

Mesure des concentrations intracellulaires en H⁺, Na⁺, K⁺ et ATP chez *Bacteroides succinogenes* adaptée à la monensine

E Forano

Laboratoire de Microbiologie, INRA, Theix, 63122 Ceyrat, France

Summary — *The internal concentrations of the cations H⁺, Na⁺, K⁺ and the intracellular ATP concentration were measured on B succinogenes adapted to the presence of the ionophore monensin (0.5 μM). Adapted bacteria were still able to regulate the intracellular concentrations of Na⁺ and K⁺, but their internal pH and ATP concentration were lower than in control bacteria.*

Introduction — *B succinogenes*, une des bactéries cellulolytiques les plus actives du ruminant, présente une inhibition de croissance en présence de l'ionophore monensine, mais elle est capable d'acquiescer une résistance à cet antibiotique (Henderson *et al*, 1981). Dans une étude préalable, nous avons montré que l'addition de monensine (10 μM) à une culture de *B succinogenes*, conduit instantanément à la fois à une acidification du pH intracellulaire, à une augmentation de la concentration en Na⁺ et à une diminution de la concentration en K⁺ intracellulaires (Forano, 1988). Dans le présent travail, les concentrations intracellulaires de ces ions et d'ATP, ont été mesurées sur des bactéries adaptées à la présence de l'ionophore, dans le but de comprendre le mécanisme d'adaptation.

Matériel et Méthodes — *B succinogenes*, S85, est cultivée dans les conditions décrites par Forano (1988). Les bactéries sont adaptées à 0,5 μM de monensine par 3 repiquages successifs en présence de 0,1 puis 0,5 μM de l'ionophore. Cette concentration inhibe totalement la croissance des bactéries témoins mais permet une croissance des bactéries adaptées qui est équivalente à celle des bactéries témoins (vitesse et taux de croissance identiques). Les

gradients de potentiel électrique ($\Delta\psi$) et chimique (ΔpH) de protons, ainsi que les concentrations intracellulaires en Na⁺ et K⁺ sont mesurés par les techniques décrites par Forano (1988). L'ATP intracellulaire est mesuré après extraction au diméthylsulfoxyde par bioluminescence de la luciférine-luciférase. L'ensemble des mesures est réalisé à 20°C, sur des triplets et sur plusieurs cultures différentes. Les bactéries sont prélevées en fin de phase exponentielle. Le pH du milieu de culture est alors de 6,0, et les concentrations en Na⁺ et K⁺ du milieu sont respectivement 75 et 5 mM. La valeur moyenne des concentrations internes par cellule est donnée dans le tableau I.

Résultats et Discussion — Les concentrations intracellulaires en Na⁺ et K⁺ des bactéries adaptées à 0,5 μM de monensine ne sont pas significativement différentes de celles des bactéries témoins. Par conséquent, les gradients transmembranaires pour ces deux ions sont également comparables, de même que le potentiel électrique $\Delta\psi$ (tableau I). Par contre, le pH intracellulaire est plus acide dans le cas des bactéries adaptées, qui semblent incapables de maintenir un gradient de pH transmembranaire.

La concentration intracellulaire en ATP a été mesurée avant et après addition de

Tableau I. Concentrations de Na⁺ et K⁺, pH et ATP intracellulaires et $\Delta\psi$.

	Na ⁺ _{int} (mM)	K ⁺ _{int} (mM)	pH _{int}	Δ pH (U pH)	$\Delta\psi$ (mV)	ATP (mM)
T	140	200	6,5	0,5	- 115	1,10
M	160	175	6,0	0,0	- 113	0,36
T + M						0,44

T = bactéries témoins; M = bactéries adaptées à 0,5 μ M de monensine; T + M = bactéries témoins incubées 30 min en présence de 10 μ M de monensine.

monensine (10 μ M) à des bactéries témoins, et parallèlement à des bactéries adaptées à 0,5 μ M de monensine. La monensine provoque la chute de la concentration en ATP chez les bactéries témoins. Cette chute peut être expliquée par une activation de l'ATPase protonique membranaire. Cette activation permettrait, par consommation d'ATP, une expulsion accrue de protons cytoplasmiques dans le but de contrebalancer l'acidification du pH intracellulaire provoquée par l'addition de monensine (Forano, 1988). Les bactéries adaptées à la monensine présentent de même une concentration intracellulaire en ATP inférieure à celle des bactéries témoins. Cette différence pourrait également être interprétée comme une réponse à l'acidification du pH cytoplasmique observée dans les bactéries adaptées.

En conclusion, il apparaît que le mécanisme d'adaptation de *B. succinogenes* à la monensine comprend probablement la capacité de croître avec un pH intracellulaire plus acide. D'autres modifications importantes du métabolisme des bactéries adaptées (production de succinate et d'acétate, activité cellulolytique) n'ont pu être mises en évidence au cours de ce travail.

Remerciements — L'auteur remercie la société Elanco, Lilly France, qui a financé en partie ce travail.

Forano E (1988) *Reprod Nutr Dev* 28 (suppl 1), 81-82
 Henderson C, Stewart CS, Nekrep FV (1981) *J Appl Bacteriol* 51, 159-169