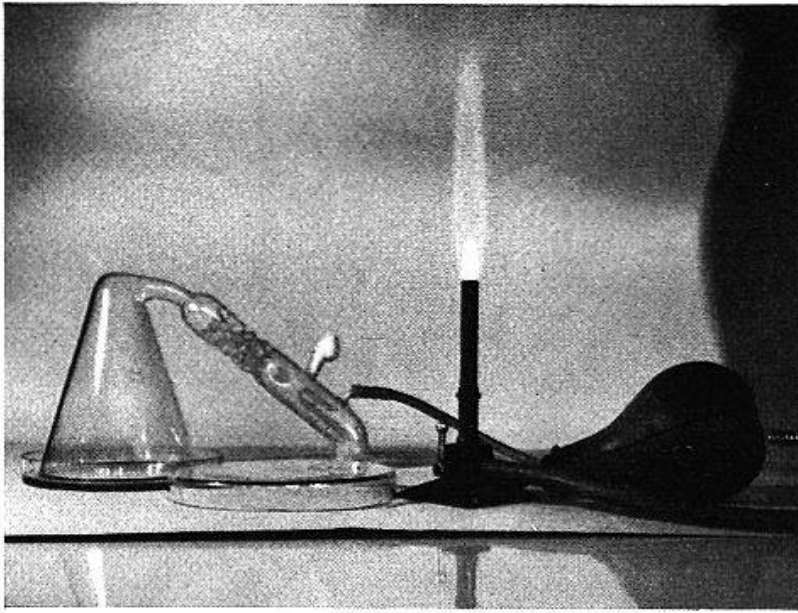


Fig. 2. Séparateur de germes prêt pour l'emploi. L'embouchure de l'entonnoir est placée sur le milieu de culture. La poire servira à produire le courant d'air nécessaire à la formation de l'aérosol.

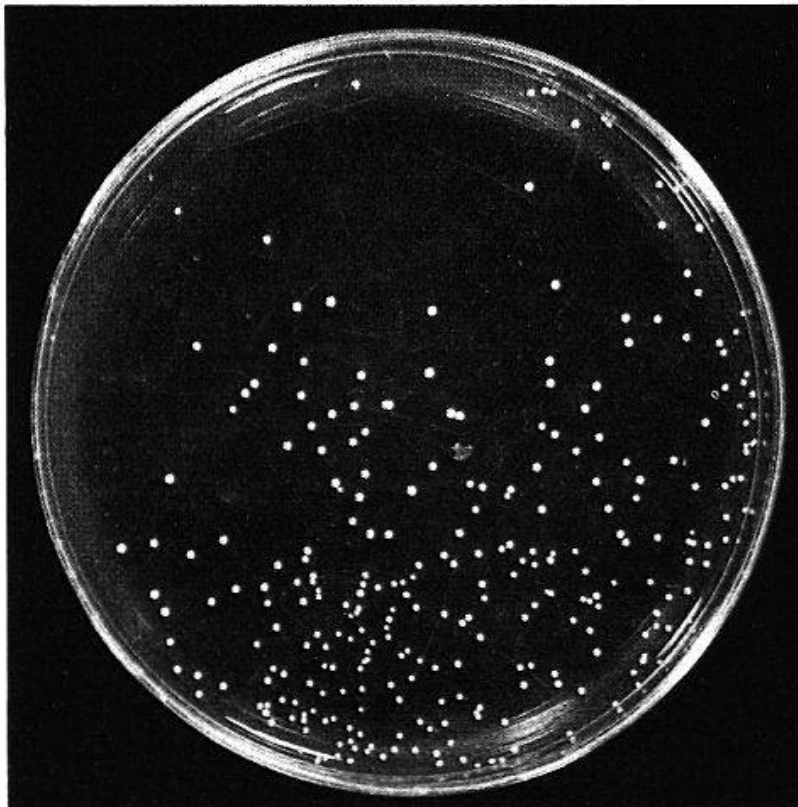


Fig. 3. Boîte de Petri contenant de la gélose sur laquelle on a fait la projection de l'aérosol. Toutes les épreuves montrent que chaque colonie bactérienne est née de cellule unique.

