

10

EXTRAIT DES
ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

(Février 1953. — Tome 84.)

COMPARAISON DE SOUCHES BACTÉRIENNES
RÉSISTANTES A DES ANTIBIOTIQUES
AVEC DES SOUCHES SENSIBLES DE MÊME ESPÈCE

II. — CAS DE LA PÉNICILLINE

PAR

Mirko BELJANSKI



MASSON ET C^{IE}, ÉDITEURS
Libraires de l'Académie de Médecine
120, Boulevard Saint-Germain
PARIS

**COMPARAISON DE SOUCHES BACTERIENNES
RÉSISTANTES A DES ANTIBIOTIQUES
AVEC DES SOUCHES SENSIBLES DE MÊME ESPÈCE**

II. — CAS DE LA PENICILLINE

par MIRKO BELJANSKI.

(Institut Pasteur. Service du professeur MACHEBOEUF.)

Dans un travail précédent [1] nous avons montré que *Staphylococcus aureus* résistant à la streptomycine accumule des quantités d'acide ribonucléique très supérieures à celles accumulées par la souche sensible.

D'après ces résultats on pouvait se demander si cette accumulation massive d'acide ribonucléique était spécifique de la streptomycino-résistance, ou si elle s'étendait aux autres antibiotiques provoquant des perturbations du métabolisme chez les bactéries. Pour cela, nous avons entrepris l'étude chimique comparative d'une souche résistante et d'une souche sensible à la pénicilline de *Staphylococcus aureus*. (Les cas des sulfamido-résistance et azido-résistance seront publiés prochainement.)

**ETUDE COMPARATIVE DE LA CROISSANCE DE *Staphylococcus aureus*
SUCHE PÉNICILLINO-RÉSISTANTE
ET SUCHE PÉNICILLINO-SENSIBLE.**

Pour nos études sur la pénicillino-résistance nous avons choisi une souche de *Staphylococcus aureus* (Oxford) très sensible à la pénicilline. Pour obtenir *in vitro* une souche résistante à la pénicilline, on rencontre beaucoup plus de difficultés que dans le cas de la streptomycine. Les cultures successives d'une souche sensible proliférant en présence de petites doses croissantes de pénicilline ne se développaient que très lentement et il a fallu de très nombreux passages pour obtenir enfin la souche de haute résistance (4 000 unités par millilitre).

Nous avons fait une étude comparative des vitesses de croissance des deux souches dans les conditions indiquées à propos de la streptomycino-résistance [1].

Notons tout d'abord que la souche de *Staphylococcus aureus*

résistante à la pénicilline a une croissance beaucoup plus lente que la souche résistante à la streptomycine étudiée dans le travail précédent [4].

D'autre part, nous retrouvons pour la souche pénicillino-résistante un phénomène analogue à celui que nous avons observé pour la souche streptomycino-résistante : la souche résistante a une phase de latence beaucoup plus prolongée que celle de la souche sensible (fig. 1). Par contre, la phase exponentielle de croissance est modifiée plus profondément que pour la strepto-

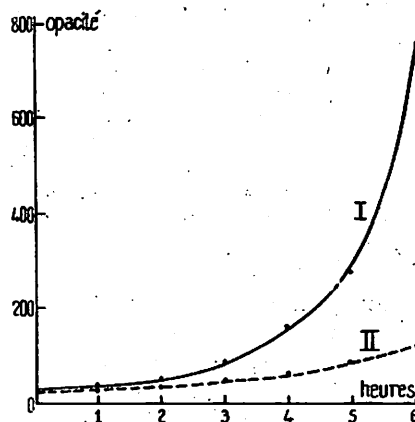


FIG. 1. — I, courbe de croissance d'une souche de *Staphylococcus aureus* pénicillino-sensible; II, courbe de croissance d'une souche de *Staphylococcus aureus* pénicillino-résistante.

mycino-résistance. (Nous n'avons pas l'intention d'approfondir cette question dans le présent travail.)

ETUDE DU MÉTABOLISME DES ACIDES NUCLÉIQUES ET DE LEURS DÉRIVÉS CHEZ *Staphylococcus aureus* PÉNICILLINO-RÉSISTANT ET PÉNICILLINO-SENSIBLE.

