

# SOCIÉTÉ DE BIOLOGIE DE SAO PAULO

SEANCE DU 8 MARS & 8 JUIN 1938

## SOMMAIRE

*Séance du 8 mars 1938.*

BÜLLER SOUTO (A.) et LIMA (C.) :  
Action de la vitamine C sur la  
toxine du *B. œdematiens*. 768

BÜLLER SOUTO (A.) et LIMA (C.) :  
Action de la vitamine G sur la  
toxine du *B. histolyticus*. 767

Présidence de M. Barros Erhart.

### ACTION DE LA VITAMINE C

SUR LA TOXINE DU *Bacillus œdematiens*,

par A. BÜLLER SOUTO et Mlle C. LIMA.

Nous avons recherché l'action de la vitamine C sur la toxine du *B. œdematiens*.

*Toxine utilisée.* — Toxine sèche préparée par précipitation du filtrat exempt de germes, d'une culture de 6 jours à 87°, par le sulfate d'ammonium en atmosphère inerte. Le précipité a été recueilli et séché à la température de 2 à 5° sur du chlorure de calcium et ensuite sur de l'anhydride phosphorique jusqu'à poids constant. Trituré et tamisé, il a été conservé dans des ampoules fermées dans le vide. La D.M.M. de cette toxine était 0,000242.

*Vitamine C.* — Nous avons employé la vitamine C (acide l-ascorbique) chimiquement pure (1) à la dilution de 50 mgr. par C.C.; le pH étant 6,6 ( $\pm 0,1$ ).

(1). Nous remercions la Maison Bayer de nous avoir aimablement fourni l'acide ascorbique que nous avons utilisé.

*Animaux d'épreuve.* — Nous avons utilisé des souris réparties en 4 lots étalonnés, du même âge et de poids oscillant entre 15 et 30 gr. Avec un lot de 60 animaux nous avons déterminé la D.M.M. ; avec un autre, de 68 animaux, l'action curative ; avec un troisième, de 78, l'action préventive et avec un dernier, de 100, l'action neutralisante.

Malgré les recherches de Grotova (2) sur la voie d'inoculation qui doit être choisie pour les dosages de la toxine du *B. œdematiens*, nous avons donné la préférence à la technique indiquée par la Société des Nations (3), c'est-à-dire que nous avons fait les inoculations de la toxine du *Bacillus œdematiens* par la voie musculaire ; la vitamine C a été introduite par la même voie.

Des témoins correspondaient à chaque série de recherches. Des tests préliminaires ont révélé 1°) que la toxine supporte bien la dilution en solution physiologique à pH 6,6 (—0,1) ; 2) que des doses de 25 mgr. sont bien tolérées par voie musculaire ; 3) que nos solutions de toxine *œdematiens* ne contiennent pas de cuivre, selon les analyses faites par Slotta.

*Action préventive.* — Pendant 3 jours consécutifs 46 animaux ont reçu 10 mgr. de vitamine C par voie musculaire. Parmi eux, 22 ont reçu une D.M.M., et 24, deux D.M.M. ; 22 animaux ont servi de témoins ; 11 ont été inoculés avec une D.M.M et 11 avec deux D.M.M.

Le temps d'observation a été prolongé à 72 heures, car certains cas ont présenté des modifications après 48 heures d'observation. Les résultats sont réunis dans le tableau I.

Tableau I. — Action préventive de la vitamine C sur la toxine du *B. œdematiens*.

Injections de vitamines C	Doses de toxine en D.M.M.	Nombre d'animaux inoculés	Morts	p. 100	Morts	p. 100	Morts	p. 100
			en 24 h.	en 24 h.	en 48 h.	en 72 h.	en 72 h.	
Trois fois 10 mgr. à 24 h. d'intervalle	1	22	3/22	90,9	3/22	86,3	3/22	86,3
	2	24	9/24	62,5	9/24	62,5	9/24	62,5
	1	11	4/11	63,6	5/11	54,5	5/11	54,5
	2	11	6/11	45,4	8/11	27,2	8/11	27,2

Les résultats sont restés les mêmes après 72 heures.

*Action curative.* — Nous avons tâché d'établir 1°) quelle-est la période maxima pendant laquelle la vitamine C pourrait exercer une action curative ; 2) si des doses répétées de vitamine C auraient une action curative plus grande que des doses uniques.

Soixante-treize animaux ont été distribués en 5 lots : à 3 lots,

(2) H.-W. Grotova. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1937, t. 59, p. 526.

(3) L.-R. Walbum et C. Reymann. *Bull. trimestriel de l'organisation de l'hygiène*, 1935. n° spécial, p. 42.

