

Medicine. — *Le kation Mg⁺⁺ et la lyse de Bacterium megatherium par le Bactériophage antimegatherium.* Par P. C. FLU. (Communicated by Prof. J. VAN DER HOEVE.)

(Communicated at the meeting of October 29, 1938.)

Des recherches au sujet de la marche de la lyse de *Bacterium megatherium* par le bactériophage *megatherium* dans les milieux d'Uschinsky et de Fraenkel ont donné les résultats suivants.

Le *Bacterium megatherium* 899, la souche spontanément lysogène, isolée par DEN DOOREN DE JONG se développe à souhait dans ces milieux, cependant d'une façon plus proliférante et plus forte dans le milieu d'Uschinsky que dans celui de Fraenkel. Le bactériophage naît dans ces milieux pendant cette période de croissance aussi après qu'on a fait à plusieurs reprises de nouvelles transmissions sans qu'on ait intercalé d'autres milieux.

La souche de *Bacterium megatherium* 338 que j'ai rendue lysogène¹⁾ se développe également dans ces deux milieux, mais moins bien dans celui de Fraenkel que dans celui d'Uschinsky. Tandis que le bactériophage naît toujours chez 338 lorsque cette souche est cultivée dans le milieu d'Uschinsky et également dans de nombreuses transmissions faites dans ce milieu, la formation du bactériophage est imparfaite dans les cultures préparées dans le milieu de Fraenkel. Il est le plus souvent impossible de démontrer par la lyse l'existence du bactériophage dans un milieu liquide au bout de quelques passages à travers ce milieu. En ces cas-là il est quelquefois possible de constater la présence du bactériophage en examinant le milieu au sujet de formation de plages.

On constate nettement la différence entre ces milieux lorsqu'on fait passer la lyse de *Bacterium megatherium* 338 lysable dans les milieux d'Uschinsky et de Fraenkel. Tandis que la lyse se fait à souhait dans le milieu d'Uschinsky et que dans les transmissions en séries le bactériophage s'accroît toujours, la lyse dans le milieu de Fraenkel évolue mal, pour cesser le plus souvent après la première transmission, quelquefois après la seconde, mais toujours après la troisième. Comme il résulte des recherches le bactériophage disparaît du milieu.

La composition des milieux d'Uschinsky et de Fraenkel tels que je m'en suis servi dans mes recherches est la suivante:

USCHINSKY:	Sulfate de magnésie	0.2 g
	Chloride de calcium	0.1 g
	Asparagine de soude	3.4 g
	Lactate d'ammonium	6.— cmc
	Phosphate de potassium	2.— g
	Chloride de soude	5.— g
	Glycérine	30.— cmc
	eau dist. ajoutée	1000.— cmc
	pH = 7.5	

FRAENKEL:	Phosphate de soude	2.— g
	Lactate d'ammonium	6.— g
	Asparagine	4.— g
	eau dist. ajoutée	1000.— cmc
	pH = 7.5	

Le milieu de Fraenkel se distingue donc de celui d'Uschinsky par l'absence de glycérine et la carence de sels.

STASSANO et DE BEAUFORT¹⁾ et après eux BORDET²⁾ et BORDET et RENAUX³⁾ ont insisté sur le fait que la lyse ne se produit pas chez certains bactériophages en l'absence de l'ion de calcium et BORDET a démontré en outre que les souches lysogènes continuent à former ce bactériophage également dans un milieu dépourvu de calcium. Ils ont cependant constaté que le bactériophage produit par ces souches n'est pas capable de lyser des souches de bactéries dans un milieu dépourvu de calcium. BORDET croit voir dans ce fait une preuve de sa théorie que le bactériophage est un produit du microbe, puisque BORDET et RENAUX disent: „L'aptitude à produire ce principe (le bactériophage) est inscrite dans la trame du microbe, elle est inhérente à sa physiologie”⁴⁾.

Or les milieux synthétiques de Fraenkel et d'Uschinsky offraient un excellent moyen de rechercher si en effet le Ca⁺⁺ remplissait dans la lyse de *megatherium* le rôle qu'il aurait dû jouer, d'après BORDET, dans la lyse de *Bacterium shiga*, produit par le bactériophage du *Bacterium coli* lysogène de CARÈRE et LISBONNE⁵⁾.

