

**ACTION DE LA PÉNICILLINE SUR LE MÉTABOLISME
DE L'ACIDE RIBONUCLÉIQUE
CHEZ STAPHYLOCOCCUS AUREUS,**

par F. GROS, M. BELJANSKI et M. MACHEBOEUF.

(Séance du 19 juin 1951).

Divers travaux antérieurs ont montré que la pénicilline cause des perturbations dans le métabolisme ribonucléique chez les bactéries. Nous avons en effet constaté [1] [2] l'inhibition du catabolisme des ribomononucléotides puriques chez *Clostridium sporogenes* non proliférant, ainsi qu'un ralentissement très sensible de la dégradation de l'acide ribonucléique et des ribomononucléotides au cours de l'autolyse. KRAMPITZ et WERKMAN d'autre part, utilisant des suspensions de *Staphylococcus aureus* préalablement lyophilisé, observent une action inhibitrice de la pénicilline sur certains processus oxydatifs liés à l'utilisation du ribose au cours du catabolisme de l'acide ribonucléique [3]. Toutes ces conclusions ont été confirmées par des observations d'ordre cytochimique (BOIVIN et al. [4], PRATT et DUFRESNOY [5], etc.). Bien plus, VENDRELY [6], puis GALE [7] constatent que la pénicilline empêche la synthèse de l'acide ribonucléique au cours de la croissance bactérienne. Enfin, KRAMPITZ [3], puis VENDRELY [6] ont montré que la pénicilline est sans action sur le catabolisme ou l'anabolisme de l'acide désoxyribonucléique tandis que son action porte sur l'acide ribonucléique.

Ce n'est pas la première étape du catabolisme de l'acide ribonucléique qui est directement influencée par l'antibiotique car nous avons montré que l'activité de la ribonucléase n'est pas modifiée par la pénicilline [8] [9]. En rapprochant ce fait de celui que nous avons observé précédemment [2], nous avons pensé que l'action primordiale de l'antibiotique porte sur une étape du catabolisme ribonucléique postérieure à la dépolymérisation, c'est-à-dire au cours de la destruction des mononucléotides.

Nous avons proposé l'hypothèse suivante : *l'inhibition du catabolisme des mononucléotides produit leur accumulation qui retentit sur d'autres étapes du catabolisme ribonucléique et en particulier sur la dépolymérisation des polynucléotides par la ribonucléase (*)*.

Les travaux récents de MITCHELL [10], de PARK et JOHNSON [11], puis de TULASNE et VENDRELY [12] ont fortement étayé notre hypothèse. Ils montrent en effet que *Staphylococcus aureus* en présence de petites doses de pénicilline, accumule des quantités anormalement élevées de mononucléotides.

Tout semble donc bien démontrer que suivant notre ancienne hypo-

(*) On sait en effet que la dépolymérisation de l'acide ribonucléique *in vitro* par la ribonucléase pancréatique purifiée est inhibée par les mononucléotides [13].

thèse [2], l'action fondamentale de la pénicilline porte sur le métabolisme des ribomononucléotides. Il restait cependant à déterminer lequel des ribomononucléotides était le plus important dans l'action de l'antibiotique, et par quel mécanisme la pénicilline inhibait le métabolisme de ces substances.

KRAMPITZ et WERKMAN avaient affirmé que chez *Staphylococcus aureus*, la pénicilline inhibait l'oxydation du ribose d'un mélange de nucléotides *pyrimidiques* extrait de levure. Les nucléotides *puriques* ne s'étant pas révélés oxydables par la souche bactérienne utilisée dans ces expériences, ces auteurs n'avaient donc pas pu étudier l'action de l'antibiotique sur leur catabolisme.

Au contraire, utilisant des suspensions de *Clostridium sporogenes*, nous avons mis en évidence une action non seulement sur un nucléotide *pyrimidique*, l'acide uridylique, mais également sur les nucléotides *puriques*. Depuis lors, KRAMPITZ signale avoir obtenu des suspensions de Staphylocoque oxydant les nucléotides *puriques* et n'ayant pas observé d'action de la pénicilline à ce niveau [14]. Par contre, MITCHELL [10], puis VENDRELY [12] confirmant nos premiers résultats, observent chez *Staphylococcus aureus*, une action très notable de la pénicilline sur le métabolisme des nucléotides *puriques*.

Enfin, PARK et JOHNSON [11] constatent une accumulation de nucléotides *pyrimidiques* (dérivés de l'acide uridine-phosphorique) chez *Staphylococcus aureus*.

En résumé, les résultats diffèrent suivant les auteurs puisque c'est tantôt le métabolisme des nucléotides *puriques* qui est influencé, tantôt celui des nucléotides *pyrimidiques* et, dans certains cas, celui des deux types de nucléotides *pyrimidiques* et *puriques*.

Il est vrai que les auteurs travaillant avec la même espèce bactérienne n'ont pas utilisé la même souche et que, dans certains cas, on s'est adressé à des espèces bactériennes différentes.

Les techniques mises en œuvre différaient également beaucoup dans ces divers travaux et les bactéries ne se trouvaient pas soumises à l'action de l'antibiotique dans les mêmes conditions biologiques (bactéries non proliférantes ou en pleine division, mises en présence de doses élevées ou de doses très faibles de pénicilline, bactéries lyophilisées ou bactéries fraîches, etc...).

Il n'en reste pas moins vrai que l'action de la pénicilline sur le métabolisme des mononucléotides est un fait de portée générale que l'on peut mettre en évidence dans des conditions assez dissemblables.

Ceci nous a incités à entreprendre l'étude systématique de l'action de la pénicilline sur toutes les diverses étapes du catabolisme ribonucléique chez *Staphylococcus aureus* en nous plaçant dans des conditions biologiques très diverses (bactéries non proliférantes ou bactéries en pleine prolifération, etc...).

MATÉRIEL ET MÉTHODES.

Les souches sensibles de *Staphylococcus* utilisées étaient les souches « Oxford » « N 133 » et « N 131 » dont les sensibilités à la pénicilline sont respectivement 0,03 U.O./ml, 0,02 U.O./ml et 0,06 U.O./ml (inhibition après 24 heures de croissance à 37° C).

Les suspensions bactériennes étaient en général préparées de la manière suivante : après 2 repiquages successifs sur eau peptonée et glucosée (peptones 5 p. 100, glucose 0,3 p. 100), les Staphylocoques sont cultivés pendant une période de 24 heures sur bouillon à base d'extrait de foie (bouillon VF), renfermant 2 p. 1000 de glucose. Les milieux sont soumis à une agitation mécanique permanente pendant la culture, de manière à entretenir une bonne aération. Dans certains cas, pour étudier l'influence du milieu de culture, le bouillon était remplacé par une solution d'eau peptonée et de glucose (composition donnée ci-dessus).

Dans les expériences préliminaires, nous avons suivi l'oxydation du ribose au moyen d'un appareil de Warburg, en mesurant la consommation d'oxygène par la suspension bactérienne placée en présence d'acide ribonucléique ou de ses dérivés (voir [3]). Par la suite, l'action de la pénicilline sur le catabolisme des nucléotides fut également étudiée au moyen d'autres méthodes microanalytiques : phosphore selon BRIGGS [15] et azote purique selon CRAFT et MACULA [16].

Certains des substrats utilisés furent fournis par le commerce (Hoffmann-La Roche ou Brickman Cie), mais les acides uridylique et guanylique, aussi bien que l'uridine furent isolés et purifiés dans notre laboratoire à partir de l'acide ribonucléique [17] [18]. Le sel de baryum de l'acide ribose-5-phosphorique fut gracieusement fourni par le D^r WAJZER.

