

## Les activités antimicrobiennes des détergents <sup>(1)</sup>

par J. M. GHUYSEN

Pharmacien, Docteur en Sciences Chimiques  
(Laboratoires de Microbiologie générale et médicale de l'Université de Liège. Directeur : Professeur M. Welsch)

Monsieur le Recteur,  
Monsieur le Doyen,  
Messieurs les Professeurs,  
Mesdames et Messieurs,

Arrivé presque au terme des épreuves de l'Agrégation de l'Enseignement Supérieur, j'éprouve, certes, un sentiment de contentement. J'éprouve aussi un sentiment de gratitude envers les Professeurs de cette Université qui, depuis 15 ans, me dirigent, me conseillent et m'aident. Et je suis heureux d'avoir enfin l'occasion de leur exprimer publiquement ma reconnaissance.

Quand, jeune étudiant en pharmacie, je me sentais, bien que confusément encore, attiré par la recherche scientifique, c'est auprès de vous, M. le Professeur Vivario, et de vous, M. le Professeur Stainier, que j'ai trouvé l'encouragement et les conseils éclairés dont j'avais besoin. C'est vous aussi qui m'avez orienté vers les Sciences Chimiques.

Je crois, M. le Professeur Desreux, que l'émotion avec laquelle je me souviens des 3 années passées dans votre Service, conservera longtemps la même saveur. Par votre dynamisme et, permettez-moi de le dire, par votre cordialité, vous savez enthousiasmer les jeunes et c'est, sans nul doute, à vous que je dois mon amour de la Chimie Physique Biologique.

Il y a 5 ans, engagé par la Société des Laboratoires Labaz, vous acceptiez, M. le Professeur Welsch, de me recevoir, en tant que chercheur bénévole, dans vos laboratoires de Microbiologie. Je me rappelle très bien cette première entrevue. Vous m'avez conduit à une table de travail en me conseillant de profiter de ce séjour pour m'intéresser aux activités bactériolytiques des streptomycètes. J'ignorais à ce moment qu'en fait, vous me confiez un problème qui vous tenait personnellement à cœur depuis de nombreuses années et dont vous aviez déjà

élucidé plusieurs aspects. Le travail était passionnant. Pour me faciliter la tâche, vous ne ménageiez ni votre temps, ni vos peines. Vous suiviez scrupuleusement le progrès de mes recherches. Vous en discutiez les conclusions et les projets de façon claire, précise, directe et rigoureuse. Et, par-dessus tout, vous aviez le don de les intégrer dans les grands problèmes de la Microbiologie Générale. Si j'ai eu la chance de pouvoir collaborer pendant quelques mois avec le Dr M. R. J. Salton, dans le département de Microbiologie de M. le Professeur Maitland de l'Université de Manchester, il n'y a pas de doute que je vous suis redevable de l'aide et de la sympathie que j'ai rencontrées là-bas.

M. le Professeur Welsch, je n'exerçais, dans votre Service, aucune fonction universitaire. J'ai cependant reçu de vous tout ce qu'un élève peut attendre d'un Maître. Permettez-moi de vous exprimer toute mon admiration. Permettez-moi aussi de vous dire merci.

\* \* \*

Lorsque deux phases sont incomplètement miscibles, il existe, à leur interface, une certaine tension qui a pour effet de réduire au maximum la surface de contact.

Un grand nombre de substances présentent la curieuse propriété de s'adsorber aux interfaces, en diminuant la tension qui y règne. Ce sont des substances *tensioactives*. Cette propriété est attribuable à une structure particulière de la molécule qui se caractérise par une balance entre un ou plusieurs groupes lyophiles d'une part et lyophobes d'autre part.

Lorsqu'une telle substance est ajoutée à l'eau, la présence des groupes hydrophiles — qui sont généralement des fonctions ionisées ou des chaînes polyglycoliques — tend à la solubiliser. Au contraire, l'eau repousse les groupes hydrophobes qui, eux, sont généralement des chaînes paraffiniques. Ces deux tendances opposées ont pour effet de concentrer la substance à la surface de la phase

(1) Leçon constituant la dernière épreuve pour l'obtention du grade d'Agrégé de l'Enseignement Supérieur en Sciences Pharmaceutiques.



aqueuse et les molécules s'orientent de telle façon que leurs groupes hydrophiles sont dans la phase aqueuse, tandis que les groupes hydrophobes sont dans l'autre phase, pour autant que leur affinité pour cette dernière soit suffisante.

