

# Action inhibante de dérivés chaulmoogriques sur la culture en milieu liquide du bacille tuberculeux aviaire

PAR

A. DUBOIS.

---

L'action inhibante exercée sur les cultures de bacilles acido-résistants par l'huile de chaulmoogra et les savons ou esters qui en dérivent est considérée comme établie (\*). On trouvera résumé et indications bibliographiques à ce sujet dans la monographie de Schlossberger (2). Cet auteur conclut : « Uebereinstimmend geben fast sämtliche Autoren an, dass die genannten Oele, vor allem aber deren ungesättigte Fettsäuren (als Salze oder Ester) im Reagensglasversuch eine ausserordentlich starke entwicklungshemmende Wirkung auf die zur Gruppe der säurefesten Bacterien gehörenden Mikroben ausüben, während andersartige Keime kaum beeinflusst werden. »

Cette propriété a-t-elle une relation avec l'activité thérapeutique attribuée à ces drogues ? Il est assurément toujours hasardeux de conclure d'action *in vitro* à activité *in vivo* et vice-versa. Mais on peut dans le premier cas escompter l'activité thérapeutique avec plus de probabilité. D'autre part, quand un produit se montre actif *in vivo*, la constatation d'activité *in vitro* présente un intérêt théorique évident (action directe probable).

Bien entendu, on peut s'attendre à ce que pas mal de produits actifs *in vitro* n'aient aucune activité *in vivo*. Stanley et coll. (cf. 2) ont synthétisé des acides gras divers dont beaucoup ont une activité *in vitro* appréciable sur des bacilles acido-résistants, alors que rien n'a été établi sur leur action thérapeutique. Des corps gras divers ont donné lieu à des constatations identiques. Nelis (3) a observé une action bactéricide de certaines huiles en particulier huile de foie de morue sur des germes non acido-résistants; avec Thomas (4) il a tendance à attacher de l'importance à la présence de peroxyde et aussi de molécules à liaisons éthyléniques (\*\*).

Solomonides (5) cite dans la littérature des observations d'action inhibante sur le bacille tuberculeux aussi bien que d'action favorable; ses propres essais ne lui ont montré que des phénomènes de dégénérescence (huile d'arachide). Quant à moi, au cours d'essais avec l'huile de Caloncoba (1) je n'ai observé qu'une action favorisante de l'huile d'arachide servant de contrôle (bacilles acido-résistants saprophytes ou tuberculeux).

Récemment, Gastinel, Névot et Hebrand (6) ont aussi observé que l'huile d'olive neutre retarde ou modifie le développement des bacilles tuberculeux, selon qu'elle est mise en surface ou incorporée au milieu de Loewenstein. Par contact direct avec

(\*) Dans une note sur l'huile de Caloncoba j'ai signalé brièvement des essais personnels (1).

(\*\*) Il s'agit toujours dans ces essais d'action bactéricide; en outre le volume de l'huile dépasse le volume de la suspension microbienne (2 c.c. — 0,5 c.c.).

le bacille, celui-ci perd son pouvoir de multiplication et voit son pouvoir pathogène diminuer.

Nous verrons un peu plus loin que les résultats obtenus avec les dérivés du chaulmoogra ne sont pas sans irrégularité.

Admettant cependant pour établie l'activité *in vitro* et l'activité thérapeutique dans la lèpre, on peut se demander à quel groupement de la molécule l'attribuer.

L'activité biologique appartient de l'avis quasi unanime aux acides gras spéciaux possédant le cycle penténylique (\*).

En effet, c'est ce cycle qui caractérise chimiquement et surtout physiquement (pouvoir rotatoire) les huiles actives thérapeutiquement. D'autre part, les propriétés inhibantes ou thérapeutiques passent aux esters et savons obtenus des acides en question. Cependant, comme il a été dit plus haut, Stanley et coll. ont constaté l'action inhibante d'acides possédant d'autres cycles (cyclopropyl, cyclohexyl, etc.) ou même n'ayant qu'une chaîne rectiligne; l'action *in vivo* de ces substances n'est pas établie.

On sait que ces auteurs attribuaient l'importance principale au nombre des atomes de carbone (soit 16-18) déterminant les propriétés moléculaires. Certains léprologues attribuent plus d'activité thérapeutique à l'acide hydnocarpique dont la chaîne rectiligne est en C 10 qu'à son homologue en C 12, l'acide chaulmoogrique.

Malgré tout, de l'ensemble des constatations faites le cycle à cinq atomes de carbone apparaît comme essentiel.