Puisque c'est l'oxydation du d-ribose qui permet de suivre, grâce au procédé manométrique, le métabolisme des dérivés de l'acide ribonucléique, il était important d'établir, avant nos recherches sur la pénicilline, quelles sont les modalités d'utilisation de ce substrat chez le Staphylocoque.

A. — *Activité oxydative de Staphylococcus aureus vis-à-vis du d-ribose en fonction de l'état de développement des bactéries.*

Divers auteurs ont constaté l'incapacité pour les cellules des microorganismes de métaboliser activement le d-ribose (DICKENS [19], KRAMPIRZ [3]). Ils ont attribué cette incapacité au fait que le sucre pénètre difficilement dans la cellule, surtout lorsqu'elle se trouve à l'état non proliférant. D'autres auteurs ont obtenu, au contraire, des oxydations très nettes avec des suspensions de microbes lavés (HENRY et al. [20], Gros et al. [21]). Ces divergences entre les affirmations des divers auteurs trouvent peut-être une explication dans le fait suivant : Nous avons constaté que des Staphylocoques (souche Oxford) prélevés à partir d'une culture au début de la phase exponentielle de croissance n'oxydent pratiquement pas le d-ribose tandis qu'ils oxydent parfaitement ce sucre « engagé » dans une combinaison nucléique (par exemple l'acide guanylique). Au contraire, les germes prélevés après plusieurs divisions exponentielles commencent à manifester un pouvoir oxydatif net vis-à-vis du d-ribose libre. Enfin, si l'on recueille les bactéries dans la phase où elles ont achevé de se diviser, l'oxydation du d-ribose est alors très notable et s'effectue avec une vitesse appréciable.

En somme, des bactéries d'une espèce donnée, provenant d'une souche donnée, peuvent, à l'état non proliférant, se comporter différem-

ment vis-à-vis du ribose libre suivant l'état de développement de la culture bactérienne qui a servi à préparer l'émulsion.

1° Si la culture était, au début de sa phase de prolifération exponentielle, l'émulsion de bactéries non proliférantes n'oxyde pas le ribose libre.

2° Si la culture avait déjà atteint la phase ultime de sa prolifération, l'émulsion de bactéries non proliférantes oxyde au contraire très bien le ribose libre (voir tableau I et fig. 3).

3° Tous les stades intermédiaires de croissance ont des pouvoirs oxydatifs intermédiaires régulièrement échelonnés.

Pour interpréter ces faits, on peut penser à :

1° Une modification de la perméabilité cellulaire au cours de la croissance.

2° L'apparition d'un enzyme adaptatif, lorsque, à un stade avancé de la culture, le ribose commence à être détaché de l'acide nucléique après l'action des nucléotidases (chez les bactéries au début de la phase exponentielle, on rencontre très peu de produits de lyse des acides nucléiques tandis que ces produits prédominent chez les bactéries ayant terminé leur croissance). Quoiqu'il en soit, ces faits nous ont incités à utiliser, pour réaliser les suspensions de bactéries lavées, des germes cultivés jusqu'à leur stade de développement maximum (cultures de 20 à 24 heures en général).

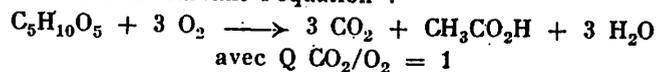
TABLEAU I.

BILAN D'OXYDATION DU D-RIBOSE PAR *Staphylococcus aureus* (Oxford)
PRÉLEVÉ A LA PÉRIODE DE CROISSANCE MAXIMUM.

Ribose introduit	Ribose utilisé après 6 h. à 37° C dose selon ALBAUM et UMBREIT (22)	μl O ₂ consommé après 6 h.	μl CO ₂ dégagé après 6 h.	Mol. O ₂ cons.	
				Mol. ribose cons.	CO ₂ O ₂
14,0 mg	13,2 mg	20.800	19.500	1,04	0,94

A. — *Quotient respiratoire de Staphylococcus aureus utilisant le d-ribose comme substrat.*

KRAMPITZ et WERKMAN [3], en utilisant comme substrat l'acide ribonucléique observent que l'oxydation du ribose s'effectue chez *Staphylococcus aureus* suivant l'équation :



Les suspensions mises en œuvre par KRAMPITZ et WERKMAN n'oxydaient pas le ribose libre (bactéries lyophilisées). Ces auteurs ont donc limité leur étude au cas de l'acide ribonucléique.

Ayant à notre disposition des souches qui oxydent le ribose libre, sous forme de suspensions non lyophilisées et provenant de cultures

de 24 heures, nous avons préféré étudier les modalités d'oxydation du d-ribose lui-même plutôt que d'une de ses combinaisons. Nous confirmons que l'oxydation du ribose s'effectue suivant une réaction dont le quotient $\text{CO}_2/\text{O}_2 = 1$, mais nous trouvons une seule molécule d'oxygène consommée par molécule de ribose contre trois molécules dans l'équation de KRAMPITZ et WERKMAN où, rappelons-le, le substrat utilisé était l'acide ribonucléique et non le ribose lui-même.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX.

A. — Action de la pénicilline sur le métabolisme de l'acide ribonucléique et de ses dérivés par des suspensions de *Staphylococcus aureus* lavé.

I. — Etudes manométriques (souche Oxford) :

Les résultats obtenus par mesures manométriques dans les expériences préliminaires sont donnés dans le Tableau II. Dans ces expériences, l'antibiotique fut introduit en grandes quantités de façon à déceler chaque étape sensible à l'action de la pénicilline. (Dans des expériences suivantes, des concentrations plus faibles furent utilisées pour l'étude de ces étapes). Des études manométriques, on tira les conclusions suivantes :

1) La pénicilline inhibe de façon très marquée l'oxydation du ribose de l'acide ribonucléique (fig. 1).

2) Les mononucléotides dont le catabolisme oxydatif est inhibé par la pénicilline sont : l'acide guanylique (fig. 2) et l'acide uridylique. On ne constate pas d'action de l'antibiotique, même aux

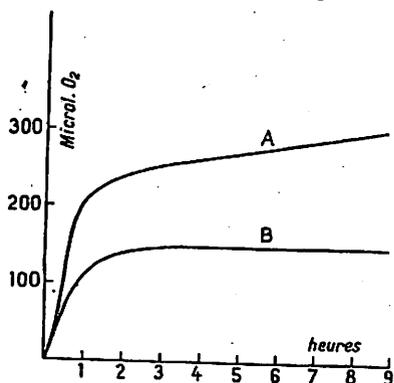


Fig. 1.

FIG. 1. — Action de la pénicilline sur l'oxydation de l'acide ribonucléique par *St. aureus* (Oxford) à l'état « non proliférant ».

A, sans pénicilline.
B, avec pénicilline.

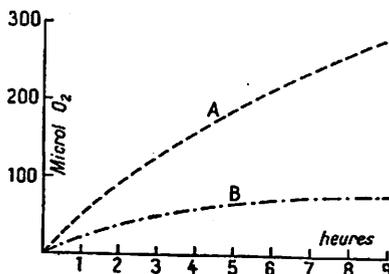


Fig. 2.

FIG. 2. — Action de la pénicilline sur l'oxydation de l'acide guanylique par *St. aureus* non proliférant (voir Tableau II).

A, sans pénicilline.
B, pénicilline.

fortes concentrations, sur l'oxydation du ribose de l'acide adénylique et de l'acide citidylique.

TABLEAU II.

EFFET DE LA PÉNICILLINE SUR LE MÉTABOLISME DE L'ACIDE RIBONUCLÉIQUE ET DE SES DÉRIVÉS CHEZ *Staphylococcus aureus* (Souche Oxford).

