

**ETUDE A L'AIDE DU ³²P DE L'ACCUMULATION
DES ACIDES NUCLEIQUES
CHEZ STAPHYLOCOCCUS AUREUS
ET SALMONELLA ENTERITIDIS RÉSISTANTS ET SENSIBLES
A LA STREPTOMYCINE.**

par M. BELJANSKI et J. GUELFY.

(Institut Pasteur, Laboratoire de Chimie Biologique,
Laboratoire de Physique Médicale de la Faculté de Médecine de Paris
[professeur STROHL]
et Laboratoire d'Isotopes de l'Institut G.-Roussy [professeur BUGNARD].)

En faisant proliférer quelques souches bactériennes streptomycino-sensibles et streptomycino-résistantes sur milieu gélosé, nous avons montré [1] que des souches résistantes à la streptomycine accumulaient notablement plus d'acide ribonucléique (certaines accumulaient également de l'acide désoxyribonucléique [2, 10]), que les souches sensibles de mêmes espèces. A l'aide du phosphore radioactif (Na₂HP*O₄) nous avons suivi l'accumulation des acides nucléiques par nos souches bactériennes. Les résultats obtenus sont présentés dans ce travail.

Plusieurs auteurs [3, 4, 5, 6] ont déjà étudié l'assimilation du ³²P sous forme d'ions phosphoriques, par les « resting bacteria » et par les bactéries en prolifération, ainsi que son incorporation dans les constituants de la cellule bactérienne. L'effet léthal des radiations β émises par ce radioélément fut également observé. Ces études ont uniquement porté sur les souches bactériennes sensibles à des antibiotiques.

Sans tenir compte de l'effet léthal éventuel du ³²P, nous avons suivi l'assimilation du phosphore radioactif par les bactéries sensibles et résistantes à la streptomycine et son incorporation dans les acides nucléiques de ces souches.

Conditions expérimentales. — Deux espèces bactériennes furent utilisées pour notre travail : *Staphylococcus aureus* n° 133 et *Salmonella enteritidis* (var. Danysz). Les souches résistantes à 4 000 µg de streptomycine/ml furent obtenues par passages successifs de souches sensibles en milieu de culture additionné de doses croissantes d'antibiotique.

Aux bactéries sensibles et résistantes, ensemencées sur milieu gélosé dans des boites de Roux [4], nous avons ajouté du phosphate de sodium marqué par le ³²P (période 14,3 jours, rayonnement β

d'énergie moyenne de 1,69 Mev). La concentration de ^{32}P était de 0,24 mc/ml pour *Salmonella* et de 0,43 mc/ml pour *Staphylococcus* (1). La solution de phosphore radioactif ne contenait que des traces infimes de différents éléments radioactifs. Les bactéries furent récoltées après une heure d'incubation (début de la phase exponentielle de prolifération) et à la vingt-quatrième heure, centrifugées, lavées deux fois à l'eau distillée, et mises en suspension dans un faible volume d'eau distillée. Les acides nucléiques furent extraits avec de l'acide trichloracétique à chaud selon Schneider [7]. Les mesures de radioactivité ont été faites d'une part sur les bactéries lavées, et d'autre part sur l'extrait trichloracétique à chaud, après évaporation à l'étuve. Le compteur G. M. fut utilisé. Son mouvement propre était de l'ordre de 10 impulsions par minute.

Résultats. — Nos résultats sont exprimés en impulsions/minute pour 1 mg d'azote total microbien (tableau).

