

Le test à l'indol est négatif. Les cultures en bouillon au p_H 7,6 à 32°, dans des ballons ou des tubes aux parois recouvertes de cire, montrent après cinq semaines une modification de la cire qui se traduit par une diminution d'adhérence aux parois des récipients.

Dans une série d'expériences faites en collaboration avec H. SARLET, nous avons pu mettre en évidence, comme le montre le tableau I, une consommation de la cire d'abeille par les bactéries dont il est question dans la présente note.

Les expériences ont été menées selon la méthode décrite par H. SARLET et M. FLORKIN¹ (Série I: expériences en fioles agitées; série II: expériences en boîtes de Pétri).

F. LOZET et M. FLORKIN

Laboratoire de biochimie, Université de Liège, Belgique, le 10 juin 1949.

Summary

The authors have isolated from the intestinal content of the larvæ of the waxmoth *Galleria mellonella* a bacterium utilizing beeswax.

¹ H. SARLET et M. FLORKIN, Exper. 5, 404 (1949).

Attaque de la cire d'abeille par une bactérie isolée à partir du contenu intestinal de *Galleria mellonella*

Pour étudier la nature de l'attaque de la cire d'abeille par la bactérie isolée par F. LOZET et M. FLORKIN¹ à partir du contenu intestinal de *Galleria mellonella*, nous avons introduit dans des fioles d'Erlenmeyer contenant de l'eau stérile, des copeaux de cire pesés exactement. Les fioles, après addition de quantités variables de bactéries, sont agitées fortement pendant quatre jours, à la température du laboratoire. Le contenu est ensuite centrifugé pour écarter les bactéries, et la cire est recueillie par filtration sur verre fritté, abondamment lavée à l'eau distillée, séchée, placée sur verre de montre, laissée pendant 12 heures en exsiccateur sur P_2O_5 , pesée et soumise à l'extraction continue par le benzène durant

¹ F. LOZET et M. FLORKIN, Exper. 5, 403 (1949).

trois heures. Le résidu est pesé. L'extrait (dont la teneur en cire correspond à la différence entre la cire pesée et le résidu pesé) est amené par addition de benzène au volume de 50 cm³.

Pour déterminer l'indice d'acide, on titre à chaud une prise d'essai de 10 cm³ additionnée de 25 cm³ d'alcool à 95° et de 10 gouttes d'une solution alcoolique de phénol-phtaléine à 1/100, par une solution alcoolique de potasse de titre voisin de 0,025 N. Deux essais témoins ne contiennent que des solvants. De la différence on tire la valeur, en mg de KOH, de la quantité de potasse fixée par les acides de la cire contenue dans la prise d'essai (Q_{KOH} acide). Cette quantité divisée par le poids de la cire contenue dans la prise d'essai, donne l'indice d'acide.

Pour déterminer l'indice d'ester, on ajoute à la prise d'essai de 10 cm³, 5 cm³ de solution alcoolique de potasse 0,25 N, on fait bouillir à reflux pendant deux heures et on titre en retour par l'acide chlorhydrique 0,25 N. On fait en même temps deux témoins. La différence fournit la valeur en mg de KOH, des esters de la prise d'essai (Q_{KOH} esters) et, par division par le poids de la cire contenue dans la prise d'essai, l'indice d'ester. Toutes les opérations sont conduites en verre Iéna 20 (résistant aux alcalis).

Dans d'autres expériences (série II), les copeaux de cire ont été pesés exactement, puis introduits dans des boîtes de Pétri, contenant des bactéries et des quantités variables d'eau stérile, et laissés à l'étuve à 37° pendant 8 jours.

Le tableau résume les résultats d'une série d'expériences.