Chaque fiole contient : 1 ml de suspension bactérienne contenant 40 mg de bactéries (poids sec), 0,8 ml de tampon phosphaté M/15, pH 7,0 ou 0,8 ml d'une solution de pénicilline dans le même tampon renfermant 3.600 µg de pénicilline, 0,2 ml de solution de substrat à la concentration indiquée. Volume total : 2 ml. La cupule centrale renferme 0,2 ml de potasse à 20 p. 100. Le substrat et la suspension microbienne sont mélangés après équilibre thermique de 15 minutes. Température 37° C. Durée : 5 heures (*).

Substrats étudiés	Concentration p. 100 du volume total	µl O ₂		Inhibition en p. 100
		sans pénicilline	avec pénicilline	
Acide ribonucléique.....	1,5	265	120	54
Acide adénylique.....	0,7	215	200	6
Acide guanylique (a)....	0,7	175	65	62
Acide guanylique (b)....	0,7	615	319	52
Acide citidylique.....	0,7	1375	1420	0
Acide uridylique.....	0,5	400	275	31
Adénosine.....	0,5	610	610	0
Guanosine.....	0,5	540	351	35
Uridine.....	0,5	780	800	0
Citydine.....	0,5	390	351	6
d-ribose.....	0,7	2075	2080	0
Ribose 5 phosphate.....	0,75	645	640	0

a) Préparé par nous à partir d'un mélange de nucléotides.
b) Pur cristallisé.

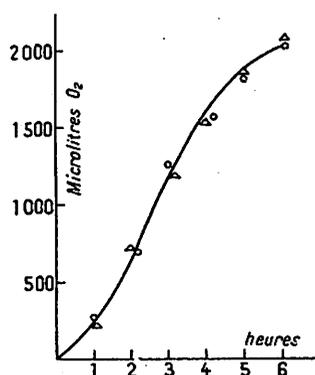


FIG. 3. — Oxydation du ribose par *Staphylococcus aureus* (Oxford) (resting bacteria). Voir Tableau II.

O, sans pénicilline.
Δ, avec pénicilline.

(*) Les volumes d'oxygène consommés par les témoins sont déduits (respiration endogène).

3) La spécificité dans l'action de la pénicilline est confirmée par l'étude de l'oxydation du ribose des nucléosides. En effet, l'oxydation du ribose de la guanosine est sensible à l'action de la pénicilline tandis que celle de l'adénosine et de la cytidine ne sont pas affectées. Notons cependant que l'oxydation de l'uridine n'est pas sensible à la pénicilline tandis que l'oxydation de l'acide uridylique l'est un peu.

4) La pénicilline n'a pas d'effet sur l'oxydation du ribose libre ou du ribose-5-phosphate (fig. 3). Il est donc vraisemblable que les inhibitions observées sur l'oxydation du ribose combiné sous forme de certains mononucléotides ou de certains nucléosides résultent d'une interférence entre la pénicilline et un processus catabolique détachant le ribose d'avec d'autres constituants des mononucléotides.

D'ailleurs, la liaison osidique qui unit ribose et base semble, de ce point de vue, présenter une importance plus grande que la liaison ester qui unit ribose et acide phosphorique. En effet 1° la pénicilline n'agit pas sur les phosphomonoestérases. 2° La pénicilline n'agit pas sur l'oxydation du ribose-5-phosphate. 3° Au contraire, la pénicilline agit sur l'oxydation du ribose combiné à la guanine sous forme de nucléoside.

Il est vrai que l'action de la pénicilline sur le catabolisme de la liaison osidique ribose-guanine peut retentir secondairement sur toute la chaîne catabolique des nucléotides et en particulier sur la vitesse de libération des ions phosphoriques à partir des nucléosides. C'est ce fait qui fut observé le premier dans nos anciens travaux [2]. Notons d'ailleurs que ces travaux portaient sur *Clostridium sporogenes*, bactérie chez laquelle le catabolisme des mononucléotides ne libère

TABLEAU III.

INHIBITION DU CATABOLISME OXYDATIF DE L'ACIDE GUANYLIQUE CHEZ *Staphylococcus aureus* (souche Oxford) EN PRÉSENCE DE CONCENTRATIONS DIVERSES DE PÉNICILLINE.

L'acide guanylique utilisé ici est préparé à partir d'un mélange de nucléotides. Les conditions expérimentales sont les mêmes que celles décrites dans le Tableau II. Teneur moyenne en bactéries par cupule : 40 mg (poids sec). Volume total : 2 ml.

Quantité de pénicilline en microgrammes	Taux d'inhibition en p. 100
30 à 50	0
80	16 (*)
240	29 (**)
480	28 (*)
2400 à 3600	48 (***)

(*) Moyenne arithmétique de deux déterminations.
 (**) Moyenne de 5 expériences.
 (***) Moyenne de 7 déterminations.

pas de nucléoside, car la scission s'effectue d'abord au niveau de la liaison osidique avant d'intéresser la liaison ester phosphorique. L'influence de la pénicilline sur la première étape retentissait forcément

sur la seconde étape. Chez les Staphylocoques, il existe des phosphomonoestérases actives qui interviennent pour libérer de l'acide phosphorique directement à partir des nucléotides en donnant des nucléosides. La pénicilline est sans action sur ce processus (*).

a) *Facteurs influençant l'inhibition du catabolisme de l'acide guanylique.*

1) *Concentration en pénicilline :*

Le tableau suivant permet d'apprécier l'influence de la pénicilline à des concentrations diverses sur le catabolisme oxydatif de l'acide guanylique. On voit (Tableau III) que pour une quantité de germes considérable et sensiblement constante (en moyenne 40 mg de poids sec) l'action inhibitrice commence à se manifester d'une façon sûrement significative (30 p. 100) à partir d'une concentration équivalente à 200 U.O. par ml (soit 400 U.O. au total ou 240 microgrammes). Cette quantité n'est pas aussi élevée qu'il pourrait apparaître de prime abord, vue l'énorme masse bactérienne mise en œuvre par unité de volume et la pénétration difficile de l'antibiotique dans les cellules bactériennes au repos (**).

On voit, d'après notre tableau, que l'inhibition du catabolisme de l'acide guanylique augmente d'une façon à peu près régulière en fonction de la concentration en antibiotique. Des concentrations très élevées en pénicilline (2.400 microgrammes) sont nécessaires pour entraîner un ralentissement profond (48 p. 100) dans le processus catabolique étudié.

Les valeurs qui figurent dans le tableau représentent des moyennes car on observe une certaine variabilité dans les résultats suivant les expériences. Celle-ci peut avoir son origine dans un état chimique et physiologique différent des germes, suivant les manipulations préliminaires (voir Tableau IV).

Milieu de culture :

Dans une série d'essais, nous avons utilisé des bactéries cultivées en milieu peptoné glucosé au lieu de bouillon V.F. Les autres conditions de culture et de manipulation demeuraient les mêmes (inoculum provenant d'une culture développée pendant 18 h.). Chez *Staphylococcus aureus* développé sur milieu peptoné glucosé, l'action de la

(*) Si l'on étudie la vitesse de libération des ions phosphoriques à partir de nucléotides par une suspension de Staphylocoques non proliférants (souche Oxford), on constate effectivement que la pénicilline n'influe pas dans les cas des acides adénylique, citidylique et uridylique [23]. Par contre, elle freine assez notablement la libération des ions phosphoriques à partir de l'acide guanylique. On doit penser que la pénicilline, en freinant le catabolisme de la guanosine provoque l'accumulation de celle-ci et que l'étape antérieure du catabolisme, c'est-à-dire la déphosphorylation de l'acide guanylique se trouve influencée indirectement.

(**) KRAMPITZ et WERKMAN aboutissent à des conclusions voisines en ce qui concerne les doses minima de pénicilline nécessaires pour observer un taux d'inhibition notable dans le catabolisme oxydatif de l'acide ribonucléique. La quantité de germes mise en œuvre dans leurs expériences est très voisine des quantités utilisées ici.

pénicilline sur l'oxydation de l'acide guanylique est en moyenne moins marquée que dans le cas d'une culture préalable sur milieu V. F.