Lorsque les cultures sont apparues, on repique à nouveau dans des tubes contenant le milieu de Dubos, tubes auxquels on a ajouté des quantités croissantes de INH, de 0,01 γ /ml à 50 ou 100 γ /cm³.

Après une huitaine de jours à 37°, on lit les résultats obtenus dans les tubes témoins et dans les tubes d'expériences.

Bien entendu, les essais sont poursuivis parallèlement avec la souche initiale (que nous appelons la «souche mère»), n'ayant pas encore subi de séparation et avec les descendants de cellules uniques provenant de cette souche, clones que nous appelons «filières».

Etude du pouvoir catalasique

On prépare les deux substances suivantes: peroxyde d'hydrogène à 30% et solution de Tween 80 à 10% en eau distillée.

On mélange les deux solutions (le mélange doit être frais).

On recouvre avec ce mélange les colonies obtenues sur milieu solide.

La réaction positive consiste en l'apparition de grosses bulles de gaz visibles sortant des colonies, s'élevant à la surface du liquide et formant parfois une véritable mousse, ce phénomène devant se produire pendant les 30 premières secondes d'application de la solution précédente.

Dans la réaction négative, il n'y a aucune formation de bulles.

Une réaction douteuse est celle dans laquelle les bulles apparaissent en petite quantité, mais ne s'élèvent pas.

Résultats obtenus

I. Démonstration de l'hétérogénéité des souches de mycobactéries vis-à-vis de l'INH

Nous n'apportons ici, à titre d'exemple, que le résultat d'expériences faites avec quatre souches.

Les tableaux 1, 2, 3 et 4 indiquent les résultats obtenus.

La souche-mère 97 319, fraîchement isolée, est résistante à 50 γ /ml et sensible à 60 γ /ml.

Sur huit filières en provenant et nées de cellules uniques, trois seulement ont les mêmes qualités (R = 50 γ /ml, S = 60 γ /ml). Les cinq autres clones ont des résistances variant de 10 γ /ml à 20 γ /ml et des sensibilités allant de 20 γ /ml à 30 γ /ml.

La «souche-mère» 441 (numéro du Centre International de Collections de Cultures de Lausanne d'une souche H 37 Rv) résiste à 20 γ /ml et est sensible à 30 γ /ml. Quatre filières en descendant ont des sensibilités et des résistances différentes.

La «souche-mère» 576 résiste à 50 γ /ml et est sensible à 60 γ /ml. Cinq filières en provenant ont les mêmes qualités. Quatre autres ont des sensibilités et des résistances inférieures.

La «souche-mère» 590 est résistante à 10 γ /ml, sensible à 20 γ /ml. Deux de ses descendants possèdent les mêmes qualités, six autres, des qualités différentes.

Tous les autres essais, faits avec d'autres souches, nous ont donné des résultats comparables.

Tableau 1

No de la souche et des filières	Sensibilité en γ/cm^3 à l'INH		Catalase	Cobayes inoculés par voie i.-p.
	Pousse	Ne pousse pas		
97 319 (souche-mère)	50	60	\pm	0,01 mg 7. 9. 56, survie 0,01 mg 7. 9. 56, survie éliminée
97 319/1	—	—		—
97 319/2	50	60	\pm	—
97 319/3	10	20	0	—
97 319/4	20	30	0	—
97 319/5	50	60	0	{ 1 mg 13. 11. 56, survie 0,1 mg 13. 11. 56, mala- die intercurrente 0,01 mg 13. 11. 56, survie
97 319/6	10	20	+	{ 1 mg 13. 11. 56, survie 0,1 mg 13. 11. 56, survie 0,01 mg 13. 11. 56, survie
97 319/7	20	30	\pm	—
97 319/8	20	30	0	—
97 319/9	50	60	0	—