Au cours d'une recherche j'avais constaté que dans le bouillon oxalaté de BORDET (bouillon Martin ordinaire auquel on a ajouté 1 p.m. d'oxalate de soude), le *Bacterium megatherium* 899 continuait à produire après plus de 20 transmissions le bactériophage et tout aussi bien que dans le bouillon ordinaire.

¹⁾ H. STASSANO et A. G. DE BEAUFORT, C. R. Hebd. d. 1. Soc. d. Biol., **93**, 1380 (1925).

²⁾ J. BORDET, C. R. Hebd. Soc. d. Biol. **94**, 403 (1925).

³⁾ J. BORDET et E. RENAUX, Ann. d. l'Inst. Pasteur, **42**, Année, No. 11, 1283—1335 (1928).

⁴⁾ p. 1320, l.c.

⁵⁾ Compt. rend. Soc. de biol., **88**, 724 (1923).

¹⁾ P. C. FLU, Zentralbl. f. Bakt., Parasitenk. und Infektionskr., **120**, 1—15 (1931).

La souche lysogène que j'avais préparée faisait la même chose, mais les plages étaient si petites qu'on ne pouvait les distinguer nettement qu'en se servant d'une loupe. Il parut alors que dans une concordance parfaite avec les faits constatés par BORDET et RENAUX la lyse du *Bacterium megatherium* 338 sensible par le bactériophage de mégatherium ne se produisait pas dans le bouillon oxalaté et que déjà après la quatrième transmission en séries le bactériophage avait disparu complètement des filtrats.

Des milieux d'Uschinsky et de Fraenkel avec ou sans $MgSO_4$ ou $CaCl_2$ ont été infectés de *Bacterium megatherium* 338 sensible et avec 0.2 cmc d'une suspension de bactériophage megatherium. J'avais obtenu la suspension du bactériophage en suspendant une souche de 20 heures de *Bacterium megatherium* 899 lysogène dans de l'eau distillée et en filtrant cette suspension à travers la bougie filtrante Chamberland L_3 .

Après un séjour de 16 heures à une température de 37 centigrades le contenu des tubes fut filtré et on a examiné le filtrat de la même manière. Comme je savais qu'en filtrant à travers des bougies Chamberland L_3 des suspensions de bactériophages dans des solutions salées, le bactériophage est adsorbé, on avait mélangé le milieu synthétique avec un dixième de la quantité de bouillon, avant de procéder à la filtration. Puis on a étalé 0.1 cmc du filtrat sur une plaque de gélose peptonisée enduite de 338 sensible et on a compté à l'aide de la „pipe” les plages qui s'étaient formées. On trouvera le résultat ci-dessous.

TABLEAU I.
Influence de $MgSO_4$ sur l'évolution de la lyse et de la formation de plages de *Megatherium* par le Bactériophage.

Caractère du milieu où a lieu la lyse de <i>Bacterium megatherium</i> 338 sensible au moyen de bactériophage megatherium.							
	USCHINSKY	USCHINSKY + $MgSO_4$ - $CaCl_2$	USCHINSKY + $CaCl_2$ - $MgSO_4$	USCHINSKY - $CaCl_2$ - $MgSO_4$	FRAENKEL	FRAENKEL + $MgSO_4$	FRAENKEL + $CaCl_2$
1	~	≅	20	20	25	≅	85
2	≅	≅	0	0	0	≅	0
3	~	≅	0	0	0	≅	0

0 = point de plages

≅ = érosion complète de la couche de microbes.

Des expérimentations répétées ont donné toujours le même résultat avec de légères variations, c.-à-d. que dans un milieu où le Mg^{++} faisait défaut, le bactériophage de megatherium n'était pas capable de résoudre le megatherium 338 sensible et qu'en transmettant les filtrats le bactériophage disparaissait.

On constate que non seulement le Ca^{++} ne jouait aucun rôle dans la lyse, mais qu'il semblait même exercer une influence défavorable.

Un examen plus approfondi au sujet des quantités minima de $MgSO_4$ qu'il faut ajouter à des milieux de culture privés de Ca^{++} et de Mg^{++} , comme ceux de Fraenkel, afin de les rendre propres au développement de la lyse, ont appris que tandis que la lyse était complète lorsqu'on avait ajouté 0.0005 N $MgSO_4$ et que le bactériophage se multipliait aussi sur le mégatherium 338 quand on le transmettait dans des milieux contenant ces éléments, la lyse tout comme la multiplication du bactériophage n'avaient pas lieu quand on n'ajoutait que 0.0001 N.