Les substances tensioactives établissent donc une sorte de pont entre deux phases, rendant ainsi moins abrupt le passage de l'une à l'autre.

C'est sur cette propriété qu'est basé un grand nombre d'applications pratiques. Par exemple, la substance tensioactive manifeste des propriétés émulsifiantes lorsqu'elle favorise la dispersion d'une phase liquide dans une autre non miscible. Si, au contraire, elle favorise l'étalement d'une phase liquide sur une surface solide ou, encore, la pénétration de cette phase liquide dans un solide poreux, on dit qu'elle est douée de propriétés mouillantes. Si, enfin, sa présence diminue l'adhérence de deux ou plusieurs phases solides entre elles, elle manifeste des propriétés détergentes.

Ces diverses propriétés physiques des substances tensioactives dépendent, au moins partiellement, de leur état de corps dissous dans la phase liquide elle-même, ainsi que de la structure du film qu'elles forment aux interfaces.

La liberté avec laquelle les molécules peuvent se mouvoir latéralement dans l'interface varie beaucoup selon les cas. Lorsque l'agent tensioactif a pour effet de stabiliser un état particulier d'extension d'un ou de plusieurs interfaces, il tend à former un film de type condensé, liquide ou même solide. Au contraire, si son rôle est dynamique, détersif par exemple, tendant à créer de nouveaux interfaces, le film tend à devenir du type gazeux.

Dans de tels films, les groupements hydrophiles sont, avons-nous dit, localisés dans la phase aqueuse. Cependant, des cas existent où cette orientation est contrecarrée par des forces spéciales, plus puissantes et de sens opposé. Les groupes polaires hydrophiles sont alors orientés vers l'extérieur de la phase aqueuse par suite de liaisons spécifiques avec une phase solide externe. Le caractère hydrophobe de celle-ci est donc augmenté et son pouvoir d'adhésion à la phase aqueuse est diminué d'autant. Une application technique importante de cet effet réside dans la séparation des minéraux par flottation.

Dans une solution concentrée d'un agent tensioactif, toutes les molécules ne peuvent évidemment pas se localiser à l'interface. Qu'advient-il des molécules qui sont obligées de rester dans la phase aqueuse ?

Lorsqu'on examine le comportement des solutions d'une même substance tensioactive à concentration croissante, on observe qu'à partir d'une certaine zone de concentration — dénommée zone critique — la plupart des propriétés physiques varient très brusquement. Ainsi, à partir d'une concentration en sulfate de lauryle égale à 0,25 % environ, le pouvoir détersif de la solution n'augmente plus que très faiblement, tandis que la tension superficielle ne diminue plus que très lentement. Cette zone critique est extrêmement importante, puisqu'elle correspond à une diminution de l'activité de surface effective de l'agent tensioactif. Elle dépend de la température, du pH, et de la force ionique du milieu. Elle dépend également de la structure de l'agent tensioactif et, en particulier, de la longueur de la chaîne paraffinique du groupement hydrophobe. Par exemple, elle est de 0,04 M pour la décylamine ( $C_{10}H_{21}NH_2$ ) et de 0,0003 M pour l'amine homologue en  $C_{18}$ .

A partir de cette zone critique de concentration, on observe également que la pression osmotique n'augmente plus que très faiblement. Le nombre de particules libres dans la solution ne croît donc plus proportionnellement à la quantité d'agent tensioactif solubilisé. Ce phénomène est l'expression d'un compromis entre les deux tendances de solubilisation et d'expulsion auxquelles les molécules sont soumises. Il se traduit par l'agrégation de celles-ci en micelles dont la surface extérieure est constituée par les groupes hydrophiles solubilisants. La forme et la structure de ces micelles est une question toujours actuelle. Plusieurs formes semblent possibles. Pour des concentrations croissantes en agent tensioactif, les micelles, primitivement sphériques, tendent, ainsi que le montre la diffraction aux rayons X, à devenir des formations lamellaires, composées de couches alternées d'eau et de molécules tensioactives doubles. Ces dernières sont d'ailleurs disposées de telle façon que leurs groupes hydrophiles sont dans la couche aqueuse.