Il est plus difficile de dire si la liaison éthylénique  $HC = CH$  qu'on trouve dans le cycle est indispensable. L'hydrogénation ou l'iodisation qui suppriment la double liaison ont donné des produits dont l'action *in vitro* est diversement appréciée. Pour Schöbl la transformation du cycle penténylique en cycle pentylique (hydrogénation) supprime l'activité *in vitro*; Stanley et coll. expriment une opinion contraire (cfr. Schlossberger, p. 68). L'action de l'iodisation est aussi diversement appréciée (cfr. Schlossberger, p. 68).

De nombreux cliniciens ont utilisé en thérapeutique humaine des huiles ou esters iodés et avec toute satisfaction, également de l'acide dihydrochaulmoogrique. En tout cas la liaison éthylénique ne paraît pas par elle-même être une condition d'activité tant *in vitro* que *in vivo* : diverses huiles à haut indice d'iode (donc à liaisons insaturées) ont été expérimentées sans succès.

Il y a du reste dans les observations faites sur l'action inhibante, des irrégularités, tout comme, il faut bien l'avouer l'activité antilépreuse peut difficilement apparaître comme très puissante.

Advier et Peirier (7) par exemple, dont Schlossberger reproduit sans commentaire un tableau, se séparent assez bien des conclusions de Schöbl. Celui-ci avait admis comme inhibantes des concentrations entre 1/2000 et 1/10.000 pour diverses huiles de chaulmoogra et 1/3000 et 1/60.000 pour divers savons; diverses autres huiles ou essences étant peu ou pas actives.

Les auteurs français, aux concentrations 1/1000-1/2000 n'ont observé une modification de la poussée qu'après 3 mois. Ce n'est donc pas ici d'inhibition qu'il s'agit, mais de dégénérescence (\*\*): moindre développement, disparition de l'acido-résistance. Les auteurs le disent en toute lettre : « nos expériences ont donc une allure toute différente de celle de O. Schöbl », et ils concluent : « bornons-nous à constater que les expériences de laboratoire peuvent, dans une certaine mesure, mettre en relief les propriétés antiseptiques de l'huile de chaulmoogra et Caloncoba à l'égard du bacille de Koch ».

Darzens (8) fait aussi remarquer l'irrégularité des résultats obtenus avec l'huile de chaulmoogra sur les bacilles acido-résistants. Selon lui les résultats contradictoires tiennent à la nature différente des milieux utilisés et à la variation dans l'abondance de l'ensemencement. C'est ainsi que dans ses essais le bacille tuber-

(\*) Voir tableau des formules.

(\*\*) Il convient de noter que l'huile active a été dissoute dans de l'huile d'olive, mais au contraire de Gastinel et coll. les auteurs la jugent inactive (1/100).

culeux est fortement inhibé sur gélose glycinée et faiblement sur milieu de Loewenstein.

Certains auteurs ont utilisé parfois des milieux paraissant bien peu favorables au bacille tuberculeux. Dickshit (9) notamment fait ses essais sur bouillon glucosé additionné d'hydnocarbate de sodium et où les tubes témoins donnent, paraît-il un développement satisfaisant. En ces conditions l'hydnocarbate à 1/200.000 inhibe la culture du bacille tuberculeux. Il me semble cependant nécessaire pour des essais de ce genre d'utiliser des milieux très favorables.

Prigge a récemment soumis à une critique méthodique les résultats des essais *in vitro* (10). Il fait observer que dans la même série expérimentale il y a de fortes variations de tube à tube. Pour éviter cette cause d'erreur il fait chaque essai sur 12 tubes ou ballons pour chaque concentration du produit et prend la moyenne arithmétique du développement (celui-ci est évalué selon la surface occupée par le bacille humain ensemencé sur bouillon glyciné). Il ne précise pas la façon d'évaluer cette surface et peut-être la précision mathématique est-elle ici plus apparente que réelle. En effet, la moyenne est établie sur une série de chiffres mais ceux-ci paraissent correspondre à des + soit par exemple  $\pm = 0,1$ ,  $+ = 1$ ,  $+ (+) = 1,5$  etc. et c'est l'attribution des + ou  $\pm$  qui n'est pas indiquée et probablement peu précise.

Dans l'exemple expérimental cité par l'auteur la poussée à la concentration active limite varie entre 0 et 2 avec la moyenne de 0,89 pour les 12 tubes.

Prigge propose en outre d'utiliser un produit étalon comme on le fait dans l'épreuve classique de Rideal-Walker. Cette méthode me paraît intéressante surtout si l'on choisit comme standard un corps ayant une certaine parenté de constitution (pour les essais avec des acides gras Prigge choisit le sel de sodium de l'acide undécylénique).