TABLEAU IV.

INHIBITION PAR LA PÉNICILLINE DU CATABOLISME OXYDATIF DE L'ACIDE GUANYLIQUE (résultats manométriques avec l'appareil de Warburg).

Les conditions expérimentales sont celles définies dans le Tableau II. Nous précisons seulement les teneurs en bactéries par cupule dans les diverses expériences, ainsi que les valeurs trouvées pour les quantités d'oxygène consommées après 5 heures. Dans les 16 premières expériences, l'acide guanylique utilisé était préparé par nous à partir d'un mélange de nucléotides. Dans les essais 17, 18, 19 et 20, il s'agit d'acide guanylique pur cristallisé (Brickman).

N° des expériences	Quantité de microbes en mg	μ l. O ₂ après 5 heures sans pénicilline	Quantité de pénicilline en μ g	Taux d'inhibition
1.....	43	159	30 et 50	0
2.....	40	180	60 et 80	14
3.....	41	231	60 et 80	18
4.....	36	235	240	26
5.....	41	135	240	43
6.....	38	150	240	31
7.....	35	250	240	33
8.....	40	190	240	28
9.....	41	200	2400	51
10.....	34	142	240	40
11.....	50	160	240	41
12.....	45		240	51
13.....	44	150	3600	60
14.....	56	235	3600	26
15.....	45	230	3600	29
16.....	18	196	3600	35
17.....	39	690	3600	68
18.....	49	600	3600	20
19 (culture de 8 heures)	35	615	3600	52
20 (culture de 6 heures)..	17	492	3600	57

Ex. : moyenne des taux d'inhibition calculés après 5 h. en milieu V. F. : 40 p. 100 ; en milieu peptoné : 20 p. 100 pour 1200 μ g de pénicilline.

On verra néanmoins ultérieurement que si l'on étudie l'action de la pénicilline sur des bactéries en pleine croissance, et non plus sur des suspensions non proliférantes, les modifications du métabolisme des nucléotides sont à peu près indifférentes au milieu. Ces faits nous permettent de penser que les bactéries cultivées sur milieu peptoné, jusqu'au développement maximum de la culture (18 h) ont sans doute

accumulé des substances gênant la pénétration ou l'action biochimique de l'antibiotique, lorsqu'elles sont à l'état de suspensions de germes non proliférants.

Etat de développement des germes :

Quelques essais ont été effectués en réalisant des suspensions à partir de bactéries prélevées en phase exponentielle de croissance (6 h ou 8 h de culture) et non plus à partir de bactéries ayant atteint leur maximum de croissance, comme dans tous les essais préalables.

Certains des résultats rapportés dans le Tableau IV (voir essais 19 et 20) permettent de voir que l'inhibition de l'oxydation de l'acide guanylique par la pénicilline est très sensiblement de même grandeur dans ces conditions, que dans celles décrites précédemment où les germes avaient été cultivés pendant 18 heures.

II. — *Etude chimique de l'action de la pénicilline sur le catabolisme de l'acide guanylique :*

D'après l'ensemble des expériences effectuées en utilisant la technique manométrique, on peut conclure que l'action inhibitrice de la pénicilline sur le métabolisme de l'acide ribonucléique chez *Staphylococcus aureus* (Oxford) porte principalement au niveau des dérivés de la guanine (acide guanylique et guanosine).

Pour préciser le mécanisme d'action de la pénicilline, nous avons vérifié par des analyses chimiques que :

1) La pénicilline inhibe la déphosphorylation de l'acide guanylique sans affecter notablement celle de l'acide adénylique.

On trouve résumées les conditions expérimentales dans le Tableau V. Notons que ce fait peut être comparé avec nos observations antérieures sur *Clostridium sporogenes* relatives à l'inhibition par la pénicilline de la déphosphorylation des deux mononucléotides puriques. Dans le cas du Staphylocoque, l'inhibition porte seulement sur la déphosphorylation de l'acide guanylique. Cette différence entre deux espèces bactériennes sera discutée plus loin.

TABLEAU V.

ACTION DE LA PÉNICILLINE SUR LA DÉPHOSPHORYLATION DES NUCLÉOTIDES PURIQUES PAR *Staphylococcus aureus* (Souche Oxford) A L'ÉTAT NON PROLIFÉRANT.

Suspension 1 ml (32,5 mg de bactéries poids sec) ; 1 ml tampon boraté pH 7,2 ; substrat : 1 ml (10 mg) ; pénicilline 1 ml (5000 U.O.). Volume total : 10 ml. Témoins sans substrat. Agitation 10 heures à 37° C. Déprotection par l'acide trichloracétique à 10 p. 100. Les ions PO₄ sont précipités après neutralisation des filtrats par la baryte selon CORI [24] et dosés selon BRIGGS [15]. Résultats en microgrammes d'acide phosphorique libéré des nucléotides.

Substrats	Sans pénicilline	Avec pénicilline
Acide guanylique.....	255	45
Acide adénylique.....	360	276

2) La pénicilline inhibe de façon marquée l'hydrolyse de la guanosine en guanine et ribose par des suspensions de *Staphylococcus aureus* (voir Tableau VI). Ceci est mis en évidence par le dosage de la guanine libérée par hydrolyse du nucléoside.

TABLEAU VI.

EFFET DE LA PÉNICILLINE SUR LE MÉTABOLISME DE LA GUANOSINE CHEZ *Staphylococcus aureus*. ETUDE DE LA LIBÉRATION DE LA GUANINE A PARTIR DU NUCLÉOSIDE. (Souche Oxford).

1 ml de suspension bactérienne contenant 50 mg de bactéries (poids sec) ; 10 mg de guanosine ; 1 ml de tampon phosphate M/15, pH 7,2. Volume total : 5 ml. Pénicilline 1000 µg/ml. Agitation permanente du milieu pendant 12 heures à 37° C. La guanine libérée est dosée selon CRAFT et MACULA après déprotéinisation par l'acide trichloracétique à 10 p. 100.

	Guanine libérée en microgrammes
Sans pénicilline.....	2430
Avec pénicilline	1200

Rappelons que la pénicilline inhibe également chez *Clostridium sporogenes* la libération de guanine à partir de l'acide guanylique (expériences effectuées avec des suspensions de germes lavés).

L'ensemble de ces analyses chimiques permet donc de confirmer ce qu'avaient permis d'établir les études manométriques : *la pénicilline inhibe le catabolisme des combinaisons renfermant de la guanine par des suspensions de Staphylococcus aureus à l'état non proliférant.*

3) Un système enzymatique sensible à la pénicilline a pu être extrait des bactéries. Nous avons en effet obtenu récemment un extrait bactérien soluble dans l'eau et ayant le pouvoir de catalyser l'oxydation des nucléotides puriques [21]. Son action enzymatique sur l'acide guanylique est totalement inhibée par de très petites doses de pénicilline (telles que 60 microgrammes par ml), tandis que l'action sur l'acide adénylique n'est pas inhibée. (Des travaux sont en cours pour la purification de cet enzyme).

b) Comparaisons entre la souche Oxford et d'autres souches de *Staphylocoques* (N₁₃₁, N₁₃₃).

Pour voir si l'action de la pénicilline sur le métabolisme de l'acide guanylique constitue un fait de portée générale, nous avons utilisé d'autres souches, en l'occurrence, les souches N₁₃₁ et N₁₃₃ dont les sensibilités à la pénicilline sont voisines de celle de la souche Oxford.

