
CHIMIE BIOLOGIQUE. — *L'absence de cytochromes et de certains systèmes enzymatiques dans un nouveau mutant d'Escherichia coli streptomycino-résistant. Comparaison avec la souche sensible dont il dérive.* Note de M. **MIRKO BELJANSKI**, présentée par M. Jacques Tréfouël.

Une forte diminution du taux de fer et de l'activité de certaines déshydrogénases dans un nouveau mutant d'*E. coli* streptomycino-résistant, est observée par comparaison avec la souche sensible. L'absence des bandes d'absorption des cytochromes, de quelques oxydases et des déshydrogénases formique et succinique fut également constatée dans la souche mutante.

Dans des expériences préliminaires inédites, nous avons observé que le taux d'oxydation de la cystéine par les suspensions bactériennes (ou par la poudre acétonique) d'une souche d'*Escherichia coli* streptomycino-résistante était constamment inférieur (40 %) à celui de la souche sensible. Ces résultats nous ont incité à déterminer les taux de fer dans les bactéries sensibles et résistantes à la streptomycine. Les secondes se sont révélées être plus pauvres en fer (45 %) que les premières. Or, l'activité de certaines déshydrogénases dépendrait de la quantité de fer présent dans les cellules bactériennes ⁽¹⁾, ⁽²⁾, ⁽³⁾, ⁽⁴⁾, aussi avons nous comparé ces systèmes dans une souche résistante et sensible à la streptomycine.

Conditions expérimentales. — Une nouvelle souche mutante d'*Escherichia coli* (Monod), résistant à 4 000 µg de streptomycine par millilitre, possédant les mêmes tests bactériologiques que la souche sensible, fut obtenue d'après la technique déjà décrite ⁽⁵⁾; ses propriétés biochimiques sont indépendantes du nombre de repiquages. Avant d'être utilisée, elle fut purifiée afin d'éliminer les traces d'antibiotique. La souche mutante, plus riche en acide ribonucléique que la souche sensible, fut ensemencée sur milieu peptoné et glucosé, ainsi que la souche sensible. L'activité

(1) W. S. WARING et C. H. WERKMAN, *Arch. Bioch.*, 4, 1944, p. 75.

(2) A. M. PAPPENHEIMER, *J. Biol. Chem.*, 171, 1947, p. 701.

(3) A. TISSIÈRES, *Bioch. J.*, 50, 1951, p. 279.

(4) C. A. ELVEHJEM, *J. Biol. Chem.*, 90, 1931, p. 111.

(5) M. BELJANSKI, *Ann. Inst. Past.*, 85, 1953, p. 463.

deshydrogénasique étant plus forte dans les bactéries « âgées » que dans les bactéries « jeunes » (⁶) nos cultures furent arrêtées à la 20^e heure de leur prolifération et centrifugées. Les bactéries lavées avec de l'eau bi-distillée à froid, sont mises en suspension dans de l'eau bi-distillée. Une partie de la suspension fut utilisée pour doser le fer (⁷). Les activités deshydrogénasiques du glucose, du formiate-Na, du lactate-Na et du succinate-Na furent étudiées dans les tubes de Thunberg [0,5 ml de bleu de méthylène M/500, 0,5 ml de suspension bactérienne (2 mg), 1 ml de substrat M/5 et 2 ml de tampon phosphate M/15, pH 7,2 pour le glucose et le succinate-Na et pH 6,2 pour le formiate-Na et le lactate-Na]. Les taux d'oxydation de ces substances ont été déterminés avec l'appareil de Warburg (contenu d'une cupule : 1 ml de tampon phosphate M/15 pH respectifs, 0,25 ml de substrat M/5, 0,5 ml de suspension bactérienne et 0,2 ml de KOH à 30 %, volume total : 2 ml, T° 37).

Résultats. — Nos résultats relatifs à six ou dix expériences pour chaque souche et chaque substrat sont résumés dans les tableaux suivants :

	µg de fer par 100 mg de bactéries sèches.	Temps de décoloration du bleu de méthylène (minutes).			
		Glucose.	Formiate.	Lactate.	Succinate.
<i>E. coli</i> (Monod).					
Souche sensible.....	50	15	10	16	60
Souche résistante.....	28	35	>1440	45	>1440
		QO ₂ (mm ³ O ₂ par mg de bactéries et par heure).			
<i>E. coli</i> (Monod).		Glucose.	Formiate.	Lactate.	Succinate.
Souche sensible.....		150	150	140	120
Souche résistante.....		0	0	0	0

Par les suspensions non proliférantes comme par le broyat de la souche mutante, divers sucres (glucose, xylose, fructose et lactose) ne sont pas métabolisés par les mêmes voies qu'en présence de la souche sensible, puisque la respiration de la souche mutante est nulle en présence de ces substances ainsi qu'en présence de formiate, lactate et succinate de sodium. L'activité deshydrogénasique de cette souche, vis-à-vis de ces substances, est très faible ou nulle.

Le cytochrome *b*₁, considéré être identique à la succino-deshydrogénase (⁸) interviendrait dans l'activité de la deshydrogénase formique chez *Escherichia coli* (⁹). Semblant confirmer ces résultats, l'étude des

(⁶) W. R. WOOLDRIDGE et coll., *Bioch. J.*, 30, 1936, p. 926.

(⁷) R. PAULAIS, *Thèse ès Sciences*, Paris, 1939.

(⁸) A. M. PAPPENHEIMER et E. D. HENDEE, *J. Biol. Chem.*, 180, 1949, p. 597.

(⁹) E. F. GALE, *Bioch. J.*, 33, 1939, p. 1012.

bandes d'absorption des cytochromes avec un microspectroscope à réversion de Hartridge, montre l'absence des bandes de cytochromes b_1 et β dans la souche mutante.

Waring et Werkman ⁽¹⁾ ont observé (indépendamment de l'action des antibiotiques), qu'une souche d'*Aerobacter indologenes*, cultivée sur milieu exempt de fer présente une activité des deshydrogénases fumarique et succinique plus faible que ne présente la souche cultivée sur milieu normal. Chez les bactéries cultivées sur milieu très pauvre en fer, la deshydrogénase formique n'existerait pas.

D'autres auteurs ⁽¹⁰⁾, ⁽¹¹⁾ ont montré que les substances antibiotiques étaient capables de donner des complexes avec certains métaux (le fer par exemple), nécessaires à la croissance des microorganismes.

D'après ces travaux, nous étions en mesure de penser que la streptomycine ajoutée à une culture bactérienne, était capable d'empêcher l'assimilation normale des métaux par les bactéries et agissait ainsi indirectement sur les systèmes des oxydases et des deshydrogénases. Elle créerait donc un nouvel équilibre dans la répartition des métaux utilisés par la souche résistante pour sa prolifération. Cette hypothèse trouve un appui dans le fait que la souche streptomycino-résistante contient beaucoup moins de fer (45 %) que la souche sensible. L'hypothèse se trouve encore étayée par notre observation que la streptomycine, même à doses élevées, n'agit pas sur les deshydrogénases formique, lactique et succinique ni sur celle du glucose.

⁽¹⁰⁾ A. ALBERT, *Nature*, 172, 1953, p. 201.

⁽¹¹⁾ B. A. NEWTON, *Nature*, 171, 1953, p. 160.

(Extrait des *Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences*,
t. 238, p. 852-854, séance du 15 février 1954.)