Pour l'étude du métabolisme des acides nucléiques et de leurs dérivés nous avons appliqué les méthodes que nous avons utilisées dans le cas de la streptomycino-résistance.

Nos résultats se résument ainsi :

a) ACIDE RIBONUCLÉIQUE. — La souche de *Staphylococcus aureus* pénicillino-résistante accumule en abondance de l'acide ribonucléique pendant la fin de la phase de latence et au début de la phase exponentielle de croissance. Cette quantité d'acide

ribonucléique est deux à trois fois supérieure à celle accumulée par la souche sensible dans les mêmes conditions (fig. 2).

Les maxima des courbes des deux souches ne sont pas situés à la même heure, mais nous savons qu'il existe des différences dans la durée des phases de latence dans les courbes de croissance respectives pour les deux souches. En somme, nous retrouvons le phénomène que nous avons découvert dans le cas de la streptomycine.

b) ACIDE DÉSOXYRIBONUCLÉIQUE. — Pour l'acide désoxyribonucléique chez *Staphylococcus aureus* sensible et résistant à la

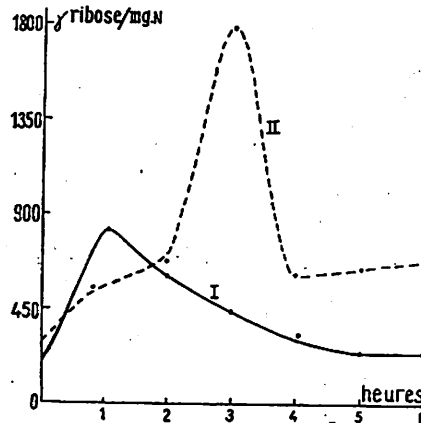


FIG. 2. — Teneur en ribose d'acide ribonucléique chez *Staphylococcus aureus*. I, souche pénicillino-sensible; II, souche pénicillino-résistante.

streptomycine, le taux est le même pendant le début de la croissance. Dans le cas d'une souche pénicillino-résistante nous constatons, au contraire, qu'il y a une légère différence quantitative entre la souche sensible et la souche résistante en ce qui concerne l'acide désoxyribonucléique. Mais les différences sont beaucoup moindres que pour l'acide ribonucléique. La souche résistante à la pénicilline accumule un peu plus d'acide désoxyribonucléique que la souche sensible pendant les premières heures de la croissance bactérienne. Les maxima des courbes représentant l'évolution de l'acide désoxyribonucléique se situent à la même heure que ceux des courbes représentant l'évolution de l'acide ribonucléique.

Nos résultats sont exprimés par les courbes de la figure 3.

c) MONONUCLÉOTIDES PURIQUES. — D'après les travaux de Gros et Macheboeuf [2] confirmés par ceux de Mitchell [3], la pénicil-

line agit sur la scission des mononucléotides et de l'A. T. P.
 Nous avons donc étudié le métabolisme des mononucléotides puriques chez les souches de *Staphylococcus aureus* sensible et résistante à la pénicilline. La souche résistante accumule nota-

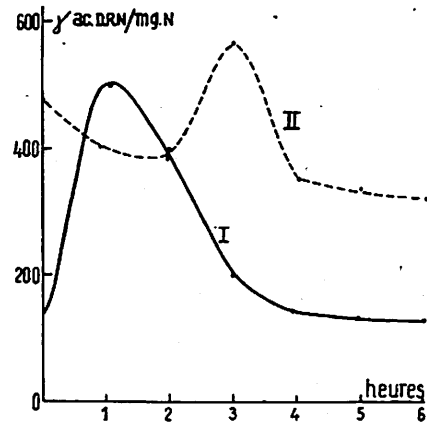


FIG. 3. — Teneur en acide désoxyribonucléique chez *Staphylococcus aureus*. I, souche pénicillino-sensible. II, souche pénicillino-résistante.