Mais comme nous l'avons dit les résultats de Prigge varient très fort. C'est ainsi que le corps standard a donné des concentrations actives variant entre 1/2000 et 1/50.000, les résultats divers faisant une courbe en cloche avec fréquence maxima vers 1/10.000 (moyenne). Le produit à étudier est expérimenté en même temps que le standard; si ce dernier s'est écarté de sa concentration moyenne on corrigera les résultats du corps à expérimenter selon la proportion.

A (\*) standard : N standard = A corps à expérimenter : N corps.

La valeur normale N corps est beaucoup plus facile à reproduire en série, selon Prigge.

Ayant utilisé récemment le milieu de Kirchner (11) pour la culture du bacille de Koch, j'en ai reconnu les avantages au cours d'essais *in vitro* préliminaires faits avec le Gynocardate Specia (produit qui malgré son nom est un dérivé du Chaulmoogra) (12). En effet, ce milieu liquide permet le développement assez abondant du bacille tuberculeux en profondeur. Le germe est donc en contact très intime avec le produit à essayer, au moins s'il s'agit de substances solubles. Cela n'est pas le cas pour le développement à la surface d'un milieu liquide ou solide.

En outre, l'utilisation du bacille aviaire renforce encore cet avantage : il pousse en effet de façon homogène, au contraire du bacille humain qui pousse en gros grumeaux dont la quantité ne pourrait guère être précisée que par pesée.

Avec le bacille aviaire il est très aisé d'apprécier l'abondance du développement soit à l'œil (c'est ce que j'ai fait le plus souvent) soit en recourant à des procédés de dilution par comparaison entre tube contrôle et tube d'expérience, soit en recourant à des méthodes physiques de néphélométrie dont je donne des exemples.

(\*) A. concentration actuelle. N. concentration moyenne ou « normale ».

J'ai été frappé de la régularité des résultats obtenus en se plaçant toujours dans les mêmes conditions. Il faut en particulier utiliser des tubes de même diamètre, non seulement pour faciliter la comparaison sommaire à l'œil, mais aussi parce que le bacille pousse mieux avec une hauteur modérée de liquide (4-5 cm. — bouchage au coton).

La composition du milieu est la suivante :

Phosphate disodique ... ..	3
» monosodique ... ..	4
Sulfate de Magnésium ... ..	0,6
Citrate de Soude... ..	2,5
Asparagine ... ..	5
Glycérine ... ..	20
Eau ... ..	1000

Stériliser 120°. Ajouter 10 % de sérum humain ou animal.

Vérifier la stérilité par 48 h. à l'étuve. Selon l'auteur il faut une solution neutre; dans mes expériences, le p.H. du milieu était ordinairement vers 6,2-6,4. La neutralisation à l'ammoniaque, ou la modification du taux des phosphates ne m'a pas paru utile.

Le milieu est très favorable au bacille aviaire. Le bacille humain y pousse plus lentement et moins abondamment. J'ai pu cependant entretenir des souches humaines et en isoler d'organes d'animaux infectés ou même de crachats passés à l'acide sulfurique.

Les essais actuels ont été faits avec divers produits chaulmoogriques reçus du Dr. L. Adriaens, du laboratoire de chimie du Ministère des Colonies et obtenus en partant de végétaux ayant poussé au Congo (13).

La liste ci-après donne les indications sur leur nature et composition :

I. — *Acides solides d'Hydnocarpus wightiana.*

Ces acides contiennent sensiblement :

- 50 % d'acide hydnocarpique,
- 15 % d'acide chaulmoogrique,
- 12 % d'acide oléique,
- 5 % d'acide palmitique.

Ils dosent en outre des traces de « tarry acids » et d'acides inférieurs à l'acide hydnocarpique.

II. — *Acide chaulmoogrique sensiblement pur.*

III. — *Acide hydnocarpique en mélange avec de l'acide palmitique.*

IV. — *Esters éthyliques d'Hydnocarpus wightiana.*

Composition :

- 79 % d'acide hydnocarpique,
- 14 % d'acide oléique,
- 7 % d'acide palmitique.

V. — *Esters de Caloncoba welwitschii.*

Composition :

- 28 % d'acide chaulmoogrique,
- 32 % d'acide oléique,
- 40 % d'acide gorlique.

VI. — *Esters éthyliques d'Hydnocarpus wightiana.*

Composition :

- 60 % d'acide hydnocarpique,
- 31 % d'acide oléique,
- 9 % d'acide gorlique.

Traces d'acides inférieurs à l'acide hydnocarpique.

