

ACTION DE LA VITAMINE C (ACIDE L-ASCORBIQUE)

SUR LA TOXINE DU *Bacillus perfringens*,

par A. BÜLLER SOUTO et Mlle C. LIMA

La gangrène gazeuse est essentiellement une toxémie. La résistance organique joue un rôle capital dans sa pathogénèse. La moindre résistance de l'organisme, conséquence des guerres prolongées, est une des causes de l'extraordinaire fréquence et de la gravité insolite de la gangrène gazeuse.

Au cours d'une série d'expériences portant sur plus de 2.000 souris, nous avons pu constater l'influence *in vivo* de la vitamine C sur la résistance organique aux toxémies gangreneuses, ainsi que son action neutralisante *in vitro*.

L'action de la vitamine C sur les toxines diphtérique et tétanique, parmi d'autres, a été déjà foien observée (1).

Toxine utilisée. — Toxine sèche préparée en précipitant par le sulfate d'ammonium le filtrat d'une culture de *Bacillus perfringens*, de 18 à 20 heures à 87°. Le liquide surnageant recueilli et séché à la température de 2-5°, dans un exsiccateur à vide sur acide sulfurique, a été conservé sur l'anhydride phosphorique. La D.M.M. de la toxine était 0,000/1.

Vitamine C (2). — Nous avons employé une solution de vitamine-C à 50 mgr. par c.c. et dont le pH était 6,6 ($\pm 0,1$).

Animaux d'épreuve — Nous avons choisi les souris, qui, parmi les animaux sensibles, donnent des résultats plus constants, à

(1) E. Harde. *C. R. de l'Acad. des sc.*, 1934, t. 199, p. 618. E. Harde et M. Philippe. *C. R. de l'Acad. des sc.*, 1934, t. 199, p. 788. E. Harde et C.-K. Greenwall. *Proc. Soc. for exper. Biol. and Med.*, 1935, t. 32, p. 1167. C.-W. Jungeblut et B. Zwemer. *Proc. Soc. for exper. Biol. and Med.*, 1935, t. 32, p. 1229. O. Grooten et N. Bezssonoff. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1936, t. 56, p. 413. E. Schulze et U. Hecht. *Klin. Wochenschr.*, 1937, t. 16, p. 1460.

(2) La vitamine C (acide l-ascorbique) nous a été fournie par la maison Bayer, à qui nous présentons nos remerciements.

cause de leur capacité uniforme de synthétiser la vitamine. Nous avons employé 4 lots étalonnés, de même âge et de poids compris entre 17 et 20 gr. La D.M.M. a été fixée avec un lot de 70 animaux; avec un second lot de 168 animaux nous avons déterminé l'action préventive; avec un troisième de 162, l'action «curative et, avec un dernier de 118, l'action neutralisante. Les inoculations de la toxine du *Bacillus perfringens* ont été faites par voie veineuse et les injections de vitamine C par voie musculaire, à l'exception des épreuves sur l'action neutralisante. Chaque série de recherches comportait ses témoins correspondants.

Des essais préliminaires ont été effectués afin de vérifier : 1°) si la toxine supporterait bien la dilution saline à pH 6,6 ($\pm 0,1$) ; 2°) si des doses de 26 mgr. de vitamine C seraient bien tolérées par les souris et par voie veineuse (3) ; 3°) si les solutions de toxine contenaient du cuivre. Des analyses rigoureuses des solutions des toxines, faites par notre collègue Slotta, ont révélé que ces solutions étaient pratiquement exemptes de cuivre.

Action préventive. — On a utilisé un lot de 168 souris, 112 animaux recevant, pendant 3 jours, 10 mgr. de vitamine C par voie musculaire. Ce lot a été subdivisé en 2 autres : un de 55 animaux, qui ont reçu 1 D.M.M. de toxine et l'autre de 57 animaux, auxquels on donna 2 D.M.M. Comme témoin on a pris un lot de 56 souris, parmi lesquelles 26 ont reçu 1 D.M.M. et 30, 2 D.M.M.. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau I.

Tableau I.
Action préventive de la vitamine C sur la toxine du *Bacillus perfringens*.

Intervalles entre les injections :	Doses de vita- mine C en mgr.			Doses de toxine en D.M.M.	Nombre d'ani- maux ino- culés	Nombre de morts en 24 h.	p. 100 après 24 h.	Nombre de morts en 48 h.	p. 100 après 48 h.
	24 h.	10	10	10	1	55	11/55	80	14/55
	10	10	10	2	57	35/57	38,5	38/47	33,3
			T	1	26	11/26	57,6	13/26	50
			T	2	30	30/30	0	30/30	0

Note. — Il n'y a eu aucun changement après 48 heures d'observation.