ESPÈCES BACTÉRIENNES	SOUCHES	BACTÉRIES LAVÉES		ACIDES NUCLÉIQUES (extrait trichloracétique à chaud)	
		1 h.	24 h.	1 h.	24 h.
<i>Staphylococcus aureus</i> , n° 133.	Sensible.	10 300	2 500	2 800	1 300
	Résistante.	11 400	4 500	3 300	2 300
<i>Salmonella enteritidis</i> (mutant G) [8.]	Sensible.	11 500	9 500	3 500	5 500
	Résistante.	16 500	17 000	6 000	8 500

Des souches streptomycino-résistantes accumulent à certaines périodes de leur prolifération plus de ^{32}P que les souches sensibles de mêmes espèces. L'extrait trichloracétique à chaud des souches résistantes est plus riche en phosphore radioactif que celui des souches sensibles. Il est également plus riche en acides nucléiques, ce qui est confirmé par les dosages classiques de ces acides [10].

Dans les conditions de nos expériences, au début de la phase exponentielle de prolifération, 30 p. 100 environ du ^{32}P assimilé par les bactéries, se trouvent incorporés dans les acides nucléiques, et 50 p. 100 à la vingt-quatrième heure. D'après Bonét-Maury et Dey-sine [11], le ^{32}P ajouté à la concentration de 1 mc/ml à une culture de *B. coli* en milieu liquide se fixe surtout à la surface des bactéries prélevées à la vingt-quatrième heure de leur prolifération. Pour Labaw et ses coll. [12] au contraire, le ^{32}P est utilisé quantitativement par les bactéries survivantes pendant la synthèse des acides nucléiques. Les résultats de Sternberg et Podoski [13] montrent que le ^{32}P ajouté

(1) Bonét-Maury et Walen [9] ont constaté que la vitesse de prolifération de *B. coli* n'est pas modifiée en présence d'une mc de ^{32}P par millilitre de milieu de culture.

sous forme minérale à une culture de *Mycobacterium phlei*, n'est pas adsorbé à la surface des bactéries, mais incorporé dans les différents constituants phosphorés de la cellule bactérienne. Nos résultats montrent que le ^{32}P n'est pas principalement fixé à la surface bactérienne, car, à la vingt-quatrième heure de prolifération, 50 p. 100 de ce radioélément se trouvent incorporés dans les acides nucléiques.

Conclusions. — A l'aide du ^{32}P nous avons suivi l'accumulation d'acides nucléiques chez les souches de *Salmonella enteritidis* et de *Staphylococcus aureus*, sensibles et résistantes à la streptomycine. Les souches résistantes accumulent à certaines périodes de leur prolifération plus de ^{32}P que les souches sensibles. Elles sont plus riches en acides nucléiques, ainsi que nous l'avons contrôlé par les dosages chimiques des acides nucléiques. La quantité de ^{32}P incorporé dans les acides nucléiques est d'environ 50 p. 100 de la quantité totale de ^{32}P fixé par les bactéries à la vingt-quatrième heure de leur prolifération.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] M. BELJANSKI. Thèse doctorat ès sciences, 1951, Paris, éd. Arnette.
- [2] M. BELJANSKI et M. GRUMBACH. *C. R. Acad. Sci.*, 1953, 236, 2111.
- [3] CL. H. WILLIAMS et coll. *J. Bact.*, 1940, 39, 19.
- [4] C. F. SCHMIDT. *J. Bact.*, 1948, 55, 705.
- [5] M. LINDAWER. *Naturwiss.*, 1951, 38, 307.
- [6] F. E. CLARK et C. A. J. GORING. *J. Bact.*, 1951, 62, 352.
- [7] SCHNEIDER. *J. biol. Chem.*, 1945, 161, 213.
- [8] J. SERVANT. *C. R. Soc. Biol.*, 1952, 146, 894.
- [9] P. BONÉT-MAURY et R. WALEN. *Ces Annales*, 1945, 71, 495.
- [10] M. BELJANSKI. *Ces Annales*, 1953, 85, 463.
- [11] P. BONÉT-MAURY et A. DEYSINE. *Ces Annales*, 1953, 84, 1052.
- [12] LABAW et coll. *J. Bact.*, 1950, 59, 251.
- [13] J. STERNBERG et MARIE-OLGA PODOSKI. *Ces Annales*, 1953, 84, 853.