Les résultats obtenus montrent une diminution de la teneur de la cire en acides et en esters. La diminution des acides est particulièrement marquée. L'indice d'acide est régulièrement diminué tandis que l'indice d'ester est presque toujours augmenté du fait de la consommation très marquée des acides. Si on admet que la totalité des acides libres de la cire est constituée par l'acide cérotique $C_{25}H_{51}COOH$ et si on admet que la totalité des esters est constituée par le palmitate de méricyle, deux postulats qui sont voisins de la vérité, on peut calculer la perte de poids correspondant aux modifications d'indices d'acide et d'ester. Cette valeur calculée montre une concordance très satisfaisante avec les valeurs observées. Signalons aussi que dans nos

	Cire introduite Gr.	Cire extraite Gr.	Cire perdue Gr.	Q_{KOH} Ac. mg	Indice d'acide	Q_{KOH} Est. mg	Indice d'ester	Perte calculée Gr.
<i>Série I</i>								
Exp. 1	1,5051	1,2956	0,210	2,60 (1,73)*	10,0	17,6 (11,7)*	68,1	0,240
Témoin	1,0060**	0,9681	0,040	3,03	15,5	12,9	66,6	
Exp. 2	1,000	0,8533	0,147	2,24	13,1	12,2	71,4	0,131
Exp. 3	1,000	0,8526	0,147	1,66	9,7	12,3	72,1	0,145
Témoin	1,000	0,9554	0,045	3,12	16,3	13,6	71,1	
<i>Série II</i>								
Exp. 4	1,000	0,7863	0,214	1,96	12,6	10,7	68,1	0,230
Exp. 5	1,000	0,9460	0,054	2,49	13,1	13,3	71,4	0,055
Exp. 6	1,000	0,8824	0,118	2,76	15,6	11,6	66,0	0,142
Exp. 7	1,000	0,8906	0,110	1,07	6,0	12,5	70,0	0,154
Cire				3,74	18,7	13,5	67,5	

* Valeur correspondant à 1 g de cire introduite.

** Les témoins en italiques.

expériences nous avons observé, par rapport aux témoins, une alcalinisation nette.

H. SARLET et M. FLORKIN

Laboratoires de biochimie, Université de Liège, Belgique, le 10 juin, 1949.

Summary

The utilization of beeswax by the bacterium isolated by LOZET and FLORKIN from the intestinal content of the waxmoth has been studied. It appears that the bacterium utilizes mostly the acids of the wax, but also a certain amount of esters.

Die Wirkung von Kalzium und Serum auf die Wanderung von zitratgeschädigten menschlichen Leukozyten

Tribasisches Natriumzitrat verursacht bei einer Konzentration von 0,2–0,35 % in defibriniertem Blut eine fast vollständige Hemmung der Koliphagozytose menschlicher Leukozyten. Diese Hemmung kann durch Zugabe von CaCl_2 nicht vollständig aufgehoben werden. Gibt man zusätzlich zum rekalkifizierenden CaCl_2 noch etwas natives Serum zu, so erlangen die zitratgehemmten Leukozyten wieder volle Phagozytose (ALLGÖWER¹).

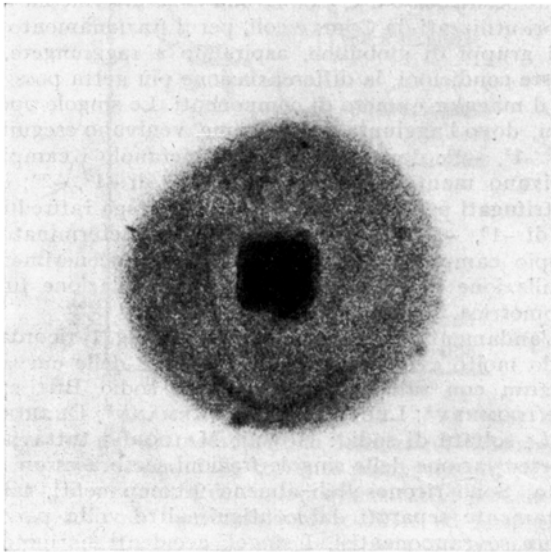


Abb. 1. Leukozytenkultur nach 12 Stunden. Im Zentrum «Leukozytenwürfel», darum herum Auswanderungszone.

Es schien von Interesse, die quantitativen Verhältnisse der Leukozytenwanderung unter Zitrategie mit den Befunden bei der Kolibazillenphagozytose zu vergleichen. Dabei mußte uns interessieren:

- a) Die hemmende Wirkung von Natriumzitrat auf die Wanderung.
- b) Die restituierende Wirkung von CaCl_2 .
- c) Die restituierende Wirkung von CaCl_2 + Serum.