VII. — *Esters éthyliques de Caloncoba glauca.*

Composition :

- 78 % d'acide chaulmoogrique,
- 12 % d'acide oléique,
- 10 % d'acide palmitique.

VIII. — *Esters éthyliques de Caloncoba glauca.*

Composition :

- 18 % d'acide chaulmoogrique,
- 31 % d'acide oléique,
- 51 % d'acide gorlique.

IX. — *Esters éthyliques de Caloncoba welwitschii.*

Composition :

- 75 % d'acide chaulmoogrique,
- 16 % d'acide oléique,
- 9 % d'acide palmitique.

X. — *Esters éthyliques de Caloncoba welwitschii.*

Composition :

- 53 % d'acide hydnocarpique,
- 11 % d'acide oléique,
- 36 % d'acide palmitique.

En outre, des produits commerciaux ont été utilisés : Gynocardate Specia et Grauméthanol Meurice (\*) et comme contrôle du savon médicamenteux.

*Technique.* — Les acides ont été transformés en savon de sodium. Ceux-ci et aussi le Gynocardate ont été dissous dans l'eau et stérilisés à 120° (pour le Grauméthanol, la solution commerciale à 10 % a été diluée directement). Les solutions ont été introduites dans les tubes contenant la même quantité de milieu de façon à réaliser une progression géométrique décroissante.

Pour les esters, vu leur quasi-insolubilité dans l'eau et la difficulté de mesures de très petits volumes, j'ai utilisé des solutions dans l'alcool éthylique de façon à permettre d'ajouter partout un volume aisé à mesurer (0,10 c.c.). Il a été nécessaire dans ces conditions d'utiliser des tubes-contrôle avec 0,10 c.c. d'alcool (l'action inhibante de celui-ci est très limitée).

Les tubes sont gardés 24 h. à l'étuve de façon à vérifier leur stérilité puis ensemencés de même façon (IV gouttes de culture liquide) en même

(\*) Savon chaulmoogrique de diéthanolamine.

temps que les tubes-contrôles, y compris un tube d'eau physiologique, donnant une idée du trouble dû à l'ensemencement.

Le développement à 37-38° est suivi tous les quelques jours pendant 15 jours ou même un mois (je juge utile de boucher les tubes seulement à l'ouate; dans ces conditions la concentration devient notable après 15 jours-3 semaines). Généralement avec le bacille aviaire les résultats sont au plus net après 10-15 jours.

L'examen microscopique a été utilisé pour vérifier l'aspect des bacilles et aussi la pureté des culture. Celle-ci ressort du reste de la limpidité du liquide surnageant les bacilles sédimentés en disque plus ou moins épais et étendu.

Il n'a pas été fait d'inoculation vu la rareté actuelle des animaux.

L'appréciation du trouble se fait après homogénéisation soignée par rotation prolongée; je l'ai noté : ±, +, ++, +++, +++++, ou plus rarement apprécié par néphélométrie.

En réalité, dans la plupart des cas, la différence entre contrôle et tubes de réaction était très appréciable à l'œil.

Deux difficultés se sont élevées : certains savons précipitent assez fortement et seules les faibles concentrations ont été utilisables (on prend la précaution de faire des tubes témoins contenant le produit mais non ensemencés). D'autre part, l'addition au milieu aqueux du mélange alcool-ester détermine la séparation de l'ester sous forme d'émulsion puis ultérieurement de gouttelettes huileuses à la surface. Il semble donc que, avec les premiers tubes on ait toujours une solution saturée de l'ester dans l'eau et de ce fait il y a peu de différence d'action à noter dans ces tubes.

Résultats : Ils sont résumés dans les tableaux suivants :

*Gynocardate Specia et Savon Médicinal.*

Jour	0	3	6	12	26	Remarques.
Tube contrôle 1	E	+	++	+++	++++	E = ensemencement. Les témoins non ensemencés mais additionnés de savon sont destinés à juger d'une opalescence éventuelle due à celui-ci.
» » 2	E	+	++	+++	++++	
<i>Savon médicinal</i>						
1/100.000	E	+	++	+++	++++	
1/50.000	E	+	++	+++	++++	
1/20.000	E	+	++	+++	++++	
1/10.000	E	+	++	+++	++++	
1/10.000	—	—	—	—	—	
<i>Gynocardate</i>						
1/100.000	E	±	+	++	+++	(*) Ce tube n'a été observé que jusqu'au 13 <sup>me</sup> jour où les bacilles lavés ont été ensemencés et ont poussé normalement.
1/50.000	E	±	+	+	++	
1/20.000	E	±	±	±	+	
1/10.000	E	—	—	—	(*)	
1/10.000	—	—	—	—	—	

On constate que l'inhibition nette pendant les premiers jours tend à diminuer ultérieurement, elle est appréciable jusqu'au 1/50.000.