On peut constater (Tableau VII) que le comportement des souches Oxford et N₁₃₃ vis-à-vis de la pénicilline est le même, tandis que chez la souche N₁₃₁, l'action de la pénicilline sur l'oxydation de l'acide guanylique par des suspensions de bactéries non proliférantes est très faible. Les expériences furent effectuées par la méthode manomé-

trique de Warburg (moyenne des taux d'inhibition après 5 h : 10 p. 100).

TABLEAU VII.

ACTION DE LA PÉNICILLINE SUR LE CATABOLISME DE L'ACIDE RIBONUCLÉIQUE ET DES NUCLÉOTIDES CHEZ *Staphylococcus aureus* N₁₃₁ ET N₁₃₃. ADDITION D'ANTIBIOTIQUE A DES SUSPENSIONS DE MICROBES LAVÉS NON PROLIFÉRANTS.

Les conditions expérimentales ont été décrites dans le Tableau II. Les deux souches de Staphylocoques furent cultivées sur bouillon de type V.F. (glucosé à 1 p. 1000). Pénicilline 2.000 U.O./ml. Volume total : 2 ml.

	Substrats étudiés	µl O ₂ consommé sans pénicilline	Poids de bactéries mises en œuvre en mg	Taux d'inhibition p. 100 après 5 heures en présence de pénicilline
Souche N 133	Acide ribonucléique.....	122	30	55
	Mélange des 4 mononucléotides à parties équimoléculaires.....	420	30	34
	Acide guanylique.....	118	22	48
	Acide adénylique.....	(517)	22	0
Souche N 131	Acide ribonucléique.....	231	25	0
	Mélange des 4 mononucléotides (levure).....	493	25	4
	Acide guanylique.....	235	28	8
	Acide adénylique.....	208	16	17

On pouvait se demander si, dans le cas de la souche N₁₃₁, l'action de la pénicilline portait sur un mononucléotide autre que l'acide guanylique ou bien seulement sur les polynucléotides. Il n'en est rien. En effet, on n'observe aucune action significative de l'antibiotique sur le catabolisme de l'acide ribonucléique ou du mélange des 4 nucléotides lorsque l'on ajoute la pénicilline à des suspensions de germes non proliférants.

L'insensibilité du catabolisme ribonucléique chez *St. aureus* N₁₃₁ constituait un fait troublant car, pour la première fois l'action de la pénicilline sur une bactérie sensible semblait indépendante de son intervention dans le métabolisme de l'acide ribonucléique.

Frappés par ce fait, nous nous sommes demandé si les cellules de *St. aureus* N 131 n'étaient pas, à l'état non proliférant particulièrement imperméables à la pénétration de l'antibiotique. Effectivement, en reprenant notre étude avec des cellules soumises pendant leur prolifération à l'action de la pénicilline, nous avons pu mettre en évidence, une forte action inhibitrice sur le catabolisme de l'acide guanylique dans des conditions où respiration et activités fermentaires ne sont pratiquement pas influencées (voir le détail de nos expériences page suivante).

L'action de la pénicilline sur le catabolisme des nucléotides pures constitue donc bien un fait de portée générale. De plus, les faits mentionnés justifient pleinement le point de vue suivant lequel la pénicilline agit difficilement sur les bactéries à l'état de repos, mais s'avère un poison énergique pour les cellules en voie de division.

Ces faits et ces considérations permettent d'expliquer que certains auteurs recherchant, à la suite de nos premiers résultats, l'action de la pénicilline sur le catabolisme de l'acide guanylique par des suspensions de *Staphylococcus aureus* non proliférant, n'aient pas perçu d'action inhibitrice (voir [14]), tandis que d'autres auteurs la confirmaient.

Ces différences peuvent être imputées à des dissemblances dans la perméabilité des bactéries qui constituaient les émulsions étudiées par les divers auteurs.

B. -- Métabolisme des mononucléotides et des nucléosides chez les germes traités par la pénicilline à diverses phases du développement de la culture.

Les recherches avec la pénicilline radioactive [25] ont montré que la pénétration de l'antibiotique dans la cellule bactérienne est beaucoup plus intense quand on s'adresse à des germes en pleine division que lorsque les bactéries sont à l'état non proliférant. Les modifications métaboliques dues à la pénicilline doivent donc être plus mar-

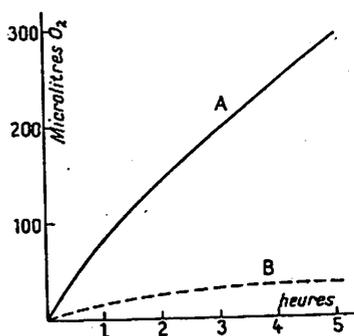


FIG. 4.

FIG. 4. — A, oxydation de l'acide adénylique par *St. aureus* (Oxford). B, après addition de pénicilline (fin de la phase de latence, 2 U.O. par ml), durée de contact, 1 heure.

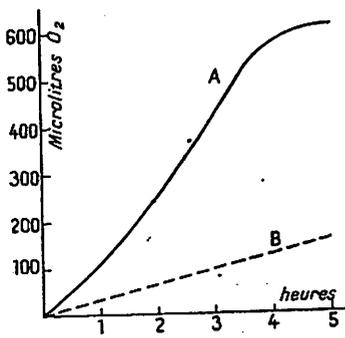


FIG. 5.

FIG. 5. — A, oxydation de l'acide guanylique par *St. aureus* (Oxford). B, après traitement par la pénicilline (2 U.O. par ml ajoutés à la fin de la phase de latence), durée de contact : 1 heure.

quées lorsque l'antibiotique est ajouté à des bactéries en pleine croissance. Nous avons recherché ce que devenait le catabolisme des nucléotides et des nucléosides chez *Staphylococcus aureus* Oxford et N₁₃₁ traité par la pénicilline à diverses phases de la prolifération. Nous avons opéré, en général, de la manière suivante : Dans une série de fioles coniques soumises à une agitation permanente on effectue des cul-

tures de Staphylocoques en milieu V.F. glucosé. Les milieux sont ensemencés avec un inoculum correspondant au $1/10^6$ du volume total et

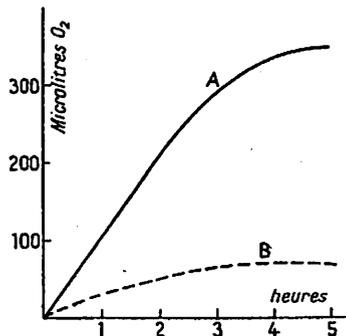


FIG. 6.

Fig. 6. — A, oxydation de la guanosine par *St. aureus* (Oxford).
B, traité par la pénicilline (2 U.O. par ml) ; durée de contact : 1 heure (fin de la phase de latence).

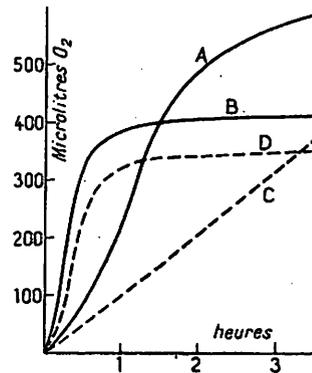


FIG. 7.

Fig. 7. — A, oxydation du glucose par *St. aureus* « N 131 ».
B, oxydation de l'acide guanylique.
C et D, mêmes processus après traitement par la pénicilline (10 U.O. par ml) ; addition en phase exponentielle ; durée de contact : 1 heure.

constitué par une culture bactérienne de 24 heures sur milieu peptoné. On mesure à divers instants la densité optique de la culture microbienne.

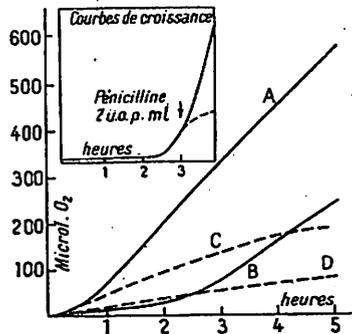


FIG. 8.