\* \* \*

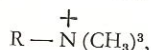


Les substances tensioactives peuvent être classées suivant l'usage auquel elles sont plus spécialement destinées : détergents, émulsifiants, mouillants, agents antimousse, agents de flottation, etc... Ce système ne paraît cependant pas souhaitable. En effet, une même substance tensioactive peut présenter plusieurs de ces propriétés. On ne connaît pas encore les relations qui doivent exister entre ces diverses manifestations et la structure chimique. De deux agents tensioactifs, provoquant un même abaissement de tension superficielle, l'un peut être un excellent émulsifiant, et le second un excellent mouillant. Enfin, il existe dans la littérature une certaine confusion à l'égard de ces différents termes et, particulièrement en biologie, on tend à utiliser le terme détergent, dans un sens lâche, comme synonyme d'agent tensioactif. Nous nous prévaudrons de cet usage dans le choix de quelques exemples qui seront discutés plus loin.

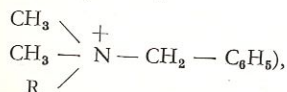
Les substances tensioactives peuvent, plus avantageusement, être classées suivant la nature de leurs groupes hydrophiles. Selon que ceux-ci sont chargés négativement, positivement ou sont électriquement neutres, les agents tensioactifs sont respectivement qualifiés d'anioniques, cationiques ou non ionogènes.

Les tensioactifs anioniques peuvent être des dérivés alkylés, comme des alkylcarboxylates (savons), des alkylsulfonates ou des alcoolsulfates, ou des dérivés arylalkylés, comme les alkylbenzènesulfonates ou les alkyl-naphtalènesulfonates. Parmi les tensioactifs cationiques, nous nous limiterons aux dérivés d'ammonium quaternaire qui comprennent, par exemple : des dérivés alkylés ou arylalkylés d'amine aliphatique :

les alkyltriméthylammonium :

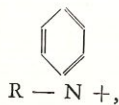


les alkyl-diméthylbenzylammonium :

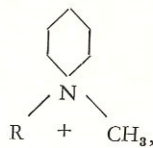


ou des dérivés d'amines cycliques :

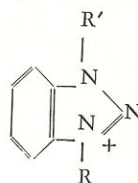
les alkylpyridinium :



les alkylméthylpipéridinium :



les dialkylbenzotriazolium :



Enfin, parmi les agents non ionogènes bien connus en pharmacie, citons, par exemple : les span, les carbowax, les tween.

\* \* \*

Les agents tensioactifs ont reçu des applications importantes en biologie. On utilise les tween pour assurer la dispersion de certaines cultures microbiennes. On utilise les agents antimousse dans la production industrielle de substances d'origine microbienne (enzymes, antibiotiques, vitamines), obtenues par culture en milieu submergé, dans des conditions déterminées d'agitation et d'aération. Certains agents tensioactifs présentent des activités antimicrobiennes, soit qu'ils inhibent la croissance de certaines bactéries, soit qu'ils exercent un véritable effet microbicide. C'est cette activité microbicide qui nous retiendra plus particulièrement.

A la fin du siècle dernier, certains colorants, le violet de méthyle, par exemple, étaient utilisés comme bactéricides. Ces colorants actifs étaient, en fait, des dérivés d'ammonium quaternaire. Des substances analogues ont été obtenues en 1915 par Jacobs et Heidelberger par réaction de l'hexaméthylènetétramine avec divers composés chloroalkylés. Le véritable essor de ces bactéricides date cependant de 1935. A cette époque, Domagk montrait que l'addition, à un dérivé d'ammonium quaternaire, d'une longue chaîne paraffinique, augmentait considérablement son pouvoir bactéricide. Depuis, plusieurs centaines de substances semblables ont été synthétisées et leur pouvoir microbicide éventuel a été recherché systématiquement.