*Produit n° 1 de L. Adriaens.*

Jours	0	5	10	18	30	Remarques.
Tube contrôle 1	E	+	++	++++	++++	
» » 2	E	+	++	++++	++++	
<i>Savon médicinal</i>						
1/1.000	-	-	-	-	-	milieu opalescent peu utilisable.
1/1.000	E	-	-	-	-	
1/2.000	-	-	-	-	-	
1/2.000	E	-	?	++	++++	
1/5.000	E	+	++	+++	++++	
<i>Produit I</i>						
1/1.000	-	-	-	-	-	
1/1.000	E	-	-	-	-	
1/2.000	E	-	-	-	-	
1/5.000	E	-	±	+	+	
1/10.000	E	?	±	+	+(*)	(*) Ensemencement positif.
1/20.000	E	±	±	++	+++	
1/50.000	E	±	±	+++	++++	
1/100.000	E	+	++	++++	++++	

*Expérience avec l'ester (n° 7).*

Jours	0	5	10	18	30	Remarques.
Tube contrôle 1	E	++	+++	++++	++++	
» » 2	E	++	+++	++++	++++	
Contrôles avec 1	E	+	++	++++	++++	
O. 1 cc. alcool. 2	E	+	++	++++	++++	
<i>Produit VII</i>						
1/500	-	-	-	-	-	
1/500	E	-	-	-	-	
1/1.000	E	-	-	-	-	
1/2.000	E	-	-	-	-	
1/4.000	E	±	±	+	+(*)	(*) au 25 <sup>me</sup> jour subculture positive.
1/8.000	E	±	±	+	++	
1/16.000	E	+	+	++	+++	

Il est inutile de donner le tableau de tous les essais. Le tableau général suivant en synthétise les résultats. (Le développement est noté au moment où les témoins étaient très fortement positifs.

Concentration	Savon médicinal	Gynocardate	Savons n°			Esters						Grauméthanol	
			1	2	3	4	5	6	7	8	9		10
1/1000	0	0	0	in. (*)	0	0	±	0	0	+	+	+	0
1/2000	+++	0	±	0	0	0	+	0	0	+++	++	+	0
1/5000	+++	0	+	0	±	±	+	0	0	+++	++	+	0
1/10000	+++	0	+	+	+	+	+	+	+	+++	++	+	0
1/20000	+++	±	+++	+	++	+	+	++	+++	+++	+	+++	+
1/50000	+++	+	+++	++	++++	+	+	+	+	+++	++	+++	++
1/100000	+++	++	+++	+++	++++	++	+	+	+	+++	++	+++	+++
T	+++	+++	+++	+++	++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

(\*) tube inutilisable vu le trouble chimique.

Il est par contre intéressant de citer deux expériences où les résultats ont été notés avec le colorimètre-néphélomètre de Moll (\*).

Jours	Grauméthanol				Remarque.
	0		6		
		Notation directe	$\frac{o}{o}$ d'extinct.	$\log_e$	
<i>Tubes</i>					
Témoin	E	++	38,90	0,492	(*) Ce tube devant servir à des ensemencements a été réservé.
Témoin	E	++	( <sup>o</sup> )		
aq. phys.					4 cc. des cultures sont dilués à 25 cc. avec aq. phys.
+ inocul.	E	±	9,00	0,093	
1/2000	—	} inutilisable. vu opalescence	—	—	
1/2000	E		0	—	
1/5000	E	clair	6,5	0,070	
1/10000	—		2,3	0,027	
1/10000	E	±	13	0,140	
1/25000	E	+	24,2	0,280	
1/25000	E	+	23	0,263	
1/50000	E	+	33,25	0,410	
1/50000	E	+	34,10	0,420	

On notera la régularité des lectures à 1/25.000 et à 1/50.000. En réalité le développement est moindre qu'il n'y paraît, il faudrait soustraire des résultats à 1/10.000, 1/25.000 et 1/50.000 la valeur d'extinction de l'ensemencement et celle propre du milieu (tubes 3 et 7).

Une autre expérience a été faite pour étudier la régularité des résultats. Comme nous l'avons dit, Prigge cite sur 12 tubes observés à la même concentration du produit, les valeurs suivantes : 0,2 — 2 — 0 — 0,5 — 2 — 0,5 — 2 — 1 — 1 — 0,5 — 0,5 — 0,5 (moyenne 0,89) avec des variations extraordinairement fortes : 0 à 2. Même en éliminant le résultat 0 probablement erroné on trouve des variations de 1 à 10 (0,2 à 2).

