

13

CHIMIE BIOLOGIQUE. — *Étude biochimique d'une souche de Mycobacterium tuberculosis streptomycino-sensible et d'une souche streptomycino-résistante dérivée de la souche sensible.* Note de M. MIRKO BELJANSKI et M<sup>me</sup> FRANÇOISE GRUMBACH, présentée par M. Gabriel Bertrand.

Une souche de *Mycobacterium tuberculosis* H<sup>37</sup>Ra résistant à la streptomycine accumule, pendant les premiers jours de la prolifération, des quantités d'acide ribonucléique et d'acide désoxyribonucléique beaucoup plus importantes que celles qu'accumule la souche sensible dont elle dérive.

Nous avons déjà montré <sup>(1)</sup>, <sup>(2)</sup>, <sup>(3)</sup> que des souches de diverses espèces bactériennes, résistant à la streptomycine, accumulent, au début de la phase exponentielle de prolifération, notablement plus d'acide ribonucléique que les souches sensibles de mêmes espèces. (Nous avons proposé une interprétation de ce phénomène.)

Pour vérifier la généralité de ces faits, nous avons étudié le métabolisme des acides nucléiques d'une souche humaine avirulente de *Mycobacterium tuberculosis* (H<sup>37</sup>Ra) sensible à 0,5 µg de streptomycine par millilitre et d'une souche (dérivée par des subcultures en présence de doses croissantes d'antibiotique) résistant à 2000 µg d'antibiotique par millilitre en milieu de Dubos.

Les deux souches, conservées sur milieu solide de Jensen sans streptomycine, ont subi deux passages sur milieu de Sauton avant que nous utilisions leurs voiles pour nos expériences. Notre milieu de culture ne contenait donc pas de streptomycine. Le maintien de la résistance a été vérifié en milieu de Dubos après chaque passage. Chaque souche a étéensemencée dans une série de ballons contenant chacun environ 200 ml de milieu de Sauton, avec des quantités de bactéries à peu près égales. Le prélèvement des cultures en voiles dans chaque série a eu lieu le 7<sup>e</sup>, le 15<sup>e</sup> et le 30<sup>e</sup> jour. Les bactéries ont été séparées du milieu de culture par filtration, lavées à l'eau distillée et séchées à 37°. La quantité des

<sup>(1)</sup> F. GROS, M. BELJANSKI, M. MACHEBOEUF et F. GRUMBACH, *Comptes rendus*, 230, 1950, p. 875.

<sup>(2)</sup> M. BELJANSKI, *Ann. Inst. Past.*, 83, 1952, p. 80.

<sup>(3)</sup> M. BELJANSKI, *Comptes rendus*, 236, 1953, p. 1102.

bactéries sèches utilisée dans nos expériences a varié de 250 à 1200 mg. L'extraction des acides nucléiques fut précédée de la délipidation. Les bactéries ont été délipidées par de l'alcool à 96° pendant 6 h à chaud, puis par du chloroforme dans les mêmes conditions. Après évaporation sous vide de ces solvants, les lipides libres totaux ont été séchés et pesés. Le résidu bactérien (25 mg) fut mis en présence d'acide trichloracétique et laissé à 4° pendant 24 h. Après centrifugation, on a extrait les acides nucléiques du résidu par la méthode de Schneider (<sup>4</sup>). Nous avons dosé l'acide désoxyribonucléique par la méthode de Dische (<sup>5</sup>) et l'acide ribonucléique par celle de Mejbaum (<sup>6</sup>), (<sup>7</sup>). D'autre part, nous avons dosé les acides nucléiques totaux en déterminant le phosphore nucléique (<sup>4</sup>). La vérification des résultats obtenus par les méthodes ci-dessus fut faite en étudiant l'absorption des rayons ultraviolets par les bases puriques et pyrimidiques des acides nucléiques.

Bien que les résultats obtenus par ces trois méthodes ne soient pas tout à fait superposables en valeur absolue (<sup>8</sup>), on a toujours trouvé, par chacune de ces trois méthodes, des différences quantitatives très nettes entre les taux des acides nucléiques des deux souches.

Nos résultats sont exprimés par les courbes des figures 1 et 2.

*Acides nucléiques* : milligrammes de P nucléique pour 100 mg de résidu bactérien délipidé (fig. 1).

*Lipides* : milligrammes de lipides libres totaux pour 100 mg de bactéries sèches non délipidées (fig. 2).

La souche streptomycino-résistante accumule beaucoup plus d'acides nucléiques (57 % au 7<sup>e</sup> jour) que la souche sensible. Cette différence diminue ensuite progressivement au cours de la prolifération bactérienne. Les dosages séparés d'acide ribonucléique et d'acide désoxyribonucléique ont montré qu'il y a non seulement accumulation d'acide ribonucléique, mais également d'acide désoxyribonucléique, contrairement à ce qui avait été observé avec les autres espèces bactériennes résistant à la streptomycine (<sup>1</sup>), (<sup>2</sup>).

Pour les lipides libres totaux, nous confirmons pour la souche sensible les résultats d'Asselineau (<sup>9</sup>) en ce qui concerne l'augmentation du taux

(<sup>1</sup>) *J. Biol. Chem.*, 161, 1945, p. 213 et 253.

(<sup>5</sup>) *Mikrochemie*, 8, 1930, p. 432.

(<sup>6</sup>) *Z. Phys. Chem.*, 258, 1939, p. 117.

(<sup>7</sup>) M. BELJANSKI et M. MACHEROEF, *C. R. Soc. Biol.*, 32, 1949, p. 174.

(<sup>8</sup>) Ce fait pourrait s'expliquer par la présence de divers polysides dans les extraits d'acides nucléiques.

(<sup>9</sup>) *Ann. Inst. Past.*, 81, 1951, p. 306.

des lipides au cours de la prolifération. Quant à la souche streptomycino-résistante que nous avons étudiée, nous constatons qu'elle est <sup>plus</sup> riche en lipides libres totaux au 30<sup>e</sup> jour que la souche sensible, tandis que nous n'observons pas cette différence au 7<sup>e</sup> et au 15<sup>e</sup> jour.

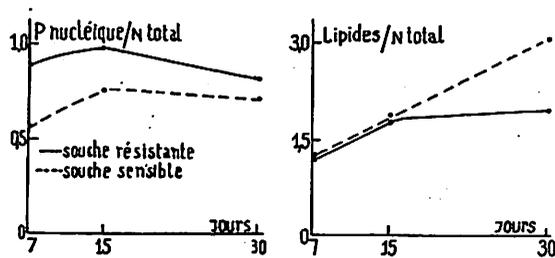
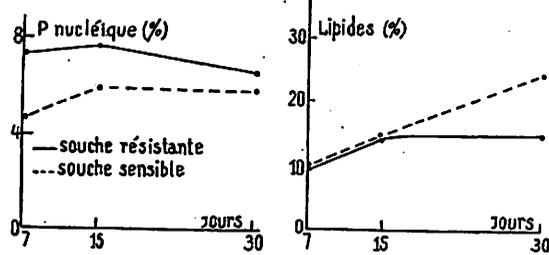


Fig. 1.

Fig. 2.

En ce qui concerne les protéines nous n'avons pas constaté de différence quantitative entre la souche streptomycino-sensible et la souche streptomycino-résistante.

(Extrait des *Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences*,  
t. 236, p. 2111-2114, séance du 27 mai 1953.)