On ne pouvait se passer d'un minimum de 60 mg de $MgSO_4$ par litre de Fraenkel et également par litre des autres milieux pour assurer la marche normale de la lyse. Des recherches postérieures ont appris que c'est le kation et non pas l'anion qui joue le rôle spécifique.

Tandis qu'on ne pouvait remplacer la magnésie par aucun des autres kations qu'on a examinés à ce sujet (Co^{++} , Cu^{++} , Al^{+++} , Sr^{++} , Fe^{++} , Fe^{+++} , Cd^{++} , Ca^{++} , Ba^{++} , La^{++} , Ce^{++}), l'évolution de la lyse se passait tout aussi bien quand on se servait de $MgCl_2$, MgJ_2 et MgC_2O_4 que lorsqu'on prenait $MgSO_4$.

En rapport avec le fait que dans le bouillon de culture oxalaté la lyse de megatherium 338 ne se présente pas, l'influence de l'oxalate de magnésie exigeait une analyse plus approfondie. J'avais constaté au cours d'une recherche sur l'influence des anions sur des bactériophages suspendus dans l'eau distillée que $C_2O_4^{--}$ surtout exerçait une influence fortement délétère sur les bactériophages.

On examina l'influence de $C_2O_4^{--}$ de la façon suivante. On ajouta à 100 cmc des solutions du sel dans de l'eau distillée une certaine quantité d'une suspension de bactériophage megatherium dans l'eau distillée (voyez plus haut p. 1158) jusqu'à ce qu'il y eût à peu près 1000 bactériophages par 0.1 cmc du liquide. Immédiatement après ceci et aussi lorsque les liquides mélangés de bactériophages avaient reposé des laps de temps différents par une température de 26 centigrades, on faisait l'épreuve du bactériophage de 0.1 cmc en ajoutant 0.5 cmc d'une suspension de Megatherium 338 sensible, vieille de 20 heures dans du bouillon. On étalait 0.2 cmc de ce mélange (bactériophage et suspension de microbes sur la gélose peptonisée, qui avait été versée préalablement dans des écuelles de Petri.

Voici le résultat d'une de ces expérimentations (Tableau II).

0.01 N. oxalate de soude contient 800 mg du sel par litre et ce degré de concentration a une influence délétère sur le bactériophage, influence nettement perceptible après une expérimentation telle que nous venons de la décrire. Cette influence est due entièrement à l'anion.

L'oxalate de magnésie n'exerce aucune influence délétère sur le bactériophage même dans la solution la plus fortement concentrée aqueuse qui soit possible, c.-à-d. de 300 mg par litre. Si l'on prend comme solvant

TABLEAU II.

Influence de l'oxalate de soude sur le bactériophage megatherium.

Caractère du liquide qui a influencé le bactériophage	Nombre de bactériophages par 0.1 cmc après séjour à une température de 36 centigrades pendant			
	0 heure	3 heures	6 heures	24 heures
Aqua destillata PH 7.2	1204	970	663	694
0.250 N. Oxalate de soude	1204	92	22	0
0.125 N. Oxalate de soude	1204	6	1	0
0.05 N. Oxalate de soude	1204	2	0	0
0.02 N. Oxalate de soude	1204	0	0	0
0.01 N. Oxalate de soude	1204	522	223	4

le milieu de culture de Fraenkel on constate au contraire que la production augmente (cf. Tableau III).

TABLEAU III.

Influence favorable de la magnésie oxalatee sur la lyse du bactériophage megatherium.

Caractère du liquide	Nombre de bactériophages par 0.1 cmc		
	Immédiate	1e transmission	2e transmission
FRAENKEL + 300 mg. MgC_2O_4 + Meg. 338 lysable + bactériophage	350	≈	≈
FRAENKEL + 200 mg. MgC_2O_4 + Meg. 338 lysable + bactériophage	65	≈	≈
FRAENKEL + 100 mg. MgC_2O_4 + Meg. 338 lysable + bactériophage	110	≈	≈
FRAENKEL + 50 mg. MgC_2O_4 + Meg. 338 lysable + bactériophage	215	65	10
FRAENKEL + 100 mg. $MgSO_4$ + Meg. 338 lysable + bactériophage	225	550	~
FRAENKEL + sec. + Meg. 338 lysable + bactériophage	344	70	0

Par l'addition d'oxalate de soude jusqu'à une quantité de 1 pm par litre au milieu de Fraenkel qu'on a rendu propre à la lyse en la mélangeant d'oxalate de magnésie, on rend le milieu impropre à ce même but (cf. Tableau IV).