Tableau 2

No de la souche et des filières	Sensibilité en γ/cm^3 à l'INH		Catalase	Cobayes inoculés par voie i.-p.
	Pousse	Ne pousse pas		
576 (souche-mère)	50	60	+	{ 0,01 mg 7. 9. 56/11. 1. 57, mort +++ (4 mois) 0,01 mg 7. 9. 56/10. 2. 57, survie (5 mois)
576/1	50	60	+	—
576/2	10	20	+	—
576/3	10	20	+	{ 1 mg 13. 11. 56/10. 2. 57, survie 0,1 mg 13. 11. 56/24. 1. 57, mort +++ 0,01 mg 13. 11. 56/10. 2. 57, survie
576/4	50	60	+	{ 1 mg 13. 11. 56/10. 2. 57, survie 0,1 mg 13. 11. 56/10. 2. 57, survie 0,01 mg 13. 11. 56/10. 2. 57, survie
576/5	50	60	\pm	—
576/6	50	60	+	—
576/7	20	30	\pm	—
576/8	50	60	+	—
576/9	40	50	+	—

Tableau 3

No de la souche et des filières	Sensibilité en γ/cm^3 à l'INH		Catalase	Cobayes inoculés par voie i.-p. 0,01 mg
	Pousse	Ne pousse pas		
590 (souche-mère)	10	20	+	{ 7. 9. 56/18. 1. 57, mort +++ 4 mois 7. 9. 56, vit le 10. 2. 57
590/1	2	5	±	—
590/2	10	20	—	—
590/3	2	5	±	—
590/4	2	5	+	{ 7. 9. 56/8. 10. 56, maladie intercurr. présence ganglions caséeux plus tuberculose
590/5	2	5	±	—
590/6	5	10	0	—
590/7	10	20	—	{ 7. 9. 56, survie 7. 9. 56, survie
590/8	5	10	+	{ 7. 9. 56, survie 7. 9. 57, survie

Tableau 4

No de la souche et des filières	Sensibilité en γ/cm^3 à l'INH		Catalase	Cobayes inoculés par voie i.-p. 0,01 mg
	Pousse	Ne pousse pas		
H 37 Rv 441 (souche-mère)	20	30	0	{ 5. 7. 56/6. 1. 57, mort +++ 5. 7. 56, sacrifié 13. 9. 56 ganglions caséeux rate augmentée - lésions nodul.
441/1	20	25	0	{ 5. 7. 56/28. 1. 57, mort +++ 5. 7. 56, survie
441/2	10	20	0	{ 5. 7. 56, survie 5. 7. 56, survie
441/3	2	5	±	{ 5. 7. 56, survie 5. 7. 56, sacrifié 13. 9. 56 pas de lésions
441/4	10	20	±	{ 13. 7. 56/24. 12. 56, mort +++ 13. 7. 56/29. 1. 57, mort +++

Nous pouvons donc conclure, et cette fois-ci semble-t-il d'une façon formelle, que pour des souches de mycobactéries, prises au hasard et étudiées par nous, il existe entre les éléments qui les composent des différences considérables de sensibilité et de résistance vis-à-vis de l'INH.

Différences considérables, en effet, puisqu'elles peuvent être cinq à dix fois plus ou moins importantes dans un cas que dans un autre.

Critique des résultats obtenus

Ayant appris, par une première expérience, les niveaux de sensibilité et de résistance aux isoniazides des bactéries constituant une filière, nous devons nous assurer que tous les éléments constituant le clone étudié possédaient bien la même sensibilité et la même résistance.

Nous avons donc repris les colonies de plusieurs «filières», les avons fait passer à nouveau à travers le «séparateur de germes» et nous avons titré la sensibilité ou la résistance des nouvelles colonies obtenues.

Nous ne rapporterons que deux résultats prouvant que la technique suivie avait réellement permis d'isoler des cellules uniques.

Pureté des filières			
		Pousse (γ)	Ne pousse plus (γ)
441/1 (20 γ -25 γ) initiale	441/1/a	20	25
	441/1/b	20	25
	441/1/c	20	25
	441/1/d	20	25
	441/1/e	20	25
	441/1/f	20	25
	441/1/g	20	25
628/3	628/3/90/a		
Pousse 1 γ	628/3/90/b		
Ne pousse pas 2 γ	628/3/90/c		
Montée ensuite à 90 γ sur des milieux contenant de l'INH, pousse alors avec 90 γ /cm ³ et ne pousse plus avec 100 γ /cm ³	628/3/90/d		poussent à 90 γ
	628/3/90/e		
	628/3/90/f		ne poussent plus à 100 γ
	628/3/90/g		
	628/3/90/h		
	628/3/90/i		
	628/3/90/j		

II. Isoniazido-résistance et pouvoir catalasique

Middlebrook a fait, ainsi que nous l'avons rapporté précédemment, une liaison entre la résistance élevée aux isoniazides d'une mycobactérie et la disparition de son pouvoir catalasique.