25 mgr. de vitamine C ont été donnés, respectivement une, deux et cinq heures après l'inoculation d'une et deux D.M.M. de toxine de *B. œdematiens* ; le quatrième lot a reçu 2 doses de 10 mgr. de vitamine C à des intervalles de une et trois heures après avoir reçu la toxine de *B. œdematiens*, et le cinquième lot a servi de témoin. Les résultats sont résumés dans le tableau II.

Tableau II. — Action curative de la vitamine C sur la toxine du *B. œdematiens*.

Intervalles entre l'ino- culation de la toxine et les injections de vitamine C (heures)	Doses		Nombre d'ani- maux inoculés	Morts en 24 h.	p. 100 en 24 h.	Morts en 48 h.	p. 100 en 48 h.	Morts en 72 h.	p. 100 en 72 h.
	D.M.M. en	mgr. en							
1	1	25	8	0/8	100	3/8	63,3	3/8	63,3
1	2	25	6	0/6	100	4/6	33,3	5/6	16,6
2	1	25	8	0/8	100	3/8	63,3	3/8	63,3
2	2	25	6	0/6	100	4/6	33,3	5/6	16,6
5	1	25	8	3/8	63,3	7/8	12,5	7/8	12,5
5	2	25	6	5/6	16,6	6/6	0	6/6	0
1 et 3	1	10 - 10	8	0/8	100	0/8	100	1/8	87,5
1 et 3	2	10 - 10	6	2/6	66,6	5/6	16,6	6/6	0
—	1	—	10	1/10	90	4/10	60	4/10	60
—	2	—	7	2/7	71,4	6/7	14,2	7/7	0

Les résultats sont restés les mêmes après 72 heures.

*Action neutralisante.* — Nous nous proposons de chercher 1°) si la vitamine C neutraliserait la toxine du *Bacillus œdematiens* ; 2°) si cette neutralisation obéirait à la loi des proportions multiples ; 3°) si le temps de contact avait une influence sur le pouvoir neutralisant.

Tableau III. — Action neutralisante de la vitamine C sur la toxine du *B. œdematiens*.

Temps de contact (min.)	Doses		Nombre d'ani- maux inoculés	Morts en 24 h.	p. 100 en 24 h.	Morts en 48 h.	p. 100 en 48 h.	Morts en 72 h.	p. 100 en 72 h
	D.M.M. en	mgr. en							
30	1	10	10	0/10	100	0/10	100	0/10	100
30	1	25	10	0/10	100	0/10	100	0/10	100
30	2	10	10	0/10	100	0/10	100	0/10	100
30	2	25	10	0/10	100	2/10	80	2/10	80
60	1	10	10	0/10	100	0/10	100	0/10	100
60	2	25	10	0/10	100	0/10	100	0/10	100
—	1	T	20	6/20	70	13/20	35	13/20	35
—	2	T	20	14/20	30	20/20	0	20/20	0

Aucun changement après 72 heures d'observation.

La vitamine C, aux doses de 10 et 26 mgr., a été laissée en contact, à 30° et pendant 30 min., avec une et deux D.M.M. de

toxine du *Bacillus œdematiens*. Dans une autre série d'essais, 10 et 25 mgr. de vitamine C sont restés en contact à 30° pendant 60 min. avec une et deux D.M.M. de toxine. Les mélanges ont été injectés par voie musculaire. Les résultats sont résumés dans le tableau III.

*Conclusions.* — 1) La vitamine C (acide l-ascorbique), en augmentant la résistance organique, produit chez les animaux une plus grande résistance contre une D.M.M. de toxine du *Bacillus œdematiens*.

2) La vitamine C a sur la toxine du *B. œdematiens* une faible action curative, qui se manifeste jusqu'à deux heures après l'inoculation d'une et deux D.M.M. de la toxine. La vitamine C n'exerce nulle action curative 5 heures après l'inoculation d'une et deux D.M.M. de toxine. Des doses de 10 mgr. de vitamine C répétées à intervalles d'une et trois heures, ont une action curative nette contre une et deux D.M.M. de la toxine du *Bacillus œdematiens* ; elles sont cependant inactives contre deux D.M.M.

3) La vitamine C a une action neutralisante nette sur la toxine du *B. œdematiens*. Il n'a pas été possible d'observer si cette action neutralisante suit la loi des proportions multiples. Un contact prolongé augmente l'action neutralisante de la vitamine C sur la toxine du *Bacillus œdematiens*.

Nous n'avons pas recherché le pouvoir antigénique des mélanges neutralisés. Des doses de 10 mgr. de vitamine C, ont un pouvoir inactivant plus grand sur deux D.M.M. qu'une dose de 25 mgr. Il semble exister une relation ou un facteur pondéral pour la meilleure neutralisation.