TABLEAU IV.

Abolition de l'influence favorable de MgC_2O_4 sur la formation du bactériophage par l'addition de $Na_2C_2O_4$.

Caractère du milieu	Nombre de bactériophages en 0.1 cmc du liquide		
	Immédiate	Après la 1e transmission	Après la 2e transmission
FRAENKEL + 300 mg $MgOx.$ + 1 pm $NaOx.$ p. litre	360	570	0
FRAENKEL + 200 mg $MgOx.$ + 1 pm $NaOx.$ p. litre	550	95	0
FRAENKEL + 100 mg $MgOx.$ + 1 pm $NaOx.$ p. litre	570	85	0
FRAENKEL + 50 mg $MgOx.$ + 1 pm $NaOx.$ p. litre	600	20	0
FRAENKEL + 100 mg $MgOx.$	490	≈	≈

Je voudrais relever encore une chose avant de résumer les conclusions auxquelles je suis arrivé après cette partie de mes recherches.

Une expérimentation m'a appris que le milieu de Fraenkel n'exerce point d'influence délétère sur les bactériophages qui s'y trouvent en suspension. Cependant on constate en filtrant les lysats de megatherium 338 à travers de bactériophages dissous en milieu de Fraenkel que le nombre des bactériophages ne diminue pas en proportion de la dilution qui a lieu par suite des transmissions, mais que ce nombre diminue du coup à la première transmission pour descendre jusqu'à 0 à la seconde transmission.

Il m'a paru qu'il faut attribuer ce phénomène à l'adsorption des bactériophages par les bactéries. Cette adsorption a lieu aussi bien par les bactéries vivantes que par celles qui ont été tuées, aussi bien dans les milieux sans magnésie que dans ceux où il y a de la magnésie.

Je conclus de ce qui précède:

a. que de tous les kations examinés seul le Mg^{++} est indispensable pour la lyse de megatherium lysosensible 338 par le bactériophage megatherium;

b. que par suite de l'addition de l'oxalate de soude le Mg^{++} est éliminé et n'opère plus comme kation libre;

c. que dans un milieu privé de Mg^{++} le 338 sensible adsorbe le bactériophage.

L'adsorption des bactériophages par les microbes sensibles préside à la lyse.

J'ai constaté que n'importe quel microbe est capable d'adsorber les bactériophages même lorsque les bactériophages ne peuvent pas dissoudre les microbes en question, mais l'adsorption par les microbes sensibles est

beaucoup plus vigoureuse et cause quelquefois, si l'adsorption se fait par des microbes sensibles morts, la disparition totale des bactériophages.

Lorsqu'il s'agissait du bactériophage de megatherium la présence du Mg^{++} n'était pas absolument nécessaire pour arriver à une adsorption maximale du bactériophage par le megatherium.

Une tentative faite pour arriver à une vue plus nette des rapports plus intimes entre la lyse et le Mg^{++} n'a pas abouti. Pour cette expérience il fallut disposer de gélose exempte de magnésie. J'ai pu l'obtenir en me servant de la méthode appliquée par le professeur BUNGENBERG DE JONG ¹⁾.

On coupe la gélose en parcelles, puis on le couvre d'eau distillée et le place dans la glacière au moins pendant douze heures. Puis on décante l'eau et on la remplace par une solution de 10 p.c. de NaCl. La gélose doit être complètement couverte par le liquide en abondance. Après un séjour réitéré de 12 heures dans la glacière on décante la solution de NaCl et on répète la manipulation dix fois de suite. Puis on remplace la solution NaCl par de l'eau distillée et on réitère également dix fois la manipulation.

Alors que la gélose ordinaire contient $\frac{1}{10}$ p.c. à peu près de magnésie, Mlle. STEENHAUER, Dr. ès sciences ²⁾, ne réussit plus à démontrer la présence de magnésie dans 3 g. de gélose qu'on avait traitée de la sorte, après avoir appliqué la microméthode extrêmement sensible au moyen de jaune de titane.