Certains de ces résultats doivent cependant être acceptés avec prudence. En effet, les épreuves usuelles d'activité bactéricide ne peuvent être appliquées aux agents tensioactifs qu'en tenant compte de phénomènes particuliers, telle l'agglutination des bactéries, et des nombreuses possibilités d'inhibition de leur pouvoir bactéricide par suite de la présence de substances organiques telles que protéines et phospholipides. Il est néanmoins possible de tirer de l'ensemble de ces travaux les généralisations suivantes.

1) Les agents tensioactifs non ionogènes ne sont pas bactéricides. Les agents cationiques et anioniques le sont l'un et l'autre et leur activité s'exerce principalement à l'égard des formes microbiennes végétatives. Ils sont, au contraire, pratiquement inactifs sur les formes sporulées.

2) Le pouvoir microbicide ne se manifeste que si les charges électriques de la bactérie, d'une part, et de l'agent tensioactif, d'autre part, sont de sens opposés. Le point iso-électrique de la plupart des bactéries se situant entre pH 3 et pH 5, un milieu neutre ou mieux, légèrement alcalin, est favorable à l'activité des agents cationiques, tandis que l'activité des agents anioniques est d'autant plus prononcée que le pH est plus bas. Du point de vue pratique, on voit que la comparaison de l'activité microbicide de plusieurs détergents n'a de sens qu'aux pH respectivement optima. Ainsi l'aérosol OT, détergent anionique, est inactif sur le staphylocoque à pH 8, tandis qu'à pH 5, il tue ce germe, en 10 minutes, à la dilution de 1/32.000. Inversement, à pH 5, le triton K 12, agent cationique, n'est actif qu'à la dilution de 1/150, tandis qu'à pH 8, il exerce son effet bactéricide à la dilution de 1/10.000.

3) Toute activité bactéricide prononcée est toujours associée à une forte activité de surface. L'inverse n'est pas nécessairement vrai. Ainsi, de 3 agents provoquant un même abaissement de tension superficielle et respectivement non ionogène, anionique et cationique, le premier est inactif sur toute bactérie, le deuxième tue les bactéries gram-positives uniquement, le dernier seul a un spectre bactéricide s'étendant aux germes gram-positifs et gram-négatifs. Cette spécificité traduit certai-

nement l'existence de relations étroites entre la structure moléculaire de l'agent tensioactif et la nature de la bactérie sensible. Ce problème a surtout retenu l'attention des chercheurs dans le cas des dérivés quaternaires et nous examinerons successivement l'influence exercée : par la nature de l'anion associé au cation tensioactif, par la chaîne paraffinique de celui-ci, par la nature de l'atome central quaternaire et, enfin, par celle de la bactérie sensible.

4) Hauser et Nills ont montré que les chlorure, bromure et iodure de cetyltriméthylammonium sont, dans l'ordre donné, progressivement moins tensioactifs. Au contraire, les propriétés microbicides de ces trois corps sont identiques. Il en est d'ailleurs de même lorsque le cetyltriméthylammonium est utilisé sous forme de nitrate, sulfite, acétate, benzoate, hydrocinnamate, fluosilicate ou cyanure.

L'indifférence de la nature de l'anion dans la manifestation du pouvoir microbicide se retrouve d'ailleurs dans d'autres séries d'agents tensioactifs cationiques, les sels de cetylpyridinium ou de dialkylbenzotriazolium par exemple.

5) Une longueur déterminée de la chaîne paraffinique est par ailleurs essentielle. C'est ainsi que, parmi les dérivés d'ammonium quaternaire aliphatiques du type  $R - N^+ \equiv (CH_3)_3$ , où la chaîne paraffinique R renferme entre 6 et 18 atomes de carbone, on constate que l'action bactéricide est maximale pour le composé en  $C_{16}$ . L'effet favorable de ce radical cétylique n'est pas seulement observé dans cette série, dont le dérivé en  $C_{16}$  est le Cetavlon, mais on le retrouve également, par exemple, dans les séries des alkylpyridinium (dont le dérivé en  $C_{16}$  est le Cépryn), des méthylpipéridinium et des alkylbenzyl-diméthylammonium.

6) L'activité bactéricide des sulphonium, phosphonium et arsonium a été recherchée et comparée à celle des dérivés d'ammonium quaternaire correspondants. En règle générale, il apparaît, tout au moins pour les séries chimiques étudiées, que l'activité des ammonium est intermédiaire, entre celle, plus faible, des sulphonium et celles, au contraire supérieures, des phosphonium et des arsonium.