Action curative. — Nous avons tâché d'établir 1°) quelle serait la plus longue durée de l'activité -curative de la vitamine C contre 1 et 2 D.M.M. de toxine du *Bacillus perfringens* et 2°) si des doses de 10 mgr., répétées à intervalles de une et 3 heures, auraient une action curative plus forte que des doses uniques. A cette fin, 152 animaux ont été divisés en 5 lots : le premier, de 30 animaux,

(3) P. Rohmer, N. Bezssonoff, E. Stoerr et I. Perrier. *C. R. de la Soc. de biol.*, 1935, t. 118, p. 1090.

a été subdivisé en 2 autres de 15 animaux, auxquels on donna, respectivement, 1 D.M.M. et 2 D.M.M., chaque animal recevant, une heure après, 25 mgr. de vitamine C.

Le deuxième lot, de 29 animaux, a aussi été divisé en 2 autres de 15 et 14 animaux, qui ont reçu, respectivement, 1 et 2 D.M.M. de la toxine et, après 2 h., 25 mgr. de vitamine C. Le troisième lot, de 37 animaux, a reçu exactement comme les premiers 1 et 2 D.M.M. de toxine et, 3 h. plus tard, 25 mgr. de vitamine C. Au 4^e lot nous avons injecté, une et 3 h. après l'inoculation de une et 2 D.M.M. de toxine, 10 mgr. de vitamine C. Le 5^o lot, témoin, a reçu seulement une et 2 D.M.M. de toxine. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau II.

Tableau II.

Action curative de la vitamine C sur la toxine du *Bacillus perfringens*.

Intervalle entre l'inoculation de la toxine et l'injection de vitamine C (heures)	Doses de toxine en D.M.M.	Doses de vita- mine C en mgr.	Nombre d'animaux inoculés	Nombre de morts en 24 h.	p. 100 après 24 h.	Nombre de morts en 48 h.	p. 100 après 48 h.
1	1	25	16	3/15	80	5/15	66,6
	2	25	15	14/15	6,6	14/15	6,6
2	1	25	15	4/15	73,3	7/15	53,3
	2	25	14	12/14	14,2	12/14	14,2
3	1	25	15	8/15	46,6	9/15	40,0
	2	25	15	15/15	0,0	15/15	0,0
1 et 3	1	10 - 10	16	4/16	75	4/16	75
	2	10 - 10	16	16/16	0	16/16	0
—	1	T	15	7/15	53,3	7/15	53,3
	2	T	15	15/15	0,0	15/15	0,0

Note. — Il n'y a eu aucun changement après 48 heures.

Action neutralisante in vitro. — Nous avons tâché de vérifier *in vitro* 1^o) si la vitamine C neutraliserait la toxine du *Bacillus perfringens* ; 2^o) si cette neutralisation obéirait à la loi des proportions multiples ; 3^o) si le temps de contact aurait quelque influence sur la neutralisation.

Une D.M.M. a été laissée en contact, pendant 30 min., avec 10 et 25 mgr. de vitamine C et ensuite inoculée respectivement à 15 et 13 souris ; de même, 2 D.M.M. en contact pendant 30 min. avec les mêmes quantités de vitamine C, ont été inoculées à 2 lots de 15 souris. Une autre série d'expériences a été réalisée en laissant en contact, pendant 60 min., une D.M.M. avec 10 mgr. et 2 D.M.M. avec 25 mgr. de vitamine C. 2 lots de 15 souris étant inoculés avec chaque dose ; à 30 souris témoins, en 2 lots de 15, on a inoculé, respectivement, une et 2 D.M.M.

Les résultats sont résumés dans le tableau III.

Tableau III.

Action neutralisante de vitamine C sur la toxine du *Bacillus perfringens*.

Temps de contact (min.)	Doses de toxine en D.M.M.	Doses de vitamine C (en mgr.)	Nombre d'animaux inoculés	Nombre de morts en 24 h.	P. 100 après 24 h.	Nombre de morts en 48 h.	P. 100 après 48 h.
30	1	10	15	7/15	53,3	9/15	40
	1	25	13	7/15	46,1	9/15	30,7
	2	10	15	13/15	13,3	14/15	6,6
	2	25	15	15/15	0	15/15	0
60	1	10	15	9/15	40	10/15	33,3
	2	25	15	15/15	0	15/15	0
	1	T	15	7/15	53,3	7/15	53,3
	2	T	15	15/15	0	15/15	0

Note. — Il n'y a pas eu de changement après 48 heures d'observation.

Conclusions. — 1) La vitamine C semble augmenter la résistance organique de la souris, qui devient moins sensible à l'action de la toxine du *Bacillus perfringens*.

2) La vitamine C exerce une action curative durant 1 heure après l'inoculation de la toxine du *Bacillus perfringens*, elle est inactive quand la toxine a été inoculée 2 et 3 heures auparavant. Des doses répétées de 10 mgr. données 1 et 3 heures à la suite de l'inoculation de une D.M.M., ont une action curative nette, mais sont inactives contre 2 D.M.M.