En mélangeant 30 g. de cette gélose avec un litre de milieu d'Uschinsky, exempt de magnésie, on a obtenu un milieu où se développaient aussi bien le megatherium 899 que le megatherium 338, bien que cela ne formât pas des plages aussi fortes que sur gélose ordinaire.

On étalait sur cette préparation de gélose, tout comme sur gélose préparée en mélangeant la gélose ordinaire avec le milieu Uschinsky exempt de magnésie, et aussi sur de la gélose peptonisée ordinaire:

a. Un mélange de Bacterium megatherium 338 sensible trois fois lessivé et de bactériophages, ennemis de cette souche sensible, suspendus dans de l'eau distillée exempte de magnésie.

b. Un mélange de Bacterium megatherium 338 trois fois lessivé, à qui on avait permis préalablement d'adsorber du Mg^{++} d'une solution de $\frac{1}{10}$ p.c. de $MgSO_4$, et de bactériophages suspendus dans de l'eau distillée, ennemis de cette souche sensible.

c. Un mélange de Bacterium megatherium 338 trois fois lessivé à qui on avait permis d'adsorber préalablement du Mg^{++} et de bactériophages suspendus dans du milieu d'Uschinsky contenant 300 mg oxalate de Mg par litre.

Le nombre de bactériophages apportés sur la gélose par 0.1 cmc de la suspension étalée, était tellement grand qu'il était impossible de les compter d'après la méthode que j'avais appliquée.

¹⁾ Thèse de doctorat Utrecht.

²⁾ Conservatrice du Laboratoire pharmaceutique de l'Université de Leyde.

Le résultat ne variait pas, c.-à-d. il ne se formait jamais de plages sur la gélose complètement exempte de magnésie. La couche des bactéries se développait d'une façon égale.

Par opposition nette avec ces résultats on constata que la couche des bactéries était toujours dévorée par les bactériophages dans les cultures sur gélose ordinaire, mélangé de milieu d'Uschinsky exempt de magnésie, et dans celles sur gélose peptonisée ordinaire.

On constata par conséquent que ni le Mg^{++} adsorbé à des bactéries ni Mg^{++} qui aurait pu se lier, le cas échéant, aux bactériophages, n'était capable de faire naître la lyse sur un milieu de culture ferme dépourvu de Mg, probablement parce que la concentration du Mg^{++} était devenue trop faible pour pouvoir aboutir à la lyse après la distribution des liquides sur la surface de la gélose.

Ce qui saute aux yeux c'est l'analogie de la nature indispensable du kation Mg^{++} pour la lyse par les bactériophages avec ce que nous savons du rôle que jouent divers kations lors de l'action de certains ferments.

Le fait a été démontré, ou en tout cas il est probable au plus haut degré que le kation forme avec le ferment des combinaisons et qu'il joue le rôle d'un co-ferment et que les fonctions du ferment doivent être attribuées à la combinaison ferment + co-ferment. Ni le ferment ni le co-ferment ne sont capables d'exercer ces fonctions tout seuls.

Pour d'autres ferments il faut expliquer l'action du kation par le fait qu'il se combine avec des matières qui pourraient enrayer autrement l'action du ferment.

Dans le cas des bactériophages qui ont fait l'objet de mes recherches on pourrait supposer que le kation doit jouer un rôle lors de la pénétration des bactériophages dans le microbe et dans la lyse qui en découle. Le résultat des recherches que je viens d'exposer n'étaye pas cette supposition.

En dernier lieu je veux relever les résultats d'expériences qui ont été faites dans le dessein de voir si, en cas de passage continu de Bacterium megatherium 899 lysogène et de Bacterium megatherium 338 lysogène à travers des milieux fermes et liquides dépourvus de magnésie, ces microbes peuvent être purifiés des bactériophages.

A cet effet les microbes en question ont été greffés vingt fois de suite dans:

- a. le milieu de Fraenkel;
- b. le milieu d'Uschinsky avec 1 p.c. d'oxalate de soude;
- c. sur gélose absolument privée de magnésie.