7) Enfin, il existe une relation étroite entre la structure de l'agent tensioactif microbicide et la nature du germe utilisé. Ainsi, dans la série des dérivés aliphatiques d'ammonium quaternaire, le dérivé cétylique est le plus actif, conformément à la loi générale qui vient d'être énoncée, sur la plupart des germes étudiés. Toutefois, dans cette même série, ce sont cependant les composés en C<sub>6</sub>, C<sub>8</sub> et C<sub>12</sub> qui sont les plus actifs dans le cas particulier de *Salmonella typhosa*.

On voit que, dans une série de dérivés quaternaires aliphatiques ou cycliques tensioactifs, le pouvoir microbicide est déterminé par la longueur de la chaîne paraffinique, par la nature de l'atome quaternaire, par la nature de l'organisme sensible et, enfin, par les conditions elles-mêmes, et en particulier le pH, du milieu dans lequel l'activité est mesurée.

\* \* \*

En recherchant l'existence d'une relation entre la structure des agents tensioactifs et leurs propriétés microbicides, nous avons mis l'accent sur les dérivés d'ammonium quaternaire qui ont été plus particulièrement étudiés à cause de leur intérêt pratique. En effet, leur caractère cationique leur confère un spectre bactéricide s'étendant aux bactéries gram-positives et gram-négatives. Leurs conditions de production sont économiques. Ils ne sont pas irritants pour la peau et peuvent être appliqués sur les plaies ouvertes. Leur pouvoir détersif et mouillant est souvent supérieur à celui des savons. Enfin, utilisés aux concentrations microbicides, leurs solutions sont dépourvues de toxicité, de goût et d'odeur. Leurs applications pratiques sont multiples : lavage de la vaisselle, nettoyage des boîtes de lait et d'autres équipements agricoles et industriels, comme les tanks de brasserie, désinfection de l'eau, décontamination des coquilles préalablement à la fabrication de poudre d'œufs, etc.

On les a également proposés dans la désinfection des instruments chirurgicaux, voire même la stérilisation de ceux-ci. Il a cependant été démontré que si la surface extérieure d'un film d'une substance tensioactive est microbicide et s'autostérilise, la surface interne de ce film ne l'est pas. Au contraire, les bactéries peuvent survivre sous ce film et être libérées

lorsque celui-ci est brisé par un agent chimique ou physique quelconque. Enfin, les agents tensioactifs microbicides sont utilisés dans le traitement local d'infections superficielles diverses.

\* \* \*

Quel est le mécanisme de l'activité microbicide des agents tensioactifs ?

A. Il est bien établi qu'il n'existe pas de relation étroite, ainsi que nous l'avons dit précédemment, entre l'activité bactéricide et les propriétés tensioactives. L'action microbicide relève d'un mécanisme certainement beaucoup plus complexe et plus spécifique.

B. Certaines théories ont attribué l'action microbicide de ces substances à leurs interactions avec des protéines bactériennes, et particulièrement avec celles qui possèdent une activité biologique hautement caractérisée, comme les enzymes indispensables à la vie bactérienne. Rappelons, en effet, que les agents tensioactifs présentent de grandes affinités pour les protéines. Ces interactions se manifestent par la précipitation ou la formation de complexes variés, de même que par la dénaturation ou l'inactivation de la protéine.

Toutes ces interactions présentent un parallélisme assez étroit avec l'effet bactéricide et nous passerons brièvement en revue les principaux facteurs qui les régissent : nature ionique de l'agent tensioactif, longueur de sa chaîne paraffinique, pH, rapport des masses agent tensioactif/protéine.

a) Lorsque le rapport des masses est convenable, tensioactif et protéine s'associent en un complexe insoluble, si les conditions de pH sont telles que leurs charges électriques respectives sont de signe opposé. Ainsi, la séralbumine de bœuf, dont le point isoélectrique est de 4,7, forme avec le lorol, agent tensioactif anionique, et le cétyldiméthylbenzylammonium, agent tensioactif cationique, des complexes insolubles à pH respectivement inférieur à 4,7 et supérieur à celui-ci. Un comportement semblable a été retrouvé à partir d'un grand nombre de protéines : les toxines botuliniques A et B, par exemple, ou divers enzymes cristallisés. Ajoutons que la formation de tels complexes insolubles ne peut être obtenue par des agents tensioactifs non ionogènes.