Fig. 8. — A et B, oxydation de l'acide guanylique (A) et de la guanosine (B) par *St. aureus* (Oxford).

C et D, mêmes processus chez les germes traités par la pénicilline (2 U.O.) au cours de la phase exponentielle de croissance.

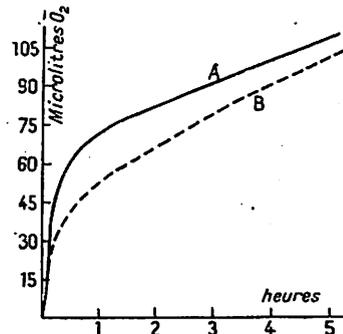


FIG. 9.

Fig. 9. — A, respiration de *St. aureus* (Oxford) au sein d'un tampon phosphaté.
B, après traitement par la pénicilline (2 U.O. par ml), fin de la phase de latence.

Trente minutes après la fin de la phase de latence (phase d'accélération de la croissance) ou bien 120 minutes après la fin de la phase de

latence (phase exponentielle), les cultures sont réparties en deux lots. L'un des lots reçoit de la pénicilline (de 3 à 10 U.O./ml, suivant les souches), tandis que l'autre sert de témoin de croissance normale. Une heure après l'addition de pénicilline, on recueille par centrifugation à basse température, les bactéries de la série témoin et de la série traitée par la pénicilline. On les lave par de l'eau distillée, à basse température, puis on les met en suspension dans l'eau distillée.

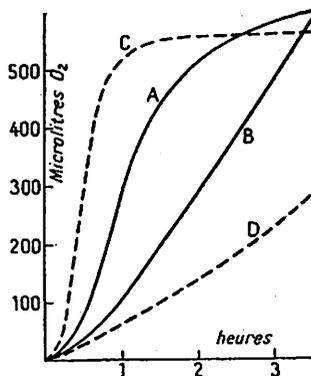


Fig. 10. — A, oxydation de l'acide guanylique par *St. aureus* (Oxford).
B, Oxydation du glucose.
C et D, mêmes processus après traitement par la pénicilline (3 U.O. par ml), addition en phase exponentielle ; durée de contact : 1 heure.

On amène les deux suspensions microbiennes à la même densité optique (leur contenu exact en bactérie sera apprécié ultérieurement par pesée des microbes après dessiccation à 100° C de parties aliquotes des suspensions). Les suspensions des deux types sont alors placées dans les fioles de l'appareil de Warburg en présence des divers substrats, puis on suit la consommation d'oxygène à 37° C pendant 5 heures.

RÉSULTATS.

Les courbes ci-contre révèlent que *Staphylococcus aureus* soumis à l'action de doses bactériostatiques de pénicilline au cours de son développement voit diminuer ses capacités d'utilisation de diverses substances nucléiques.

Que la pénicilline soit ajoutée pendant la phase d'accélération de la croissance ou en pleine phase exponentielle, les résultats sont sensiblement identiques.

Chez les souches « Oxford » et « N 131 », la consommation d'oxygène en présence d'acide guanylique, d'acide adénylique ou de guanosine est inférieure de 70 à 90 p. 100 chez les bactéries ainsi traitées par rapport aux consommations d'oxygène des bactéries qui se sont développées normalement en absence de pénicilline (courbes 4, 5, 6, 7 et 8).

Dans les mêmes conditions, la respiration endogène des bactéries,

ou leur consommation d'oxygène en présence de glucose sont seulement ralenties de 15 à 20 p. 100 (courbes 9 et 10).

Ces faits montrent avec netteté que des perturbations profondes dans le métabolisme des nucléotides et des nucléosides puriques accompagnent l'action bactériostatique de la pénicilline. Ce ralentissement considérable dans la dégradation des nucléotides puriques permet d'expliquer les observations récentes de MITCHELL [10] qui note l'accumulation de nucléotides puriques par des staphylocoques soumis à l'action de petites doses de pénicilline voisines de la limite bactériostatique.

Les études manométriques ne donnant qu'une idée indirecte du catabolisme des combinaisons puriques, nous avons recherché, au moyen d'analyses chimiques, si la perturbation causée dans le catabolisme des nucléotides portait sur la déphosphorylation de ces substances ou sur l'hydrolyse de la liaison osidique entre la base et le sucre.

Activité phosphomonoestérasiqne de Staphylococcus aureus traité par la pénicilline au début de la phase exponentielle :

Nous avons limité cette étude au cas de l'acide guanylique qui est le plus intéressant comme nous venons de le montrer. Le principe de cette recherche fut d'étudier l'intensité de la déphosphorylation du nucléotide par des germes non proliférants. Les émulsions témoins avaient été préparées avec des germes ayant subi une croissance normale pendant 5 heures. On comparait leur activité avec celle de suspensions de germes qui, après une croissance normale pendant 4 heures avaient été laissés en contact pendant une heure avec de la pénicilline introduite dans le milieu de culture à la dose de deux unités Oxford par ml. Nous avons pu constater que ce traitement préalable par l'antibiotique entraîne seulement un ralentissement de 20 p. 100 de l'activité phosphatasique (Tableau VIII).

TABLEAU VIII.

ACTIVITÉ PHOSPHATASIQUE DE *Staphylococcus aureus* SOUMIS PENDANT SON DÉVELOPPEMENT A L'ACTION DE LA PÉNICILLINE (3 U. O. PENDANT 1 HEURE).

1 ml de suspension (5 mg/ml) est mis en présence d'acide guanylique (1 mg/ml). Le nucléotide est neutralisé par la soude normale. Tampon boraté, pH 7,4, M/75. Volume total : 5 ml. Agitation à 37° C. Durée d'incubation : 5 heures. Ions PO₄ doses selon BRIGGS [15]. Tous les échantillons en double exemplaire.

	Quantité d'acide phosphorique libérée après 5 heures en µg (témoins déduits)
Témoin	355
Bactéries traitées par la pénicilline...	295

Or nous avons trouvé, par la méthode manométrique, une inhibition de 80 p. 100 dans la consommation d'oxygène dans les mêmes

conditions, ce qui indique l'existence d'une perturbation plus marquée à un niveau différent du catabolisme nucléotidique. Nous devons donc conclure que la perturbation essentielle causée par la pénicilline doit être localisée au niveau de l'hydrolyse de la liaison osidique et non à celui de la liaison ester entre l'acide phosphorique et le ribose.

D'ailleurs, la très forte inhibition du catabolisme oxydatif de la guanosine que nous avons mise en évidence dans un essai sur des bactéries traitées pendant la croissance, justifie pleinement cette manière de voir.

ETUDES COMPARATIVES SUR UN AUTRE ANTIBIOTIQUE
ET SUR UN ANTISEPTIQUE :

L'influence de la pénicilline a été comparée avec celle d'autres agents inhibant la croissance de *Staphylococcus aureus* (Oxford) : streptomycine, 8-hydroxyquinoléine, Bacitracine (Tableau IX).

TABLEAU IX.

EFFET DE LA STREPTOMYCINE, DE LA 8-HYDROXYQUINOLÉINE ET DE LA BACITRACINE SUR LE MÉTABOLISME DES NUCLÉOTIDES CHEZ STAPHYLOCOCCUS AUREUS (Souche Oxford).

Mêmes conditions expérimentales que dans le Tableau II sauf pour les expériences avec la Bacitracine où les bactéries provenaient d'une culture de 10 heures et où chaque cupule renfermait 25 mg de bactéries (poids. sec).