3) La vitamine C ne montre aucune action neutralisante *in vitro*, même après 60 minutes de contact avec la toxine, et ne suit pas la loi des proportions multiples.

(Institut Butantan, Sao Paulo.)

ACTION DE LA VITAMINE C
SUR LA TOXINE DU VIBRION-SEPTIQUE,

par A. BÜLLER SOUTO et Mlle C. LIMA.

Dans une note précédente nous avons déjà exposé les résultats obtenus par l'action de la vitamine C sur la toxine du *Bacillus perfringens*.

Toxine utilisée. — Toxine sèche préparée en précipitant par le sulfate d'ammonium le filtrat exempt de germes d'une culture de 48 heures à 37°. Le précipité a été recueilli et séché à la température de 7-5°, dans un exsiccateur à vide sur acide sulfurique, et ensuite sur l'anhydride phosphorique jusqu'à poids constant. La D.M.M. de cette toxine était 0,00005.

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

Animaux d'expérience. — Nous avons utilisé la souris : 4 lots étalonnés, de même âge et de poids compris entre 17 et 20 gr. Sur un lot de 50 animaux, nous avons fixé la D.M.M. ; sur un autre, de 83, l'action préventive a été déterminée et, avec un troisième lot de 62 animaux, nous avons établi respectivement l'action curative et l'action préventive.

Les inoculations de la toxine du vibron septique ont été faites par voie veineuse et celles de la vitamine C par voie musculaire, à l'exception des expériences sur l'action neutralisante.

Chaque série de recherches avait ses témoins correspondants. Les expériences parallèles ont montré 1°) que la toxine n'est pas modifiée quand on la dilue dans un liquide à pH 6,6 ($\pm 0,1$) ; 2°) que des doses de 25 mgr. par voie veineuse et musculaire n'ont pas d'effet sur la vie des souris ; 3°) que, dans nos dilutions de la toxine du vibron septique, le cuivre ne dépassait pas la dose de 0,2 gr., selon les analyses effectuées par Slotta.

Action préventive. — Nous avons utilisé un lot de 83 souris, dont 61 ont été injectées pendant 3 jours de suite avec 10 mgr. de vitamine C par voie musculaire. Ce lot a été divisé en 2 parties : 30 ont reçu 1 D.M.M. et à 31 on a injecté 2 D.M.M. de la toxine du vibron septique. 10 animaux témoins ont reçu 1 D.M.M. et à 12 on a injecté 2 D.M.M. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau I.

Tableau I.

Action préventive de la vitamine C sur la toxine du vibron septique.

Intervalle entre les injections :	Doses de vitamine C en mgr.			Doses de toxine en d'animaux D.M.M. inoculés		Nombre de morts après 24 h.	P. 100 après 24 h.	Nombre de morts en 48 h.	P. 100 après 48 h.
	—	—	—	—	—	—	—	—	—
24 h.	10	10	10	1	30	7/30	76,6	7/30	76,6
	10	10	10	2	31	15/31	51,7	15/31	51,7
.				1	10	5/10	50	5/10	50
				2	12	10/12	16,6	10/12	16,6

Note. — Il n'y a eu aucun changement après 48 heures d'observation.

Action curative. — Notre but était de vérifier 1°) si la vitamine C aurait une action curative sur la toxine du vibron septique ; 2°) quel serait le plus long intervalle pour qu'une telle action puisse s'exercer ; 3°) si des doses répétées de 10 mgr. de

(1*) Procurée par la maison Bayer, que nous remercions.

vitamine C auraient une action curative plus grande que des doses uniques.

Un lot de 62 souris a été divisé en 5. Les animaux du premier lot ont été inoculés avec 1 D.M.M. et 2 D.M.M. de toxine, et ont reçu, une heure après, 25 mgr. de vitamine C. Dans le deuxième lot, les animaux ont été injectés avec 1 et 2 D.M.M. et, 2 h. après, avec 25 mgr. de vitamine C. Au 3^e lot, 1 et 2 D.M.M. ont été données et, au bout de 2 h., 25 mgr. de vitamine C. Le 4^e a été inoculé avec 1 et 2 D.M.M. et reçut, aux intervalles d'une et de 5 h., 10 mgr. de vitamine C. Le 5^e lot, qui a reçu 1 et 2 D.M.M., a servi de témoin. Les résultats de cette expérience sont résumés dans le tableau II.

Tableau II.

Action curative de la vitamine C sur la toxine du vibrion septique.