b) A pH convenable, la formation du complexe insoluble protéine-agent tensioactif est fonction du rapport des masses des deux réactifs. Lorsque la séralbumine de bœuf est en excès par rapport au cétaldiméthylbenzylammonium, la précipitation est nulle ou incomplète. Pour une proportion convenable des deux substances, la précipitation devient complète : les concentrations sont dites équivalentes. Pour un excès d'agent tensioactif, le complexe se forme mais est dispersé et la solution se clarifie. Le point d'équivalence est indépendant de la concentration en protéine. Les interactions qui aboutissent à la précipitation du complexe présentent donc un caractère stœchiométrique.

c) Les caractéristiques de ces divers complexes dépendent également de la structure de l'agent tensioactif et, en particulier, de la longueur de la chaîne paraffinique. Ainsi, lors de la précipitation, à pH 3, des complexes insolubles formés par interaction entre la toxine botulinique B et divers tergitols, agents tensioactifs anioniques, on constate que si la chaîne paraffinique de ceux-ci contient respectivement 8 et 17 atomes de carbone, les valeurs correspondantes des rapports des masses sont égales à 180 et 0,8. L'addition à la chaîne paraffinique de 9 atomes de carbone diminue donc d'environ 200 fois la quantité d'agent tensioactif nécessaire pour précipiter quantitativement la protéine.

d) Enfin, les agents tensioactifs sont de puissants dénaturants des protéines. Rappelons que cette dénaturation peut se manifester par l'apparition de certains groupes réactifs inertes ou cachés dans la protéine native, par une forte augmentation de la viscosité relative et de l'asymétrie moléculaire — indices d'un déroulement de la molécule protéinique du type globulaire à l'état natif — par des modifications de poids moléculaire et des caractères de solubilité, par la perte de l'activité biologique spécifique. Si, à ce point de vue, les agents tensioactifs sont comparés à des agents dénaturants neutres, comme l'urée ou le chlorhydrate de guanidine, on est frappé, d'une part, par la minime quantité de tensioactif nécessaire pour réaliser la dénaturation et, d'autre part, par le caractère généralement irréversible de celle-ci.

On sait, par exemple, que certaines protéines sériques, régénérées après dénaturation par l'urée, manifestent encore leurs caractéristiques immunologiques spécifiques. Au contraire, une réversibilité, même partielle, du phénomène n'est que très rarement observée après dénaturation par des quantités, cependant relativement très faibles, d'agents tensioactifs.

Ces diverses considérations montrent que l'hypothèse, émise en particulier par Machebœuf et Polonovski, et selon laquelle l'action microbicide des agents tensioactifs serait attribuable à leur interaction avec certaines protéines bactériennes provoquant, par exemple, le blocage ou l'inhibition d'enzymes cellulaires vitaux, semble s'appuyer sur des faits expérimentaux solides. L'abaissement de l'activité métabolique de la cellule bactérienne sous l'action des agents tensioactifs est d'ailleurs un fait unanimement constaté.

Cette interprétation du mécanisme de l'activité microbicide des agents tensioactifs a eu une grande faveur. Cependant, elle ne peut être considérée comme susceptible d'application générale. En effet, la viabilité du germe sensible est, le plus souvent, affectée par des concentrations en détergent significativement plus faibles que celles nécessaires aux diverses formes d'interactions qui viennent d'être passées en revue.