(*Institut Butantan.*)

## ACTION DE LA VITAMINE C

SUR LA TOXINE DU *Bacillus histolyticus*,

par A. BULLER SOUTO et Mlle C. LIMA.

Dans des notes antérieures nous avons exposé le résultat de nos recherches sur les toxines de *B. perfringens*, Vibrion septique et *B. œdematiens*.

*Toxine utilisée.* — Toxine sèche préparée en précipitant par le sulfate d'ammonium le filtrat, exempt de germes, d'une culture de 18 à 20 heures à 37°. Le précipité a été recueilli et séché à basse température sur du chlorure de calcium et ensuite sur de l'anhydride phosphorique jusqu'à poids constant. La D.M.M. de cette toxine était 0,00003.

*Vitamine C.* — Nous avons employé de la vitamine C (acide l-ascorbique) chimiquement pure à la dilution de 50 mgr. par c.c., pH 6,6 ( $\pm 0,1$ ).

*Animaux d'épreuve.* — Nous avons choisi la souris. Nous en avons utilisé 4 lots étalonnés, de même âge et pesant de 17 à 20 gr. Avec un lot de 60 animaux, nous avons déterminé la D.M.M.; avec un autre de 50, l'action préventive; avec un troisième de 60, l'action curative et, avec un dernier de 61, l'action neutralisante. Les inoculations de toxine ont toujours été faites par voie veineuse et les injections de vitamine C par voie musculaire, à l'exception des mélanges neutralisants.

Chaque série de recherches avait ses témoins correspondants. Il a été vérifié 1°) que la toxine supporte la dilution en solution physiologique à pH 6,6 ( $\pm 0,1$ ) ; 2°) que des doses de 25 mgr. sont bien tolérées par les voies musculaire et veineuse ; 3°) que les solutions de toxine ne contenaient pas de traces de cuivre, suivant les analyses faites par Slotta.

Tableau I. — Action préventive de la vitamine C sur la toxine du *B. histolyticus*.

Injections de vitamine C	Doses de toxine en D. M. M.	Nombre d'ani- maux ino- culés	Morts en 24 h.	p. 100 en 24 h.	Morts en 48 h.	p. 100 en 48 h.
Trois fois 10 mgr. à 24 h. d'intervalle	1	18	3/18	83,3	3/18	83,3
	2	18	16/18	11,1	16/18	11,1
	1	15	6/15	40	6/15	40
	2	15	15/15	0	15/15	0

Les résultats sont restés les mêmes après 48 heures d'observation.

*Action préventive.* — Trente-six animaux ont reçu, pendant 3 jours consécutifs, 10 mgr. de vitamine C par voie musculaire.

Ensuite 18 ont reçu une D.M.M. et 18, deux D.M.M. de toxine du *B. histolyticus* ; 30 animaux ont servi de témoins : 15 ont été inoculés avec une D.M.M. et 15 avec deux D.M.M.

Les observations ont été poursuivies pendant 92 heures, des variations n'apparaissant que dans les 48 heures.

*Action curative.* — Nous nous proposons d'établir : 1°) la période maxima, pendant laquelle la vitamine C exercerait son action curative ; 2°) si des doses répétées de vitamine C auraient une action curative plus grande que des doses uniques.

Soixante animaux ont été divisés en 5 lots : 3 lots ont reçu 25 mgr. de vitamine C, une, deux et cinq heures après avoir été inoculés avec une et deux D.M.M. de la toxine du *B. histolyticus* ; le 4<sup>e</sup> lot a reçu 2 doses de 10 mgr. de vitamine C à intervalle d'une et trois heures après l'inoculation de la toxine histolytique ; le 5<sup>e</sup> lot a servi de témoin. Les résultats sont résumés dans le tableau II.

Tableau II. — Action curative de la vitamine C sur la toxine du *B. histolyticus*.

Intervalles entre l'inocula- tion de la toxine et les injections de vitamine C (heures)	Doses de toxine en D.M.M.	Doses de vita- mine C en mgr.	Nombre d'ani- maux inoculés	Morts en 24 h.	p. 100 en 24 h.	Morts en 48 h.	p. 100 en 48 h.
1 .....	1	25	5	1/5	80	2/5	60
1 .....	2	25	5	4/5	20	2/5	20
2 .....	1	25	5	2/5	60	4/5	20
2 .....	2	25	5	3/5	40	5/5	0
5 .....	1	25	5	2/5	60	2/5	60
5 .....	1	25	5	2/5	60	5/5	60
1 et 3 ....	1	10 - 10	5	0/5	100	3/5	40
1 et 3 ....	2	10 - 10	5	5/5	0	5/5	0
— .....	1	T	10	6/10	40	6/10	40
— .....	2	T	10	10/10	0	10/10	0

Les résultats sont restés les mêmes après 48 heures d'observation.