Mais, cette liaison ne semble plus être aussi absolue à l'heure actuelle qu'elle l'a été antérieurement.

Reprenant ces recherches sur les clones descendant de cellules uniques et sur les souches-mères, nous avons constaté, à notre tour, que l'isoniazido-résistance n'entraîne pas forcément une disparition de l'activité catalasique.

Les tableaux 1, 2, 3 et 4 permettent de le constater.

Nous résumons d'ailleurs dans le tableau 5 l'ensemble de nos résultats, tableau où nous avons indiqué suivant la valeur du pouvoir catalasique, la sensibilité et la résistance des souches étudiées.

Tableau 5

	Pousse en présence de γ/ml	Ne pousse pas en présence de γ/ml
Catalase 0	10	20
	20	25
	20	30
	50	60
Catalase \pm	2	5
	10	20
	20	30
	50	60
Catalase +	10	20
	40	50
	50	60

Par contre, le fait d'augmenter expérimentalement la résistance vis-à-vis de l'INH de souches primitivement à catalase positive montre, dans tous nos essais, un changement qui les conduit à une réaction catalasique négative.

Voici un tableau résumant quelques uns de nos essais:

Tableau 6

Souches	Catalase et résistance	Catalase et résistance	Catalase et résistance
628/3	\pm 1/2 γ/ml		0 90/100 γ/ml
628/4	+ 0,01/0,02 γ/ml	+ 10/20 γ/ml	0 90/100 γ/ml
576/3	+ 10/20 γ/ml		0 90/100 γ/ml
576/4	+ 50/60 γ/ml		0 90/100 γ/ml

Nous avons l'impression – d'après ces expériences – que seule une très haute résistance à l'INH est capable de modifier le sens de la réaction catalasique qui de positive devient alors négative. Il est certain que de nombreux autres essais devraient être faits pour confirmer ces premiers résultats.

III. *Isoniazido-résistance,* *pouvoir catalasique et maladies expérimentales*

Nous avons rappelé, à plusieurs reprises, les variations observées par plusieurs expérimentateurs dans le pouvoir pathogène des mycobactéries ayant acquis une isoniazido-résistance ou dont le pouvoir catalasique a changé de sens.

C'est évidemment là l'une des parties les plus intéressantes de la question que nous étudions.

La diminution du pouvoir pathogène a été constatée pour le cobaye, sous réserve de l'homogénéité des souches manipulées vis-à-vis des réactions catalasiques en particulier qui devraient être toutes négatives.

Le pouvoir pathogène n'est pas – pour la majorité des auteurs – diminué pour la souris. Certains ont simplement constaté une prolongation de la survie par rapport aux témoins.

Le pouvoir pathogène paraît, pour *Middlebrook* et *Cohn*, diminué pour le lapin.

Hauduroy et *Hartl* ont montré que le pouvoir pathogène n'était pas diminué pour le hamster (21), fait confirmé par *Gernez* (8).

A l'époque où ces expériences ont été faites, on ne pratiquait pas la réaction catalasique et on ne pensait qu'au rapport possible INH-résistance-pouvoir pathogène.

Middlebrook et *Cohn* ont repris ces recherches et pensent qu'une réaction catalasique négative correspond à une diminution du pouvoir pathogène des mycobactéries pour le hamster.

Nous pensons qu'il serait imprudent de tirer de ces faits des conclusions trop générales et, en particulier, de les appliquer à l'homme.

Quant aux essais que nous avons faits, ils ne sont pas terminés et nous ne les apportons ici qu'à titre de documents que viendront compléter les résultats définitifs.

Des cobayes ont été inoculés avec des doses variables de mycobactéries pathogènes INH-résistantes, dont les réactions catalasiques sont tantôt positives, tantôt négatives.

Certains de nos animaux sont inoculés depuis six mois, d'autres depuis moins longtemps. Les uns sont morts, d'autres survivent. Aucun n'a été sacrifié.