Technik. Auf der Methodik von KIAER² fußend haben wir einen für menschliche Leukozyten brauchbaren, quantitativen Auswanderungstest ausgearbeitet: Schonend defibriniertes Venenblut wird zentrifugiert, das Serum abpipettiert und die Zellen in Hühnerplasma aufgenommen. Das Gemisch wird sofort wieder zentrifugiert. Dabei tritt Gerinnung ein. Das nichtkontraktile Koagulum des

Hühnerplasmas umfaßt die Leukozytenschicht und erlaubt das Schneiden von gleichmäßigen «Leukozytenwürfeln» von ca. 2 mm Kantenlänge. Diese Leukozytenwürfel werden in Carrel-Flaschen verbracht welche 0,8 cm³ Nativ- oder Zitratplasma + 0,8 cm³ isotonisch gehaltener Zusätze in Tyrode enthalten. Abwarten der Gerinnung. – In den Brutschrank bei 38° verbracht, zeigen die Leukozytenwürfel nach 3–12 Stunden eine unter gleichmäßigen Versuchsbedingungen gleichmäßige Auswanderung, die bis 10 mm im Durchmesser betragen kann (Abb. 1). Das für diese Versuche verwendete Venenblut stammte von Patienten mit akuten Entzündungszuständen mit ca. 15000 Leukozyten pro cm³ Blut.

Das Zitratplasma wurde gewonnen aus Blut von 0,35 % Zitratgehalt. Zur Rekalkifizierung wurde pro 1 cm³ Zitratplasma 0,175 cm³ einer 1,29 %igen CaCl_2 -Lösung verwendet.

0,8 Plasma	+0,8 Tyrode	+0,8 Thrombintyrode
0,8 Zitratplasma	+0,8 Thrombintyrode (kalziumfrei)	+0,6 Thrombintyrode (kalziumfrei) +0,2 Serum
0,8 Zitratplasma	+0,66 Tyrode +0,14 CaCl_2 1,29%	+0,44 Tyrode +0,14 CaCl_2 1,29% +0,2 Serum

Abb. 2. Wanderungsversuch unter Zitrat-, Kalziumchlorid- und Serumeinfluß.

Nach Abb. 2 gibt Natriumzitrat, geprüft nach dem beschriebenen Test, eine fast vollständige Hemmung der Leukozytenwanderung. Als Kontrolle diente die Auswanderung in frisch gewonnenem Nativplasma + Tyrode oder Thrombintyrode. Rekalkifizieren des Zitratplasmas mit CaCl_2 vermag die Hemmung nur teilweise zu beheben. Zusatz von 0,2 cm³ Serum zu dem rekalkifizierten Plasma pro Carrel-Flasche ergibt einen bemerkenswerten Migrationseffekt. Im nichtrekalkifizierten Plasma ist die Serumwirkung fast gleich Null.

In 16 Versuchen blieb die restituierende Wirkung des CaCl_2 auf die Wanderung zitratgehemmter Leukozyten deutlich hinter der Wirkung von CaCl_2 + nativem Plasma oder Serum zurück. In drei Versuchen war dagegen durch Serumzugabe keine wesentliche Steigerung der Wanderung über die Kalziumwirkung hinaus zu erreichen. In drei Fällen erfolgte im eigenen Plasma der Leukozyten sowohl nach Rekalkifizieren wie nach Zugabe von Serum keine Wanderung, während dem die gleichen Leukozyten in fremdem Plasma gute Wanderung zeigten. Es handelte sich dabei zweimal um entzündliche Gallenwegsaffektionen mit erhöhten Gallenstoffen im Blut, einmal um eine akute Adnexitis als Herkunftsquelle der Leukozyten, des Plasmas und des Serums.

Es war noch die Frage zu prüfen, ob die stöchiometrische Kalziummenge den besten Wanderungseffekt ergibt. Abb. 3 zeigt die Wirkung steigender Kalziummengen auf die Leukozytenmigration im Zitratplasma. Tatsächlich ergibt 0,14 CaCl_2 pro 0,8 cm³ Zitratplasma

¹ M. ALLGÖWER, Helv. chir. acta 14, 483 (1947); 16, 75 (1949); Schweiz. med. Wschr. 1 und 2 (1947).

² S. KIAER, Arch. exp. Zfschg. 1, 289 (1925).