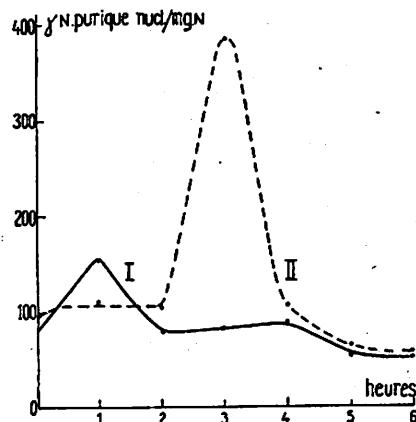


FIG. 4. — Azote purique nucléotidique chez *Staphylococcus aureus*. I, souche pénicillino-sensible. II, souche pénicillino-résistante.

blement des mononucléotides puriques au cours des premières heures de la croissance bactérienne.

Nos résultats sont exprimés en μg d'azote purique mononucléotidique par rapport au milligramme d'azote total microbien (fig. 4).

d) IONS ORTHOPHOSPHORIQUES. — Divers auteurs ont déjà étudié le problème du métabolisme phosphorique chez des bactéries pénicillino-sensibles mises en présence de l'antibiotique.

Gros et Macheboeuf [4] ont observé que les cellules de *Clostridium sporogenes* non proliférantes captent abondamment des ions phosphoriques du milieu ambiant lorsque la pénicilline est présente, tandis que cette captation est infime en l'absence de l'antibiotique.

Park et Johnson [5] ont vérifié récemment ce fait sur des staphylocoques en prolifération. Ces auteurs ont même isolé des dérivés triphosphorés : acide uridyl-pyrophosphorique. Ces corps sont accumulés pendant la phase de latence par la souche

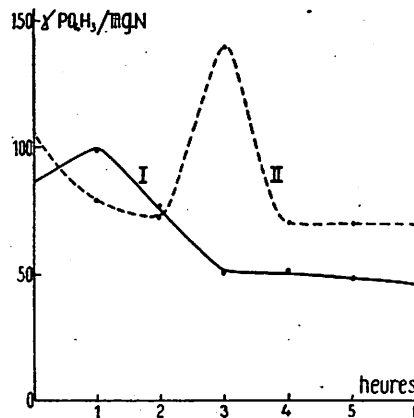


FIG. 5. — Ions orthophosphoriques chez *Staphylococcus aureus*. I, souche pénicillino-sensible. II, souche pénicillino-résistante.

sensible cultivée en présence de doses subléthales de pénicilline [6].

Toutes ces études ont porté uniquement sur des souches sensibles à l'antibiotique.

Nous avons abordé le problème différemment en étudiant les teneurs en phosphore acido-soluble des cellules de deux souches de *Staphylococcus aureus* pénicillino-sensible et pénicillino-résistante. La souche résistante à une certaine période de sa croissance accumule beaucoup plus de phosphore acido-soluble que la souche sensible.

Or, nous avons vu que dans le cas de la streptomycine nous n'avons rien observé de semblable. Ceci constitue une divergence biochimique très nette entre la souche pénicillino-résistante et la souche streptomycino-résistante que nous avons étudiées.

L'accumulation de phosphore acido-soluble par la souche pénicillino-résistante est peut-être en rapport avec les anomalies du catabolisme de l'acide ribonucléique que présente cette souche résistante [2].

Nos résultats sont exprimés par les courbes de la figure 5.

ÉTUDE DES PROTIDES
CHEZ *Staphylococcus aureus* PÉNICILLINO-RÉSISTANT
ET PÉNICILLINO-SENSIBLE.

Gros et Machebœuf [7], en travaillant avec *Clostridium sporogenes*, ont constaté que la pénicilline ne modifie pas l'activité protéolytique de ce germe. Ils notent, par contre, une action sur le métabolisme des amino-acides (désamination couplée).

Gale [8], d'autre part, en travaillant avec *Staphylococcus aureus*, constate que la pénicilline à doses infraléthales freine la captation de l'acide glutamique par la cellule microbienne. Mais Hotchkiss [12] observe que certaines souches de Staphylocoques, pourtant très sensibles à la pénicilline, ne captent pas mieux l'acide glutamique en absence de pénicilline qu'en présence de l'antibiotique.

La pénicilline n'ayant pas d'action directe sur le métabolisme protidique proprement dit dans la cellule, il était intéressant d'étudier une souche pénicillino-résistante et de voir si son métabolisme protéique différerait de celui d'une souche sensible comme diffère son métabolisme nucléique.

Notre étude a montré que la teneur en azote protéique des cellules bactériennes au cours de la croissance évolue de façon pratiquement identique dans les deux souches ; on note tout au plus une légère différence, peut-être non significative, en faveur de la souche résistante.