C. D'autres mécanismes ont dû être recherchés. Nous exposerons l'état actuel de cette question.

a) En tout premier lieu, l'agent tensioactif est adsorbé par la cellule bactérienne sensible. Ce phénomène est réversible, au moins partiellement et dans les premiers temps de l'action. Il présente parfois un certain caractère compétitif. Ainsi, l'action microbicide d'un tensioactif peut éventuellement être diminuée par traitement préalable de la bactérie par un autre agent tensioactif non microbicide ou, plus simplement encore, lorsque cette bactérie est traitée simultanément par les deux agents tensioactifs. L'adsorption sur la bactérie peut présenter la forme d'une adsorption isothermique, ainsi que Salton l'a montré lors de l'adsorption du Cetavlon par *E. coli* et *S. aureus* par exemple. Toutefois, à saturation, la quantité d'agent tensioactif adsorbé est 10 à 20 fois supérieure à la quantité nécessaire pour former



une couche monomoléculaire couvrant la surface bactérienne. Les molécules tensioactives sont donc adsorbées sur d'autres sites que ceux directement accessibles à la surface de la paroi cellulaire.

b) L'adsorption est immédiatement suivie par une solubilisation importante de certains constituants cellulaires : des bases puriques et pyrimidiques, des pentoses, des acides aminés libres, du phosphore inorganique. Lorsque la concentration en agent tensioactif microbicide est inférieure à celle requise pour tuer 100 % des bactéries, il y a proportionnalité directe entre la libération des dérivés d'acide nucléique et le pourcentage de cellules tuées. Cette libération de matériel endocellulaire se réalise en quelques minutes. Elle équivaut — sans que le système autolytique y intervienne — à celle que l'on obtient en plongeant les cellules dans de l'eau bouillante. C'est d'ailleurs ce que confirme l'examen au microscope électronique des cellules bactériennes traitées par un détergent microbicide. On constate, en effet, qu'elles ont perdu la plus grande partie du matériel responsable de leur densité électronique et apparaissent comme des sacs plats et vides. Parfois aussi, le cytoplasme s'est contracté en rendant apparente la paroi cellulaire.

L'agent tensioactif adsorbé provoque donc, immédiatement, une altération de la perméabilité cellulaire. De ce fait, il doit vraisemblablement agir au niveau de la membrane cytoplasmique, organe régulateur des échanges entre le cytoplasme bactérien et le milieu extérieur.

Cette interprétation qui, à l'heure actuelle, est souvent étendue à la généralité des agents tensioactifs, a été clairement démontrée dans le cas de la polymyxine.

c) Les polymyxines — A, B, C, D et E — appartiennent au groupe des antibiotiques polypeptidiques cycliques. D'un poids moléculaire de 1200 environ, elles présentent un caractère basique et contiennent, outre certains acides aminés, de l'acide  $\alpha, \gamma$ -diaminobutyrique et un acide gras saturé en C<sub>9</sub>, l'acide 6-méthyl-octan-1-oïque. Cette structure particulière confère aux polymyxines des propriétés tensioactives remarquables. Elles sont également fortement microbicides et particulièrement actives sur les bactéries gram-

négatives. Le mécanisme de l'action microbicide de la polymyxine a été étudié par Newton au moyen de techniques extrêmement ingénieuses.

La polymyxine s'adsorbe sur les cellules microbiennes. Le site exact de cette adsorption a été précisé grâce à l'emploi d'un dérivé fluorescent de la polymyxine obtenu par réaction du 1-diméthylaminonaphtalène-5-sulfonyle avec le groupe  $\gamma$  aminé de l'acide  $\alpha, \gamma$ -diaminobutyrique. La distribution de ce composé — dont l'activité microbicide est égale à celle de la polymyxine non modifiée — a été étudiée chez un certain nombre d'organismes sensibles. Après traitement, les cellules ont été désintégrées et différentes fractions ont été obtenues par centrifugation différentielle. Il a été ainsi constaté que 90 % de la polymyxine fluorescente sont associés à une petite particule qui sédimente à 100.000 G, tandis que 10 % seulement sont fixés par les parois cellulaires. Les parois isolées sont cependant capables d'adsorber quantitativement le dérivé fluorescent, mais si, après adsorption, elles sont ultérieurement mises en incubation avec les petites particules sédimentant à 100.000 G, la polymyxine fluorescente en est réversiblement désorbée au profit de ces dernières. D'autre part, celles-ci ont été, au cours d'autres travaux, identifiées aux débris de la membrane cytoplasmique. L'examen microscopique de *Bacillus megaterium* traité par la polymyxine modifiée, montre d'ailleurs clairement que la fluorescence s'est localisée aux structures anatomiques extérieures au cytoplasme. De plus, si ces bactéries sont ensuite traitées par le lysozyme, dans des conditions telles que la digestion de la paroi cellulaire n'est pas suivie de la lyse du micro-organisme, on obtient des protoplastes fluorescents, confirmant donc parfaitement l'adsorption de l'agent tensioactif au niveau de la membrane cytoplasmique. Newton a enfin étudié la nature chimique des constituants de celle-ci avec lesquels la polymyxine se combine. Dans ce but, il a comparé le classement de divers cations selon, d'une part, la concentration à laquelle ils annulent la charge électrique de divers types de colloïdes dont les groupements ionogènes sont respectivement des ester-phosphates (lécithine), des carboxyles (pectinate) ou des ester-sulfates (sulfate de