*Expérience.* Six tubes sont additionnés de Grauméthanol à 1/20.000 et 5 d'entre eux sont ensemencés, plus deux contrôles et examinés après 10 jours.

(\*) Le colorimètre-néphélomètre de Moll est constitué par 2 couples thermoélectriques qui reçoivent symétriquement le rayonnement d'une lampe électrique et sont reliés à un galvanomètre, qui à égalité de rayonnement transmis est au zéro. Entre la lampe et les piles thermoélectriques sont intercalées, outre des filtres, non utilisés dans le cas présent, des cuves contenant l'une la substance à étudier et l'autre un liquide de référence (en notre cas de l'eau physiologique). L'absorption plus ou moins grande du rayonnement par les substances colorées ou particulières détermine une déviation du galvanomètre qui est corrigée par le maniement d'un pont de Wheatstone dont la graduation est faite en % d'extinction ou  $\log_e$  de celui-ci.



Jours	0		10		
			Lecture directe	% extinction	log. <sub>c</sub>
Témoin	E		++	37,6	0,473
1/20.000	—	}	—	3,5	0,038
1/20.000	E			18,6	0,208
1/20.000	E			19,0	0,210
1/20.000	E			19,2	0,213
1/20.000	E			17,5	0,192
1/20.000	E			16,5	0,180
Aq. phys. plus inoculum	E			très faible opalescent	5,0

On notera la régularité satisfaisante des résultats qui est due semble-t-il à la nature du milieu et aux conditions de développement.

On voit que les produits utilisés ont tous une activité appréciable. Il est impossible d'apprécier sûrement l'action comparée de l'acide chaulmoogrique et hydrocarpique vu que un seul des produits est de l'acide chaulmoogrique pur et que l'acide hydno- carpique est en mélange. Le produit 2, acide chaulmoogrique pur, s'est montré bien actif et l'ester 7 (78 % d'acide chaulmoogrique) a l'activité de l'ester 6 (60 % d'acide hydno- carpique) et un peu plus d'action que l'ester 4 (79 % d'acide hydno- carpique). Par contre le produit 9 (75 % d'acide chaulmoogrique a paru moins actif. Il semble difficile de conclure d'après ces différences. S'il faut en juger par les produits 5 et 8, l'acide gorlique — malgré son haut degré d'insaturation — n'est pas spécialement actif.

#### *Action bactéricide.*

J'ai peu étudié cet aspect de la question. La plupart des auteurs ont préféré éprouver l'action inhibante et jugent l'action bactéricide peu prononcée. Lowe (14) a constaté que des bacilles de Stephansky mis en présence d'hydno- carpate de sodium à 1/20 pendant 20 heures sont encore inoculables normalement aux rats. Cependant cet auteur cite la constatation différente de Walker et Sweeney que la concentration à 1/75.000 de dérivés du chaulmoogra, non seulement inhibe le développement, mais encore rend la subculture impossible.

Manalang (15) a étudié le comportement de bacilles de Hansen prélevés sur le cadavre et mis en contact avec des dérivés du chaulmoogra. Il a constaté la disparition de l'acido-résistance au cours du contact, après plusieurs semaines.

En certains cas il y a eu aussi désintégration et disparition des bacilles. L'auteur croit cette méthode d'un certain intérêt pour orienter la thérapeutique.

J'ai mis en contact à 38° pendant 48 heures 2 c.c. de savon médicinal ou du Gynocardate Specia à 1 % et 1‰ avec des bacilles aviaires (IV gouttes). Le contrôle était la même quantité de bacilles dans l'eau distillée. Ces derniers étaient restés cultivables, tandis que les bacilles avaient, au contact des savons, perdu l'aptitude à se multiplier. Bien entendu, les savons avaient été éliminés par lavage-centrifugation; au surplus, les milieux utilisés, réensemencés, après 16 jours, de bacilles normaux se sont montrés propres à la culture, montrant ainsi qu'ils ne contenaient plus de substances toxiques.

Il ne faut donc pas dénier à ces produits une certaine action bactéricide, à dire vrai, à assez forte concentration et en outre aussi marquée avec le savon ordinaire qu'avec le produit chaulmoogrique.

Un essai analogue a été fait aux concentrations 1/1000, 1/2000, 1/4000, 1/8000, 1/16.000, tant avec du savon médicinal qu'avec le produit I de L. Adriaens (l'eau distillée servant encore de milieu contrôle). Seul le savon médicinal à 1 ‰ s'est montré bactéricide, le produit I montrant une action retardante assez forte à la concentration de 1 ‰.