Ici également Mlle STEENHAUER a eu l'amabilité de collaborer avec moi et d'examiner les matières chimiques employées pour la préparation des milieux synthétiques au point de vue de leur tenue en magnésie. Elle a constaté qu'on n'a pas pu découvrir de magnésie dans aucun des produits chimiques mis en oeuvre dans les quantités employées, pas même en appliquant la microméthode du jaune de titane, exemption faite pour le

lactate d'ammonium où l'on a pu déceler de la magnésie dans des quantités minimales.

Or, on constata que le *Bacterium megatherium* 899, la souche lysogène de sa nature, ne peut être purifié des bactériophages en appliquant une des méthodes exposées plus haut. On ne peut pas démontrer la présence des bactériophages, même après trente transmissions successives sur gélose absolument exempte de magnésie, au moyen de la suspension de la souche de microbes et de la filtration de la masse ainsi obtenue.

Le *Bacterium megatherium* 338 lysogène se comportait tout autrement. On réussit à purifier définitivement les microbes des bactériophages par la voie de transmissions sur le milieu Fraenkel et sur gélose dépourvue de magnésie, au bout de dix transmissions, quelquefois même après huit transmissions.

Le *Bacterium megatherium* 338 continuait à produire des bactériophages, encore après 20 transmissions dans le milieu d'Uschinsky à qui on avait ajouté 1 p.m. d'oxalate de soude.

Les bactériophages se sont comportés, comme l'on a constaté, d'une façon curieuse au cours des recherches faites sur la formation des plages en se servant de ce milieu; cette recherche a été effectuée en étendant le filtrat du lysate sur gélose peptonisée ordinaire, solidifiée de biais enduite de *Bacterium megatherium* 338 lysogène. En examinant le filtrat de la huitième ou de la dixième transmission on constatait seulement au bout de 24 heures des plages si l'on examinait à la loupe les parties minces de la gélose les plus éloignées de l'eau de condensation. Quelquefois on voyait seulement au bout de 24 heures quelques rares plages bien nettes. Si l'on conservait les éprouvettes pendant 2 ou 3 fois 24 heures par une température de 25 centigrades, une modification se faisait dans la partie de la culture qui avait été humectée avec le filtrat. Le bord de la partie humectée se dessinait de plus en plus nettement et la couche de microbes située dans cette bordure était entamée lentement sans être complètement détruite. Après des journées de repos également la couche de microbes qui s'était amincie se révélait nettement. En l'examinant à la loupe on y constatait des plages minimales. On a l'impression que dans le milieu privé de magnésie il ne se forme pas moins de bactériophages que dans le milieu propice et contenant de la magnésie, mais que l'intensité de l'action des bactériophages a été fortement diminuée. On réussit à faire remonter la virulence après quatre passages des bactériophages dont l'intensité de l'action avait diminué au moyen de la transmission par le milieu de Fraenkel, 300 mg par litre, contenant de l'oxalate de magnésie, à tel point que l'on aboutissait à la disparition complète de la couche de gélose et que les plages formées étaient nettement visibles.

Bien qu'il fût impossible de prouver avec certitude que dans les milieux préparés avec des éléments exempts de magnésie ne se trouve en effet nulle trace de kations, il m'a fallu conclure que le *Bacterium megatherium* 899 lysogène peut faire naître des bactériophages aussi dans les milieux

absolument ou virtuellement dépourvus de magnésie, tandis que *Bacterium megatherium* 338 lysogène a besoin de quantités minima de Mg^{++} pour y arriver.

Bien que *Bacterium megatherium* 899 lysogène n'ait jamais perdu la faculté de former des bactériophages de quelque façon qu'on conduisit l'expérimentation dans un milieu exempt de magnésie, on a pourtant essayé de purifier ce microbe du bactériophage. Dans cette intention on a transmis six fois *Bacterium megatherium* 899 lysogène sur gélose exempte de magnésie. Avec beaucoup de précautions on a déposé une anse de la couche de culture dans un milieu de Fraenkel, sans toucher le milieu. On a réchauffé la suspension placée dans des tubes hermétiquement fermés, entièrement submergés dans de l'eau une heure durant jusqu'à 80 centigrades. Des anses de platine plus ou moins grandes de la suspension se sont formées dans le milieu de Fraenkel; dans un milieu d'Uschinsky, exempt de magnésie, et dans du bouillon. Tous les tubes de bouillon greffés laissaient voir des croissances mais des milieux de Fraenkel et d'Uschinsky seulement ces tubes-là où l'on avait introduit tant de suspension chauffée que le liquide en devenait trouble. Dans les tubes où les spores germaient et où la culture devenait positive, on a constaté toujours des bactériophages.

