ETUDE DE LA CAPSULE DE *MYCOTORULA ALBICANS* (CH. ROBIN, 1853)

Par P. NEGRONI

La capsule du champignon du muguet n'a pas encore été décrite. Son existence a été soupçonnée par l'auteur en étudiant sa composition antigénétique et en constatant que, dans les milieux de culture liquide, apparaissaient des substances hydrocarbonées sécrétées par ce champignon.

Aspect de la capsule. — Elle se présente comme une fine pellicule colorée en rose par la méthode de Hunton, entourant l'élément cellulaire qui apparaît uniformément teint en rouge. Les cellules mortes se colorent irrégulièrement et, dans l'intérieur, on observe les corpuscules métachromatiques teints en rouge-violacé.

La capsule, réduite à une ligne dans les pôles des cellules, grossit vers les côtés (1) en se décomposant par occasion (spécialement après avoir lavé avec de l'eau) en une série de feuillets stratifiés comme s'il s'opérait un clivage. Parfois elle éclate et il persiste, collés aux pôles des cellules, des restes filamenteux en frange. Ce dernier aspect semble se produire par suite de son extrême absorption aqueuse.

Influence de l'âge des cultures. — La capsule s'observe plus nettement dans les cultures jeunes de 15 à 20 heures, à 37° C. Dans les cultures de 2 à 3 jours, elle apparaît simplement comme un anneau fortement teint en rouge. Dans les cultures datant de 20 jours à un mois, on ne l'aperçoit pas.

Influence du milieu de culture. — On observe particulièrement bien la capsule en cultivant ce champignon dans des milieux contenant les hydrates de carbone qu'il consomme activement : glycose, maltose et lévulose. Voici le protocole de mes expériences :

1. Cultures de 15 heures à 37° sur agar-bouillon avec 2 p. 100 des

(1) Ceci n'est qu'un artifice de préparation, car si les pôles restent libres, sans contact avec les autres cellules, à son niveau la capsule grossit.

hydrates de carbone suivants : glycose ++, maltose ++, levulose ++, galactose ++, saccharose ++, lactose +, xylose +, amidon +, inuline +.

Témoin : agar-bouillon sans hydrate de carbone + (les croix indiquent l'intensité de formation de la capsule).

2. Cultures de 15 heures à 37° C. dans du bouillon additionné de 2 p. 100 des hydrates de carbone suivants : glycose ++, maltose ++, lévulose ++, galactose +, saccharose +, lactose +, inuline +, amidon +, glycérine +. Témoin : bouillon sans hydrate de carbone +. Ici, comme dans la précédente expérience, les croix indiquent l'intensité de formation de la capsule.

Pour obtenir de bonnes préparations des cultures dans des milieux liquides, il est bon de les centrifuger et les laver une fois avec de l'eau distillée en faisant les frottis avec le sédiment.

Influence du pH du milieu de culture. — Ces expériences furent faites avec du moût de bière, en faisant varier son pH de 6,5 à 9, en observant dans toutes la formation de capsule. Les pH inférieurs à 6,5 ne furent pas essayés.

Action du lavage à l'eau. — En lavant des cultures jeunes 6 fois avec de l'eau distillée, les éléments cellulaires conservent encore la capsule. Pour chaque lavage, on retira le liquide surnageant et on remit le sédiment en suspension dans de l'eau en aspirant et soufflant 4 ou 5 fois avec une pipette.

Lavage avec des solutions de borate et bicarbonate de soude. — Les préparations obtenues de cultures jeunes lavées une demi-douzaine de fois avec une solution aqueuse de borate de soude à 2 p. 100 montrent encore les éléments cellulaires avec capsule. La même chose a lieu en faisant les lavages avec une solution de bicarbonate de soude à 2 p. 100. En lavant trois fois les cellules avec une solution à 10 p. 100 de cette dernière substance, elles conservent la capsule, mais avec les particularités suivantes : elle est plus épaisse et comme imprégnée d'eau ; l'espace clair visible entre la capsule et le corps de la cellule augmente, comme si la capsule avait souffert un commencement de détachement. Au lieu de se présenter comme une pellicule fine et homogène, elle apparaît souvent comme dissociée en une série de lamelles stratifiées. Dans la même préparation, on voit des capsules rompues, comme si elles avaient éclaté par suite d'une forte absorption de la solution alcaline et en laissant vers les pôles des cellules des restes sous la forme

de filaments déchiquetés. Ces phénomènes s'observent avec une intensité beaucoup moins marquée après lavage à l'eau.