Dans les expériences d'inhibition, j'ai plus d'une foisensemencé les germes qui après des jours de contact ne montraient qu'un faible développement. Le plus souvent la subculture a été positive montrant que le pouvoir bactéricide est inférieur au pouvoir inhibant, qui du reste est lui-même souvent incomplet.

Aucun essai d'inoculation n'a été fait et j'ignore si l'aptitude pathogène est plus vite atteinte que l'aptitude au développement.

*Action sur des microbes non acido-résistants.*

Dans ma note préliminaire j'avais signalé pour le Gynocardate Specia, une action inhibante assez nette sur des bactéries Grampositives, spécialement le charbon. Au contraire, les germes Gramnégatifs utilisés (paratyphique, pyocyanique, Proteus) se sont montrés peu sensibles. Cette activité est moindre pour les savons de L. Adriaens et n'a pas été vérifiée avec les esters.

Le tableau ci-après d'une de ces expériences montre l'assez faible activité de ces produits (sauf pour le Gynocardate).

TABLEAU.

*Des tubes de bouillon de 5 c.c. sont additionnés de divers savons (concentration finale 0,5 ‰) puis laissés 24 h. à l'étuve pour vérifier leur stérilité. Ils sont alors ensemencés (1 anse) puis examinés après 16 h. et 48 h.*

	Staphyloc.		Charbon		Pyocyanique		Alcaligènes	
	16 h.	48 h.	16 h.	48 h.	16 h.	48 h.	16 h.	48 h.
Savons :								
1 . . .	++	++	±	+	±	++	+	+
2 . . .	±	++	±	++	±	+	+	+
3 . . .	++	+++	±	+	+	++	+	+
Médicinal . . .	++	++	+	++	+	+++	+	+++
Gynocardate . . .	-	±	-	-	-	-	-	-
Témoin . . .	++	+++	+	+++	++	+++	+++	+++

CONCLUSION.

1) Le but de cette note n'est pas tant d'établir un fait — acquis antérieurement — que de montrer les avantages d'une méthode qui tant par le milieu utilisé que par le germe ensemencé se prête fort bien à l'obtention de résultats exacts.

Peut-être cependant y a-t-il lieu de tenir compte de la remarque de Prigge et de multiplier les tubes pour chaque concentration du produit expérimenté.

2) Comme Prigge l'a fait remarquer les essais *in vitro* peuvent au moins servir à débrouiller le terrain dans l'obscur question de la chimiothérapie des acido-résistants. Ils peuvent apporter une certaine vraisemblance d'activité *in vivo*, à confirmer du reste expérimentalement. A ce point de vue l'activité *in vivo* du chaulmoogra, en ce qui concerne la lèpre, concorde avec son action *in vitro* (à dire vrai sur d'autres bacilles).

3) Faute de pouvoir expérimenter sur le bacille de la lèpre, le bacille tuberculeux aviaire présente un matériel avantageux puisque pathogène. En matière de tuberculose le milieu de Kirchner se prête aussi à des essais avec la souche humaine, mais il faudrait recourir à la pesée pour juger les résultats.

4) En même temps est confirmée l'action *in vitro* de divers dérivés du chaulmoogra sur les bacilles acido-résistants.

*Institut de Médecine Tropicale Prince Léopold, Anvers.*

*Samenvatting.* — Het meeste aantal auteurs nemen aan dat de chaulmoogra produkten (sensu lato) een remmende invloed uitoefenen op de ontwikkeling der zuurvaste bacillen. Er bestaan nochtans verschillen wanneer het geldt de graad der remming te bepalen.

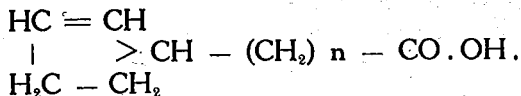
Schrijver toont de voordeelen aan voor de studie *in vitro* dezer remmende invloed, van het gebruik van het voedingsmilieu van Kirchner voor Kochse bacillen. Dit is bijzonder het geval wanneer het water oplosbare produkten betreft.

In voorgenoemde milieu groeit de bakterie in de diepte rechtstreeks in aanraking van de bestudeerde stof.

Verder noch heeft het aanwenden van een stam vogeltuberkulosis ook bijzondere voordeelen : de kultuur groeit fijn korrelig en wanneer geschudt geeft een homogeen troebel waarvan de dichtheid kan worden bepaald, namelijk door nephelometrie.