Intervalle entre l'inoculation de la toxine et les injections de vitamine C	Doses de toxine en D.M.M.	Doses de vitamine C en mgr.	Nombre d'animaux inoculés	Nombre de morts en 24 h.	P. 100 après 24 h.	Nombre de morts en 48 h.	P. 100 après 48 h.
—	1	25	5	2/5	60	2/5	60
1	2	25	5	2/5	60	3/5	40
2	1	25	5	2/5	60	3/5	40
2	2	25	5	3/5	40	3/5	40
5	1	25	5	1/5	80	2/5	60
5	2	25	5	3/5	40	4/5	20
1 et 3	1	10 - 10	5	0/5	100	0/5	100
1 et 3	2	10 - 10	5	4/5	20	5/5	0
—	1	—	10	5/10	50	5/10	50
—	2	—	12	10/12	16,6	10/12	16,6

Note. — Il n'y a eu aucun changement après 48 heures d'observation.

Les irrégularités dans l'action antitoxique de la vitamine C, qu'on peut nettement constater dans le tableau II, ont été observées par Harde et Greenwald, Grooten et Bezssonoff.

Action neutralisante. — Nous avons tâché encore ici d'établir : 1°) si la vitamine C neutraliserait la toxine du vibrion septique ; 2°) si cette neutralisation obéirait à la loi des proportions multiples ; 3°) si le temps de contact aurait de l'influence sur le pouvoir neutralisant de la vitamine C.

Des doses de 10 et 25 mgr. de vitamine C ont été mises en contact, durant 30 min. à 30°, avec 1 et 2 D.M.M. de toxine du vibrion septique. Dans une autre série d'essais nous avons laissé des doses égales de vitamine C en contact, pendant 60 min. à 30°, respectivement avec 1 et 2 D.M.M. de toxine du vibrion sep-

SOCIETE DE BIOLOGIE DE SAO PAULO

tique; tous les mélanges ont été injectés par voie veineuse. Les résultats sont résumés dans le tableau III.

Tableau III.

Action neutralisante de la vitamine C sur la toxine du vibrion septique.

Temps de contact min.	Doses de toxine en D.M.M.	Doses de vitamine C en mgr.	Nombre d'animaux inoculés	Nombre de morts en 24 h.	P. 100 après 24 h.	Nombre de morts en 48 h.	P. 100 après 48 h.
30	1	10	5	0/5	100	0/5	100
30	1	25	5	0/5	100	0/5	100
30	2	10	5	3/5	40	3/5	40
30	2	25	5	2/5	60	2/5	60
60	1	10	10	0/10	100	0/10	100
60	2	25	10	0/10	100	1/9	90
—	1	—	10	4/10	60	4/10	60
—	2	—	12	10/12	16,6	10/12	16,6

Note. — Il n'y a eu aucun changement après 48 heures d'observation.

Conclusions. — 1) La vitamine C (acide l-ascorbique) semble conférer à la souris une plus grande résistance à l'action de la toxine du vibrion septique.

2) La vitamine C (acide l-ascorbique) possède une action curative contre 1 et 2 D.M.M., jusqu'à 1 heure après son inoculation ; inoculée au bout de 2 heures, l'action antitoxique est inégale. L'action curative se manifeste jusqu'à 5 heures après, ce qui est la limite actuelle de nos recherches. Des doses répétées de 10 mgr. 1 et 3 heures après l'injection de 1 D.M.M. de toxine du vibrion septique, confèrent la protection à 100 p. 100 des'animaux inoculés.

3) La vitamine C exerce sur la toxine du vibrion septique une action neutralisante qui semble obéir à la loi des proportions multiples. Le pouvoir neutralisant de la vitamine C sur la toxine du *Cl. œdematis-maligni* (vibrion septique) augmente avec le temps de contact.

(Institut Butantan, Sao Paulo.)

SOCIÉTÉ DE BIOLOGIE DE SAO PAULO

SEANCE DU 8 FÉVRIER 1938

SOMMAIRE

BIER (O.) et PLANET (N.) : Sur la perméabilité capillaire dans le phénomène de Shwartzman	68	(C.) : Action de la vitamine C sur la toxine du vibron septique.....	79
BIER (O.) et PLANET (N.) : Sur la présence d'un facteur qui augmente la perméabilité capillaire dans les extraits de peau normale	65	MARTINS (Tn.) : Contractilité et pharmacologie comparée <i>in vitro</i> , de la prostate de, rats normaux et de rats castrés et injectés d'hormones sexuelles.....	71
BÜLLER SOUTO (A.) et LIMA (C.) : Action de la vitamine C (acide l-ascorbique) sur la toxine du <i>B. perfringens</i>	76	TRAVASSOS (J.) : Le chien réservoir de virus possible du typhus exanthématique de Sao Paulo	74
BÜLLER SOUTO (A.) et LIMA			

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, BRÉSILIENNE (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^e année)

ANNÉE 1938 - TOME III

(CENT VINGT-NEUVIÈME TOME DE LA COLLECTION)

PARIS

MASSON ET C^{ie}, EDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN (6^e)

1938