Les cultures faites avec les cellules lavées plusieurs fois avec les solutions alcalines furent positives ; elles restent donc vivantes.

Les cellules lavées avec la solution de borate de soude à 2 p. 100 forment des grumeaux et se suspendent mal dans l'eau. Je dois mentionner qu'avant de faire des préparations avec les cellules lavées avec les solutions alcalines, elles furent rincées une fois avec de l'eau pour enlever l'excès d'alcali qui pourrait rendre difficile l'obtention de bonnes colorations.

Lavages avec des solutions d'hydrate de sodium. — Ces expériences furent faites simultanément en mettant en suspension, dans les solutions indiquées ci-dessous, le matériel des cultures en agar-glucosé de 48 h. à 37° C.

Avec chacune des solutions, on a effectué trois lavages consécutifs et un quatrième avec de l'eau distillée pour éliminer l'excès d'alcali et obtenir des suspensions homogènes des levures.

1. *La solution à 0,1 p. 100 d'hydrate de sodium* ne dissout pas la capsule ni ne change la morphologie des éléments cellulaires qui restent vivants, puisque les cultures avec le sédiment du dernier lavage sont positives.

2. *Solution à 0,33 p. 100.* — Après lavage avec cette solution, l'immense majorité des cellules apparaissent uniformément teintées, sans granulations métachromatiques à l'intérieur, et avec des restes de capsule en forme d'anneau et quelquefois avec capsule normale.

La substance intercellulaire se colore fortement, spécialement vers les angles dièdres que forment les cellules par pression réciproque. Cet aspect est dû à ce que la substance des capsules ne peut prendre son aspect normal faute d'espace. La coloration uniforme des cellules me fit présumer que celles-ci étaient vivantes, ce qui fut prouvé par les cultures positives obtenues en ensemençant le sédiment à la fin du lavage.

3. *Solution à 0,5 p. 100.* — La grande majorité des cellules se présentent faiblement colorées et avec des granulations métachromatiques à l'intérieur, teintées en rouge-violacé. D'autres cellules sont, comme dans les cas précédents, uniformément teintées, sans granulations métachromatiques et avec des vestiges de capsule en forme d'anneau et de substance intercellulaire. Les cultures après lavage furent positives.

4. *Solution à 1 p. 100 d'hydrate de sodium.* — Après lavage avec cette solution, les cellules se présentent pâles, avec des granulations métachromatiques à l'intérieur, donnant l'impression de cellules mortes. Les cultures faites sont en effet négatives. La capsule n'existe pas et on observe seulement un peu de substance intercellulaire faiblement colorée.

5. *Avec la solution à 2 p. 100;* les résultats sont indentiques au cas précédent.

Action des lavages alcalins. — Les solutions alcalines (borate, bicarbonate et hydrate de sodium) enlèvent plus facilement que l'eau la substance de la capsule, cette dernière se déposant sur les parois du tube qui apparaît comme terni. En faisant des préparations avec du matériel obtenu en promenant l'anse de platine sur la face intérieure de la paroi du tube après centrifugation et en les colorant par la méthode de Hunton, on observe une substance amorphe, teinte en rose et absence d'éléments cellulaires. Dans les lavages à l'eau, faits simultanément, on n'obtient pas ce phénomène.

Dans les cultures lavées avec la solution de borate de soude à 2 p. 100, il se forme aussi une pellicule de 3 à 4 mm. au-dessus du sédiment cellulaire ; en la retirant avec une pipette effilée et la colorant avec la méthode de Hunton, on observe aussi une substance amorphe rose.

Action du formol. — En suspendant du matériel de culture de 15 h., à 37° C., dans une solution de formol (40 p. 100) à 0,5 p. 100 dans de l'eau, en la laissant agir pendant 24 h. et lavant finalement deux fois avec de l'eau distillée, les cellules conservent leurs capsules.