Nous avons vu chez deux types de bactéries, l'un à Gram positif et l'autre à Gram négatif, que le taux de protéines est le même pour la souche microbienne sensible que pour la souche résistante à la streptomycine. Mais une souche de *Staphylococcus aureus* pénicillino-résistante accumule un peu plus de protéines que la souche sensible à cet antibiotique.

On sait que les travaux de Caspersson [9] et de Brachet [10] ont fait admettre des relations étroites entre l'acide ribonucléique et la synthèse des protéines dans les cellules vivantes. D'autre part, d'après ces auteurs, la synthèse de l'acide ribonucléique semble précéder celle des protéines. (La teneur en acide ribonucléique du cytoplasme est d'autant plus grande que la synthèse protéique est plus active.)

Or, dans notre étude sur les bactéries streptomycino-résistantes,

nous n'avons pas observé de parallélisme entre les teneurs en acide ribonucléique et l'accumulation des protéines. La souche résistante accumule des quantités considérables d'acide ribonucléique, tandis que sa teneur en protéines reste identique à celle des souches streptomycino-sensibles. (La synthèse de l'acide ribonucléique ne semble pas précéder ici celle des protéines.)

En étudiant la pénicillino-résistance, nous constatons, bien que les teneurs en acide ribonucléique et en protéines varient dans le même sens, qu'il n'y a pas parallélisme.

Nos résultats sont exprimés par les courbes de la figure 6.

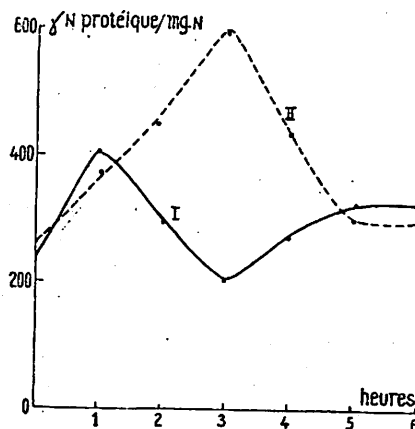


FIG. 6. — Azote protéique chez *Staphylococcus aureus*. I, souche pénicillino-sensible. II, souche pénicillino-résistante.

CONCLUSIONS.

Tandis qu'une souche de *Staphylococcus aureus* streptomycino-résistante n'accumule que de l'acide ribonucléique, une souche de même espèce, mais pénicillino-résistante, accumule non seulement des quantités supérieures d'acide ribonucléique, mais également de protéines, de mononucléotides puriques et de composés phosphoriques acido-solubles.

Ces différences sont peut-être basées sur les modes d'action différents des deux antibiotiques quant aux acides nucléiques : la pénicilline n'empêche pas la dépolymérisation de l'acide ribonucléique qui se dégrade et participe à la synthèse des protéines. La streptomycine, au contraire, se complexifie avec l'acide ribonucléique (ou avec des nucléoprotéines) et freine sa dépolymérisation [44].

BIBLIOGRAPHIE

- [1] M. BELJANSKI. *Ces Annales*, 1952, 83, 80.
- [2] F. GROS et M. MACHEBOEUF. Congrès de Copenhague 1947.
- [3] P. MITCHELL. *Nature*, 1949, 164, 259.
- [4] F. GROS et M. MACHEBOEUF. *Ces Annales*, 1948, 74, 378.
- [5] J. T. PARK et M. J. JOHNSON. *J. biol. Chem.*, 1949, 179, 585.
- [6] J. T. PARK. *J. biol. Chem.*, 1952, 194, 887.
- [7] F. GROS, M. MACHEBOEUF et P. LACAILLE. *Ces Annales*, 1948, 75, 320.
- [8] E. F. GALE et E. S. TAYLOR. *Nature*, 1946, 158, 676.
- [9] T. CASPERSSON. Symp. Soc. exp. Biol. Nucl. Acids, 1947.
- [10] J. BRACHET. *Actualités Biochimiques*, 1951, 1.
- [11] S. S. COHEN. *J. biol. Chem.*, 1947, 168, 211.
- [12] R. D. HOTCHKISS. *J. exp. Med.*, 1950, 91, 351.