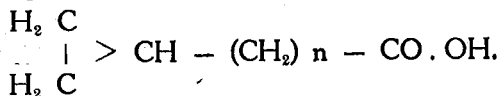
Met deze methode beproefd hebben verschillende produkten afgeleid van chaulmoogra-olie, remmende eigenschappen vertoont in verdunningen van 1/10.000 tot 1/20.000.

Acides hydrocarpique (n = 10) et chaulmogrique (n = 12).

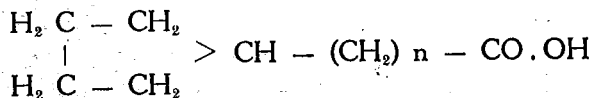


Acides dérivés du

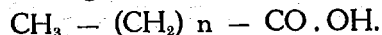
Cyclopropyl.



Cyclopentyl. (si n = 10 : ac. dihydrocarpique)



Acides gras ordinaires.



BIBLIOGRAPHIE.

1. Dubois, A. — Notes pharmacologiques sur le beurre de Caloncoba. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, 1940, t. XX, p. 249.
  2. Schlossberger, H. — Chaulmoograöl und verwandtes. *Hdbuch der Exp. Pharmakol. Ergänzungwerk*, Bd. V, Berlin 1937.
  3. Nélis, P. — Pouvoir bactéricide de certaines huiles, en particulier de l'huile de foie de morue. *C. R. Soc. Biol.*, 1939, vol. 130, p. 329. Voir aussi *Ibidem*, 1938, vol. 127, p. 1423, et vol. 128, p. 28.
  4. Thomas, G. et Nélis, P. — La genèse de l'activité bactéricide des huiles siccatives. *Ann. Inst. Pasteur*, 1942, t. 68, p. 540. Voir aussi *C. R. Soc. Biol.*, 1939, vol. 130, p. 1074.
  5. Solomonides. — Dégénérescence du bacille tuberculeux par addition d'huile d'arachide aux cultures de ce germe sur pomme de terre et en bouillon glycérimé. *C. R. Soc. Biol.*, 1940, t. 133, p. 590.
  6. Gastinel, Nevot et Hebrard. — Influence de l'huile d'olive neutre sur le développement des cultures de bacilles tuberculeux aviaires ou bovins sur milieu de Loewenstein. *Ann. Inst. Pasteur*, 1943, t. 69, p. 43.
  7. Advier et Peirier. — Mode d'action des huiles de Caloncoba et de leurs dérivés sur les bacilles acido-résistants. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1930, t. 23, p. 767.
  8. Darzins. — Recherches sur l'action de l'huile de lin et de l'huile de Chaulmoogra sur les bacilles acido-résistants et sur la tuberculose du cobaye. *Ann. Inst. Pasteur*, 1938, t. 61, p. 172.
  9. Dickshit. — Pharmacology of salts of the fatty acids of chaulmoogra oil P. I. Alepol. *Ind. Jl. Med. Res.*, 1931, t. 19, p. 775.
  10. Prigge, R. — Experimentelle Untersuchungen zur Chemotherapie der Tuberculose. *Klin. Wochenschr.*, 1940, t. 19, n° 50, p. 1273.
  11. Kirchner. — Die Leistungsfähigkeit der Tiefenkultur des Tuberkelbacillus bei Verwendung besonders geeigneter flüssiger-Nährböden. *Zentralbl. Bakt. Orig.*, 1932, vol. 124, p. 403.
  12. Dubois, A. — Inhibition de la culture du bacille de Koch (aviaire) par un savon chaulmoogrique. *Acta Biol. Belgica* (à paraître).
  13. Adriaens, L. — a) Note sur la Composition chimique du beurre de Caloncoba welwitschii.  
b) Note sur la composition chimique du beurre et des graisses de Caloncoba glauca. *Bull. Institut Roy. Col. Belge*, 1941, n° 2, pp. 298 et 304.
  14. Lowe, J. — Studies in rat leprosy. *Ind. Jl. Med. Research.*, 1934-35, t. 22, p. 187.
  15. Manalang. — Comparative effects of different chaulmoogra preparations on *My. leprae* in vitro. *Month. Bull. Bur. Health (Manila)*, 1938, t. 18, pp. 451-460, d'après *Int. Jl. Leprosy*, 1940, vol. 8, n° 2, p. 257.
  - 15a. Manalang. — Removal of acid-fastness from *My. leprae*. Further observation. *Jl. Philip. Isl. Med. Assoc.*, 1938, t. 18, pp. 205-209, d'après *Intern. Jl. Leprosy*, 1940, vol. 8, n° 2, p. 257.
-