Action de l'alcool-acétate. — En traitant une suspension aqueuse d'une culture de 15 h. par cinq volumes d'alcool-acétate (alcool à 96° avec 13 p. 100 d'acétate de soude), il se forme un précipité ; le jour suivant, on le met en suspension et on le lave une fois avec de l'eau distillée. Dans les préparations faites avec ce matériel, les cellules conservent leurs capsules.

Action de l'ébullition :

1. *Avec de l'eau distillée.* — En faisant bouillir pendant dix minutes une suspension dans l'eau d'une culture de 15 h. de *M. albicans*, les cellules conservent encore des restes de capsule sous la forme d'anneau et de substance intercellulaire.

2. Avec une solution aqueuse à 1 p. 100 d'hydrate de sodium. — Après avoir fait bouillir pendant dix minutes une suspension d'une culture de 15 h. dans cette solution, les cellules ont perdu leurs capsules et on observe uniquement d'étroites bandes de substance intercellulaire faiblement teintée. Avec ce procédé, on extrait donc l'immense majorité de la substance de la capsule.

Action de l'agitation. — En agitant une culture de 15 h. à 37° en bouillon glycosé, dans un flacon avec des perles en verre, avec un agitateur mécanique donnant environ 150 secousses par minute, les cellules présentent après 2 heures des restes de capsule visibles sous la forme d'anneau et de substance intercellulaire. On observe aussi qu'environ 20 p. 100 de ces éléments cellulaires ont éclaté et présentent une petite rupture sous la forme d'un coin à base externe ; elles sont vides et ne se colorent pas par la méthode de Hunton.

Maintenant je suis en train d'étudier une série de problèmes que l'existence de la capsule pose pour ce champignon, guidé par les utiles suggestions du D^r A. Sordelli que je remercie de tout cœur.

RÉSUMÉ

1. On décrit pour la première fois l'existence d'une capsule dans le champignon du muguet ; elle est particulièrement visible dans les cultures jeunes de 15 h. dans des milieux avec les hydrates de carbone suivants : glycose, maltose et lévulose et en employant la méthode de coloration de Hunton.

2. Cette capsule persiste après des lavages répétés dans l'eau, avec des solutions de borate et bicarbonate de soude, ébullition dans de l'eau et deux heures d'agitation avec des perles en verre. Elle résiste également à l'action de l'alcool-acétate et du formol.

3. Les solutions d'hydrate de sodium à 1 et 2 p. 100 enlèvent presque complètement la substance de la capsule, spécialement à chaud.

4. La capsule se forme dans des milieux de culture dont le pH varie de 6,5 à 9.

BIBLIOGRAPHIE

- SUGG (J. Y.) et NEILL (J. M.). — Studies on immunological relationships among the pneumococci. *Jl. of Exp. Med.*, XLIX, 1929, p. 183-193.
- KESTEN (H. D.), COOK (D. H.), MOTT (E.) et JOBLING (J. W.). — Specific polysaccharides from fungi. *Jl. of Exp. Med.*, LII, 1930, p. 813-822.

- TILLET (W.), GOEBEL (W. F.) et AVERY (O. T.). — Chemical and immunological properties of species specific carbohydrate of pneumococci. *Jl. of Exp. Med.*, LII, 1930, p. 895-900.
- TOMCSIK (J.). — Ueber die Rolle des Hefegummi in der serologischen Differenzierung einzelner Hefearten. *Zeitschr. f. Immunitätsforschung, etc.*, LXVI-LXVII, 1930, p. 8-16.
- KESTEN (H. D.) et MOTT (E.). — Soluble specific substances from yeastlike fungi. *Jl. Inf. Dis.*, L, 1932, p. 459-465.
- AVERY (O. T.) et GOEBEL (W. F.). — Chemoimmunological studies on the soluble specific substances of pneumococcus. *Jl. of Exp. Med.*, LVIII, 1933, p. 731-755.
- MILLER (Ph. C.) et BOOR (A. K.). — The carbohydrate of gonococcus and meningococcus. I. The alcohol-precipitable fraction. *Jl. of Exp. Med.*, LIX, 1934, p. 75-82.

Institut bactériologique du Département national d'hygiène, Buenos-Aires
(Directeur : Prof. A. Sordelli).