Nous estimons, en effet, que le sacrifice prématuré des animaux est une erreur, car il est impossible de porter alors un jugement exact sur la persistance, la diminution ou la disparition du pouvoir pathogène.

Il nous paraîtrait imprudent, pour le moment, de tirer une conclusion quelconque de nos essais et nous publierons ultérieurement l'ensemble de nos résultats.

Résumé

La découverte des isoniazides, leur application dans la thérapeutique antituberculeuse, l'acquisition possible d'une résistance contre cet antibiotique par les mycobactéries ont posé aux bactériologistes des problèmes importants.

Steenken, Wolinsky, Middlebrook ont montré en effet que les bacilles tuberculeux résistants aux isoniazides pouvaient présenter parfois une diminution de leur pouvoir pathogène pour le cobaye et parfois aussi, une disparition de leur pouvoir catalasique.

De très nombreux travaux ont été publiés sur ces problèmes dont les conclusions ne sont pas toutes semblables. Il semblerait que, bien souvent, les cultures bactériennes présentant, dans leur ensemble, une résistance plus ou moins élevée aux isoniazides pourraient être des mélanges de germes sensibles et résistants.

Les auteurs, pour vérifier cette hypothèse, ont utilisé le «séparateur de germes» qui permet d'isoler une à une des bactéries prélevées dans une colonie.

Etudiant les descendants de ces cellules uniques (descendants qui constituent de véritables clones) ils ont constaté qu'il existait en effet une très grande hétérogénéité dans la résistance des germes constituant ces clones vis-à-vis de l'INH.

Leurs expériences montrent que le pouvoir catalasique n'est pas strictement lié à la résistance des bacilles tuberculeux vis-à-vis de l'antibiotique. Il semblerait seulement que de très hautes résistances à l'antibiotique fassent perdre le pouvoir catalasique.

Zusammenfassung

Die Entdeckung der Isoniazide, ihre Anwendung in der Therapie der Tuberkulose und die Möglichkeit der Resistenzbildung der Mycobakterien gegen dieses Antibioticum stellten den Bakteriologen wichtige Probleme.

Steenken, Wolinsky und Middlebrook zeigten tatsächlich, daß die isoniazidresistenten Tuberkelbazillen beim Meerschweinchen manchmal eine Verminderung ihres pathogenen Vermögens und manchmal auch den Verlust ihrer Catalase-Wirkung erleiden. Über diese Probleme wurden zahlreiche Arbeiten publiziert, deren Ergebnisse nicht immer gleich lauten. Es scheint, daß Bakterienkulturen, die als Ganzes eine mehr oder weniger ausgesprochene Resistenz gegen Tuberkelbazillen aufweisen, des öfteren Mischungen von sensiblen und resistenten Keimen darstellen.

Um diese Hypothese zu prüfen, haben die Autoren einen «Bakterien-Separator» verwendet, welcher die einer Kolonie entnommenen Bak-

terien einzeln zu isolieren erlaubt. Bei der Untersuchung der Nachkommen dieser isolierten Zellen (Nachkommen, die wirkliche Klone darstellen) konnten sie tatsächlich eine große Heterogenität in der Resistenz dieser Klone bildenden Keime gegenüber dem Isoniazid feststellen.

Ihre Experimente zeigen, daß die Catalasewirkung nicht unbedingt an die Resistenz der Tuberkelbazillen gegenüber diesem Antibioticum gebunden ist. Es scheint nur, daß eine sehr hohe Resistenz den Verlust der Catalasewirkung hervorruft.

Riassunto

La scoperta delle isoniazidi, la loro applicazione nella terapia anti-tuberculare, la possibilità che i micobatteri diventino resistenti a questo antibiotico hanno posto ai batteriologi importanti problemi. *Steenken, Wolinsky, Middlebrook* hanno infatti dimostrato che i bacilli tubercolari resistenti alle isoniazidi talvolta presentavano una diminuzione del loro potere patogeno nei riguardi della cavia, e talvolta anche l'assenza del loro potere catalasico.

Molti lavori sono apparsi su questi problemi, con conclusioni non sempre concordanti. Sembrerebbe che le colture batteriche aventi, nel loro insieme, una resistenza più o meno grande alle isoniazidi spesso non siano altro che delle mescolanze di germi sensibili e resistenti. Onde verificare questa ipotesi gli autori hanno fatto ricorso al «separatore di germi» che permette di isolare ad uno ad uno i batteri prelevati in una colonia.