Substrats étudiés	µl O ₂ (Microlitres) consommation endogène déduite)						
	Streptomycine		Oxyquinoléine			Bacitracine	
	sans	avec 200 µg/ml	sans	M/5000	M/3000	sans	avec 200 µg/ml
Acide guanylique (*)	190	250	203	100	40	—	—
Acide guanylique (**)	—	—	—	—	—	554	247
Acide adénylique.....	325	225	213	105	78	—	—
Acide citydylique.....	—	—	498	318	198	—	—
Guanosine.....	540	595	—	—	—	—	—
Adénosine.....	610	540	—	—	—	—	—
Mélange équimoléculaire des 4 ribonucléotides.....	—	—	—	—	—	535	286

(*) Préparé par nous.
(**) Pur cristallisé.

On peut voir dans le Tableau IX, que, contrairement à la pénicilline, la streptomycine (200 µg/ml) n'influence pas notablement le catabolisme de l'acide guanylique ou de l'acide adénylique dans nos suspensions de Staphylocoques non proliférantes.

La 8-hydroxyquinoléine à basses concentrations, telles que M/5.000, manifeste déjà un effet inhibiteur notable (30 à 50 p. 100 suivant les

nucléotides) ; à des concentrations plus élevées, telles que M/3.000, on note une très forte inhibition du catabolisme de tous les nucléotides étudiés. GALE [26] a montré que la 8-hydroxyquinoléine inhibe, tout comme la pénicilline, l'assimilation de l'acide glutamique (à une concentration de M/3.000).

D'après GALE [26], l'action inhibitrice de la quinoléine sur ce processus relève d'un mécanisme différent de celui qui est impliqué dans l'action de la pénicilline. En effet, l'inhibition peut être renversée par l'addition de métaux divalents. En outre, contrairement à la pénicilline, elle s'exerce même sur des germes placés à l'état non proliférant. Nous voyons ici que, à l'inverse de la pénicilline, la 8-hydroxyquinoléine agit indifféremment sur le catabolisme de 3 mono-nucléotides, tandis que l'antibiotique n'agissait que sur l'acide guanylique, du moins chez la souche Oxford. Ceci démontre de toutes manières que 8-hydroxyquinoléine et pénicilline possèdent certains points d'action communs sur les bactéries.

Il en va de même pour la bacitracine qui, tout comme la pénicilline, inhibe le catabolisme oxydatif de l'acide guanylique d'une façon très profonde.

Notons qu'un travail récent de PAINE [27] montre que la Bacitracine possède un mécanisme d'action très voisin de celui de la pénicilline. Comme la pénicilline, elle inhibe l'assimilation de l'acide glutamique et de plus, les germes résistant à l'action de la pénicilline sont également résistants à son action.

En résumé, les systèmes enzymatiques, qui chez les bactéries à Gram positif, participent à l'utilisation des ribonucléotides (ou des nucléosides), semblent très sensibles à l'action de divers médicaments ; leur importance biologique est encore mal connue ; il est possible qu'une relation existe entre l'utilisation de ces dérivés et le transfert énergétique des aminoacides à travers la membrane. En effet les drogues qui à faibles doses sont capables d'entraver le métabolisme des nucléotides (pénicilline, Bacitracine, hydroxyquinoléine) suppriment également le pouvoir d'assimilation vis-à-vis de l'acide glutamique [26, 27].

Il est remarquable que les poisons microbiens qui inhibent le catabolisme nucléotidique et l'assimilation de l'acide glutamique ont très sensiblement le même spectre d'activité bactériostatique [26, 27].

La toxicité biochimique *spécifique* des drogues étudiées ne repose donc pas sur l'une ou l'autre de ces deux actions (métabolisme nucléique et protidique). Les inhibitions de ces processus biologiques seraient seulement capables d'expliquer pourquoi tel poison microbien qui les provoque agit sur tel groupe de microorganismes pour qui ces processus sont fondamentaux.

Recherches sur des souches de staphylocoques pénicillino-résistants.

Les considérations antérieures nous ont conduits à entreprendre l'étude d'une souche pénicillino-résistante de Staphylocoque afin d'examiner si le catabolisme des nucléotides était affecté par la pénicilline comme c'était le cas dans des souches sensibles.

La souche résistante fut obtenue à partir de la souche Oxford au moyen de cultures successives en présence de concentrations croissantes de pénicilline. De cette façon, on obtient une souche qui a un très haut degré de résistance (4 000 U.O./ml).

Nous avons pu constater, que dans cette souche résistante (en opposition avec la souche sensible), quand la pénicilline est ajoutée à des suspensions de bactéries à l'état non proliférant, le métabolisme de l'acide guanylique et de la guanosine est très peu influencé par l'addition d'antibiotique. Ce fait est en accord avec l'hypothèse que l'action de la pénicilline sur le métabolisme des monoribonucléotides est liée directement avec son effet antibiotique sur la cellule bactérienne (voir Tableau X).

TABLEAU X.

EFFET DE LA PÉNICILLINE SUR LE MÉTABOLISME DE LA GUANOSINE ET DE ET DE L'ADÉNOSINE CHEZ UNE SOUCHE DE *Staphylococcus aureus* PENICILLINO-RÉSISTANTE.

Pour les conditions expérimentales, voir Tableau I.

Substrats	Consommation d'oxygène en mm ³ après 5 heures à 37° c par 50 mg de bactéries (poids sec)	
	sans pénicilline	avec pénicilline (240 µg par ml)
Guanosine.....	665	770
Adénosine.....	625	575

Discussion.

Les faits observés dans les travaux antérieurs sur le mode d'action biochimique de la pénicilline ont orienté les conceptions dans deux voies distinctes :

1° KRAMPITZ et WERKMAN [3], ainsi que nous-mêmes [3], puis MITCHELL [10] et enfin PARK et JOHNSON [11] avons mis en évidence l'action de la pénicilline sur le métabolisme des ribonucléotides.

2° GALE [28], d'autre part, montra que la pénicilline inhibe la captation de l'acide glutamique chez les Staphylocoques et tout récemment, FRUTON [29] et HOTCHKISS [30] ont observé divers troubles de la synthèse peptidique sous l'influence de l'antibiotique.

En somme, deux grandes séries métaboliques paraissent s'opposer :

1° le métabolisme ribonucléique ; 2° le métabolisme protéique.

Un ensemble de faits nous a conduits depuis longtemps [2] à penser que l'inhibition de l'assimilation des aminoacides était simplement une conséquence d'une modification d'un processus métabolique plus fondamental constituant en quelque sorte le point central de l'action de l'antibiotique et nous avons pensé que ce point central était le métabolisme des ribonucléotides : bientôt d'ailleurs, GALE, après diverses

constatations faites par lui-même ou par son collaborateur MITCHELL [10] s'est rangé au même avis [7].

Voici divers faits récemment observés par divers auteurs qui viennent étayer le point de vue selon lequel l'action de l'antibiotique sur l'anabolisme protidique est seulement une conséquence d'un trouble plus fondamental.

1° *Bacillus subtilis* ne requiert pas d'acides aminés préformés pour sa croissance et peut couvrir ses besoins en azote à partir de sels ammoniacaux pourvu que des glucides lui soient fournis. Ce germe gram positif, qui, dans ces conditions n'assimile pas d'acides aminés libres, est cependant pénicillino-sensible [31] [32].

2° HOTCHKISS [30], en se plaçant dans des conditions sensiblement similaires à celles de GALE ne trouve pas d'action inhibitrice de la pénicilline sur l'utilisation de l'acide glutamique. Ce résultat est en désaccord avec celui de GALE. Il est vrai que les deux auteurs n'ont pas utilisé des souches de *Staphylococcus* identiques, mais la souche utilisée par HOTCHKISS est, elle aussi, fortement sensible à l'action de la pénicilline.

En somme, le phénomène que GALE a observé n'est pas général pour toutes les bactéries pénicillino-sensibles ; il est particulier à certaines espèces, voire à certaines souches dans une espèce donnée.