*Action neutralisante.* — Nous avons tâché d'établir : 1°) si la vitamine C neutraliserait la toxine du *B. histolyticus* ; 2°) si cette action neutralisante obéirait à la loi des proportions multiples ; 3°) si le temps de contact exercerait quelque influence sur le pouvoir neutralisant.

La toxine du *B. histolyticus* a été mise en contact avec une D.M.M. de vitamine C, pendant 30 min. à 37°, dans une autre série d'essais une et deux D.M.M. de toxine ont été laissées en contact pendant 60 min, à 30°, respectivement avec 10 et 25 mgr. de toxine.

Les résultats sont résumés dans le tableau III.

*Conclusions.* — 1) La vitamine C (acide l-ascorbique) semble

augmenter la résistance organique des animaux, qui deviennent moins (sensibles à une et deux D.J.V.I.M. de toxine du *B. histolyticus*).

Tableau III. — Action neutralisante de la vitamine C sur la toxine du *B. histolyticus*.

Temps de contact (min.)	Doses de toxine en D.M.M.	Doses de vitamine C. en mgr	Nombre d'animaux inoculés	Morts en 24 h.	p. 100 en 24 h.	Morts en 48 h.	p. 100 en 48 h.
30 ..	1	10	5	1/5	80	1/5	80
30 ..	1	25	5	1/5	80	1/5	80
30 ..	2	10	5	1/5	80	3/5	40
30 ..	2	25	5	3/5	40	4/5	20
60 ..	1	10	10	0/10	100	1/10	90
60 ..	2	25	10	7/10	30	9/10	10
— ..	1	T	11	4/11	63,6	6/11	45,4
— ..	2	T	12	10/12	16,6	10/12	16,6

2) La vitamine C exerce une action curative contre une D.M.M. de toxine. Cette action ne se manifeste qu'une heure après l'injection de toxine. Au bout de 2 heures, elle devient inégale. Des doses répétées de 10 mgr. de vitamine C à des intervalles d'une et trois heures après l'injection d'une et deux D.M.M. n'exercent point d'action curative sur la toxine du *B. histolyticus*.

3) La vitamine C paraît avoir sur la toxine du *B. histolyticus* une action neutralisante, qui ne suit pas la loi des proportions multiples. Le temps de contact n'augmente pas le pouvoir neutralisant de la vitamine sur la toxine.

Nous n'avons pas vérifié si les mélanges neutralisants sont antigéniques. Des dose de 10 mgr, de vitamine C semblent avoir sur deux D.M.M. de toxine du *B. histolyticus* une action inactivante plus grande que des doses de 25 mgr. Il paraît donc y avoir une zone optima de neutralisation.

(Institut Butantan.)

COMPTES RENDUS HEBDOMADAIRES  
DES SÉANCES ET MÉMOIRES

DE LA

**SOCIÉTÉ DE BIOLOGIE**

ET DE SES FILIALES ET ASSOCIÉES :

LES SOCIÉTÉS DE BIOLOGIE D'ALGER, DE BORDEAUX, LILLE,  
LYON, MARSEILLE, NANCY, STRASBOURG, ATHÈNES, BARCELONE  
BELGRADE, MONTEVIDEO, MONTRÉAL;  
LES SOCIÉTÉS DE BIOLOGIE ARGENTINE  
(BUENOS-AIRES, CORDOBA, ROSARIO),  
BELGE, BRÉSILIEUNE (RIO DE JANEIRO, SAO PAULO)  
CHILIENNE (CONCEPCION, SANTIAGO), DANOISE, MEXICAINE,  
POLONAISE (LWOW, VARSOVIE, POZNAN, VILNO), PORTUGAISE  
(LISBONNE, PORTO, COIMBRE), ROUMAINE (BUCAREST, CLUJ,  
JASSY), TCHÉCOSLOVAQUE (BRNO, PRAGUE),  
DE SUÈDE ET DE LETTONIE;  
LA SOCIÉTÉ FRANCO-JAPONAISE DE BIOLOGIE

(90<sup>e</sup> année)

**ANNÉE 1938 - TOME III**

(CENT VINGT-NEUVIÈME TOME DE LA COLLECTION)

**PARIS**

MASSON ET C<sup>ie</sup>, EDITEURS  
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN (6<sup>e</sup>)

1938