Studiando i discendenti di queste cellule singole (che costituiscono delle particolari colonie dall'autore denominate «clones») si constatò che effettivamente esistevano grandi variazioni della resistenza dei germi formanti questi «clones» verso l'Isonicotinidrazide.

Gli esperimenti degli autori dimostrano che il potere catalasico non è strettamente legato alla resistenza dei bacilli tubercolari verso l'antibiotico. Sembrerebbe soltanto che delle resistenze di grado molto elevato verso l'antibiotico provochino una perdita del potere catalasico.

Summary

The discovery of isoniazides, their application in anti-tuberculosis therapy, and the possible acquisition of a resistance against this antibiotic by the mycobacteria, have presented bacteriologists with some important problems.

Steenken, Wolinsky and *Middlebrook* have shown that the tubercular bacilli which are resistant to isoniazides sometimes show a diminution of their pathogenic capacity in the guineapig, and sometimes also a disappearance of their catalasie action.

From the very numerous publications on these problems, the conclusions are not all in agreement. It seems that very often the bacterial cultures which show, in their entirety, a greater or less resistance to the isoniazides, may be mixtures of sensitive and resistant bacilli.

The authors, to test this hypothesis, have used the «bacteria separator» which makes it possible to isolate one by one the bacteria of a colony. Studying the descendants of these individual cellules (descendants which are clones), they have found that there is, infact, a very great heterogeneity in the resistance of bacteria constituting these clones with regard to INH.

The experiments show that the catalasic action is not strictly bound to the resistance of the tubercular bacilli to the antibiotic. It would seem merely that very high resistance to the antibiotic gives a loss of catalasic action.

1. *Steenken*: 13th Conf. Chemoth. Tub. Veterans Administration. Février 1954, 61.
- 2. *Steenken et Wolinsky*: Amer. Rev. Tuberc. **70**, 375 (1954). – *Middlebrook et Cohn*: Science **118**, 297 (1953).
- 4. *Middlebrook*: Amer. Rev. Tuberc. **69**, 471 (1954).
- 5. *Morse*: Amer. Rev. Tuberc. **69**, 464 (1954).
- 6. *Karlson*: Amer. Rev. Tuberc. **70**, 531 (1954).
- 7. *Hirano*: Yokohama Med. Bull. **6**, 196 (1956).
- 8. *Gernez-Rieux*: Rev. Tuberc. (Paris) **19**, 2 (1955).
- 9. *Viallier*: C. R. Soc. Biol. (Paris) **150**, 185 (1956).
- 10. *Vischer*: Schweiz. Z. Path. Bakt. **9**, 710 (1956).
- 11. *Connalty et Gaffney*: Amer. Rev. Tuberc. **71**, 799 (1955).
- 12. *Peizer, Minkin et Widelock*: Amer. Rev. Tuberc. **70**, 728 (1954).
- 13. *Mitchinson*: Amer. Rev. Tuberc. **69**, 641 (1954).
- 14. *Stewart*: Amer. Rev. Tuberc. **69**, 641 (1954).
- 15. *Hauduroy et Cevey*: Ann. Inst. Pasteur **84**, 1036 (1953).
- 16. *Hauduroy*: Ann. Inst. Pasteur **77**, 307 (1949).
- 17. *Hauduroy*: Experientia (Basel) **7**, 193 (1951).
- 18. *Le Joubioux*: Thèse, Paris 1955.
- 19. *Rist*: Amer. Rev. Tuberc. **74**, 75 (1956).
- 20. *Middlebrook et Cohn*: Amer. Rev. Tuberc. **70**, 654 (1954).
- 21. *Hauduroy et Hartl*: 13e Conf. Int. Tub. Madrid 1954.

Discussion

B. Fust (Basel): Wir isolierten direkt aus dem Sputum von 2 Kranken mit INH-resistenten Tuberkelbazillen einzelne Tuberkelbazillen mit dem Mikromanipulator und können die Angaben von *Hauduroy* bestätigen. Die Einzellkulturen zeigen differente Isoniazidresistenz im Reagensglas.