chondroïtine) et selon, d'autre part, la concentration à laquelle ces mêmes cations protègent la bactérie lorsque celle-ci est ultérieurement traitée par la polymyxine. On constate que l'affinité des cations examinés pour les colloïdes ester-phosphates correspond exactement à l'effet de protection qu'ils exercent sur la bactérie. Il est donc vraisemblable que la polymyxine se combine avec les groupes phosphates ionisés des constituants phospholipidiques de la membrane cytoplasmique.

L'adsorption sélective de la polymyxine sur la membrane cytoplasmique n'est pas toujours aussi clairement démontrée. Il existe des cas où elle se distribue également entre la paroi cellulaire et la membrane cytoplasmique. De plus, les membranes cytoplasmiques présentent, suivant la nature de la bactérie, des degrés variables de différenciation. En particulier, chez beaucoup de bactéries gram-négatives, elle serait étroitement associée à la paroi cellulaire elle-même.

\* \* \*

On peut cependant concevoir logiquement le mécanisme de l'action microbicide des

agents tensioactifs de la façon suivante. L'agent tensioactif est adsorbé par la cellule bactérienne. Il se répartit parmi les diverses structures anatomiques extérieures, et en particulier sur la membrane semi-perméable responsable des échanges osmotiques entre l'extérieur et le cytoplasme lui-même. Cette membrane est « désorganisée » par suite d'une diminution de sa tension superficielle, consécutive à la combinaison de la molécule tensioactive avec certains groupes ionisés spécifiques. Ceci provoque une libération de divers constituants cytoplasmiques et la mort de la bactérie.

#### BIBLIOGRAPHIE

(limitée à quelques revues ou articles généraux)

- GLASSMAN, H. N. — Surface active agents and their application in bacteriology. *Bacteriol. Rev.*, 1948, 12, 105.
- GLASSMAN, N. H., — The interaction of surface active agents and proteins. *Annals New York Academy of Science*, 1950, 53, 91.
- MOILLIET, J. L. et COLLIE, B. — Surface activity, edited by E. and F. N. Spon Ltd, London, 1951.
- NEWTON, B. A. — The properties and mode of action of Polymyxin. *Bacteriol. Rev.*, 1956, 20, 14.

## Extraits des colloquia médico-chirurgicaux de gastro-entérologie

Hôpital Universitaire de Liège

SÉANCE DU 15-1-1957

### 1. — Dr L. Ruyters : Dyspepsie hypersthénique en rapport avec la présence d'un duodénum mobile.

C... Giuseppe, mineur italien, âgé de 34 ans, se plaint depuis 1952 de douleurs épigastriques et sous-costales droites, immédiatement post-prandiales, de type « crampes », exacerbées par les mets acides. L'appétit est médiocre. Il est constipé. Il consulte notre Policlinique en novembre 1953.

L'examen radiologique de l'estomac, pratiqué à l'époque (clichés 1 et 2), met en évidence la présence d'un duodénum mobile, auquel nous

attribuons les troubles dyspeptiques et que nous traitons par régime et alcalins. Le malade a subi, en 1952, une laparotomie exploratrice qui n'a montré aucune anomalie et n'a amené aucune amélioration des douleurs. Nous ne le revoyons plus pendant 2 ans.

Il vient nous consulter à nouveau en juillet 1955; les douleurs sont continues, exacerbées par les repas et de plus en plus fortes. De nouveaux examens radiologiques permettent de retrouver le duodénum mobile qui cette fois présente une forte dilatation et constitue une obstacle important à l'évacuation. On ne peut exclure un obstacle organique au niveau du genu superius.