En observant cette expérience il parut non seulement que Mg^{++} est nécessaire à la formation de la lyse de *megatherium* sensible par le bactériophage *megatherium*, mais aussi que le développement de *Bacterium megatherium* est favorisé par là. La germination des spores de ces microbes n'a pas lieu dans un milieu exempt de Mg^{++} , à moins qu'on ne greffe de grandes quantités de matières contenant des spores dans le milieu exempt de Mg^{++} .

Si je m'étais servi uniquement de *Bacterium megatherium* 899 lysogène pour mes expérimentations, j'aurais confirmé la théorie de BORDET qui affirme que la formation du bactériophage est une fonction physiologique du microbe et que le bactériophage naît donc d'une façon endogène du microbe.

*Or, puisque j'ai constaté aussi pour le *Bacterium megatherium* 338, que j'avais rendu lysogène d'une façon artificielle, une conduite, différente il est vrai quant à l'intensité de la formation du bactériophage, mais cependant conforme à celle de 899, les résultats de mes recherches ne peuvent point servir de confirmation aux théories de BORDET.*

Si on voulait chercher l'explication de ces phénomènes, aussi pour le *Bacterium megatherium* 338, dans une fonction physiologique de ce microbe, alors cela équivaldrait à dire que j'aurais réussi à transformer les fonctions physiologiques du *Bacterium megatherium* 338 qui auparavant ne donnait pas naissance à des bactériophages, de telle façon que celui-ci, sans l'influence du bactériophage, se mettait à former des bactériophages. Transformer les fonctions physiologiques d'un microbe est une autre définition du terme rendre les microbes malades. On pourrait alors affirmer

à bon droit que j'avais rendu malade le microbe par l'influence du bactériophage ou, en d'autres termes, que j'avais infecté le microbe avec le bactériophage.

Aussi le problème de savoir pourquoi les souches lysogènes que j'ai examinées continuent à produire des bactériophages dans un milieu exempt de magnésie, tandis que les bactériophages produits par elles ne réussissent à se multiplier dans un milieu exempt du Mg^{++} , reste entier.

RÉSUMÉ ET CONCLUSION.

Il a été prouvé la lyse de „Bacterium megatherium” lysable par un bactériophage antimegatherium est seulement possible en cas de présence du kation Mg^{++} .

La quantité minima qui est nécessaire correspond à une concentration d'à peu près 60 g. $MgSO_4$ par litre de liquide ou de milieu.

On ne peut remplacer le kation Mg^{++} par aucun des autres kations bivalents ou polyvalents.

Pour la production du bactériophage par la souche lysogène Bacterium megatherium 899 (DEN DOOREN DE JONG) la magnésie n'est pas nécessaire ou bien la présence de quantités qui se dérobent à la recherche suffit.

La souche du „Bacterium megatherium 338” rendue artificiellement lysogène occupe une place entre ces deux pôles extrêmes. Ce microbe ne peut pas produire le bactériophage sur un milieu solide qui a été dépourvu de magnésie mais il peut naître dans un milieu liquide qui a antérieurement contenu de la magnésie et qu'on en a privé par l'addition d'un p.c. d'oxalate de soude.

Il est impossible d'expliquer le rôle que joue le Mg^{++} dans la lyse.

Il découle du fait que j'ai constaté, savoir, qu'une souche rendue lysogène de façon artificielle continue à produire cependant des bactériophages dans un milieu qui est virtuellement dépourvu de magnésie, qu'il est peu possible que l'explication donnée par BORDET d'une conduite analogue de souches lysogènes examinées par lui à l'égard du calcium, explication d'après laquelle la production des bactériophages aurait été un phénomène physiologique de ces souches, soit juste.

ERRATA

in the List of Corrections.

In line 3 from top:

for 125 — ?
read: 125 — 6

In line 4 from bottom:

for	118 — 4	190 — 2	290 — 9
read:	119 — 4	193 — 2	293 — 8

Remark: All the corrections of the list diminish gravity.

algen. muler. 10011111