3° Il semble enfin, d'après les travaux de GALE lui-même, que la suppression totale du pouvoir assimilateur des acides aminés par la pénicilline requiert un certain temps de contact entre la pénicilline et les bactéries (environ 1 h) tandis que « l'hyperaccumulation » de mononucléotides notée par MITCHELL [10] débute instantanément. On est donc conduit à penser que la pénicilline agirait en premier lieu sur certains processus métaboliques (peut-être générateurs d'énergie) faisant intervenir des ribonucléotides, et qui seraient nécessaires à l'assimilation de certains acides aminés et à l'anabolisme protéique.

Le présent travail, en analysant les modalités d'action de la pénicilline sur le métabolisme de l'acide ribonucléique et de ses dérivés métaboliques, conduit aux conclusions suivantes :

1° La perturbation causée par la pénicilline dans le métabolisme de l'acide ribonucléique chez *Staphylococcus aureus* se ramène à un ralentissement profond dans l'utilisation de certains ribonucléotides et nucléosides, la dépolymérisation des polynucléotides n'étant pas influencée par l'antibiotique (GROS et al. [8], KLOTZ [9]). Ceci confirme l'hypothèse que nous avons émise dès 1947 pour généraliser nos observations relatives à l'inhibition du métabolisme des ribonucléotides puriques chez *Clostridium sporogenes*.

2° Dans le cas des bactéries *proliférantes*, les modifications dans l'utilisation des ribonucléotides apparaissent sous l'influence de doses de pénicilline extrêmement petites (limite inférieure bactériostatique). Lorsqu'on étudie le métabolisme de l'acide ribonucléique avec des bactéries à l'état *non proliférant*, des concentrations d'antibiotique beaucoup plus grandes sont requises pour permettre d'observer des inhibitions notables. Mais on opère alors sur des émulsions contenant une masse considérable de bactéries par unité de volume et, d'autre

part, la pénétration de l'antibiotique dans les cellules bactériennes au repos ne doit pas s'effectuer aussi bien que dans les cellules en voie de division.

3° Lorsque l'on introduit la pénicilline dans des émulsions de bactéries non proliférantes, on n'obtient pas des résultats entièrement superposables à ceux obtenus lorsque l'antibiotique est mis en contact avec des bactéries en pleine division (phase exponentielle de croissance). Exemple : dans le 1^{er} cas, le catabolisme de l'acide adénylique n'est pas inhibé, l'inhibition porte uniquement sur l'acide guanylique et un peu sur l'acide uridylique. Lorsque la pénicilline est ajoutée, au contraire, à des germes en pleine division, l'inhibition intéresse en outre le catabolisme de l'acide adénylique.

Notons enfin que lorsque l'on utilise la technique des bactéries non proliférantes, mises en présence de doses élevées d'antibiotique, les résultats sont influencés aussi par l'espèce bactérienne ou même par la souche au sein d'une même espèce.

1^{er} exemple : Chez *Clostridium sporogenes* non proliférant, la pénicilline inhibe fortement le catabolisme des quatre ribonucléotides.

2^o exemple : Chez *Staphylococcus aureus*, on observe de profondes différences entre les souches N₁₃₃ et N₁₃₁ en ce qui concerne l'acide guanylique.

Ces faits expliquent certaines divergences entre les résultats publiés par divers auteurs.

En somme, l'action de la pénicilline sur le métabolisme des ribonucléotides n'intéresse pas un seul nucléotide particulier, mais peut intéresser les quatre ribomononucléotides. Suivant les conditions de l'action de l'antibiotique, l'inhibition porte plus particulièrement sur certains mononucléotides.

4° L'action de la pénicilline sur le métabolisme des mononucléotides ne doit pas être localisée au niveau de l'utilisation du ribose ou du ribose phosphate. En effet, l'antibiotique n'affecte pas le métabolisme de ces substances par *Staphylococcus aureus*. Il semble au contraire que c'est le métabolisme de la liaison osidique (entre la base et le ribose) qui soit sensible à l'action de la pénicilline. Ceci découle de nos observations relatives à l'influence de la pénicilline sur le métabolisme de la guanosine. *Le nucléoside s'avère l'unité nucléique la plus simple dont l'utilisation par la bactérie est empêchée par la pénicilline.*

L'inhibition de la synthèse de l'acide ribonucléique [6] [7] sous l'influence de la pénicilline pourrait donc avoir son point de départ dans l'incapacité pour la cellule bactérienne de réaliser la synthèse de certains nucléosides essentiels.

BIBLIOGRAPHIE.

1. GROS et MACHEBOEUF. — *C. R. Acad. Sci.*, 1947, 224, 298.
2. GROS et MACHEBOEUF. — *Ann. Inst. Pasteur*, 1948, 74, 368.
3. KRAMPITZ et WERKMAN. — *Arch. Biochem.*, 1947, 12, 57.
4. BOIVIN, TULASNE, VENDRELY et MINCK. — *Bull. Acad. Med.*, 1948, 132, 31.
5. PRATT et DUFRESNOY. — *J. Bact.*, 1948, 54, 357.

6. VENDRELY, TULASNE et MINCK. — *C. R. Soc. Biol.*, 1948, 142, 239.
7. GALE. — *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1948, 83, 119.
8. GROS, RYBAK, MACHEBOEUF et RAMBECH. — *C. R. Acad. Sci.*, 1948, 226, 1550.
9. KLOTZ, URQUAHRT et WEBER. — *Arch. Bioch.*, 1950, 264, 30.
10. MITCHELL. — *Nature*, 164, 259.
11. PARK et JOHNSON. — *J. Biol. Chem.*, 1949, 179, 585.
12. TULASNE et VENDRELY. — *C. R. Acad. Sci.*, 1950.
13. ZITTLE. — *J. Biol. Chem.*, 1945, 160, 530.
14. KRAMPITZ. — *Ann. Rev. Microbiol.*, 1950.
15. BRIGGS. — *J. Biol. Chem.*, 1922, 53, 13.
16. CRAFT et MACULLA. — *J. Biol. Chem.*, 1935, 110, 71.
17. JOHNS et PERKINS. — *J. Biol. Chem.*, 1925, 62, 55.
18. BREDERECK et RICHTER. — *Ber. Chem. Gesell.*, 1938, 71, 718.
19. DICKENS. — *Biochem. Journ.*, 1938, 32, 1626.
20. HENRY, HENRY, HOUSEWRIGHT et BERKMANN. — *J. Bact.*, 1948, 56, 527.
21. GROS, BELJANSKI et MACHEBOEUF. — *C. R. Acad. Sci.*, 1950, 231, 184.
22. ALBAUM et UMBREIT. — *J. Biol. Chem.*, 1947, 167, 370.
23. LATTERADE. — (Sous presse).
24. CORI et CORI. — *J. Biol. Chem.*, 1931, 94, 561.
25. COOPER et ROWLEY. — *Nature*, 1949, 163, 480.
26. GALE. — *J. Gen. Microb.*, 1949, 3, n° 3.
27. PAINE. — *J. Bact.*, 1951, 61, n° 3.
28. GALE et TAYLOR. — *J. Gen. Microbiol.*, 1947, 1, 314.
29. SIMMONDS, SOFIA et FRUTON. — *Science*, 1950, 111, 2883.
30. HOTCHKISS. — *J. Exptl. Med.*, 1950, 91, 351.
31. GRELET. — *Ann. Inst. Pasteur*, 1949, 77, 263.
32. HUNTER et BAKER. — *Science*, 1949, 1104, 23.



Le Gérant : G. MASSON.

Dépôt légal : 1^{er} trimestre 1951. — Numéro d'ordre : 1322. Masson et Cie.
édit., Paris.

Imprimerie M. DECLUME, Lons-le-Saunier (31.2160)