

Microb.

INSTITUT DE FRANCE

ACADÉMIE DES SCIENCES

(Extrait des *Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences*,
t. 244, p. 1582-1587, séance du 18 mars 1957.)

BACTÉRIOLOGIE. — *Structure des colonies du Nocardia ivorensis.*

Note de MM. **RAOUL COMBES**, **JACQUES KAUFFMANN** et **BERNARD VAZART.**

L'étude des coupes faites dans les colonies du *Nocardia ivorensis* développées sur milieu synthétique gélosé montre que la transformation des filaments mycéliens en éléments coccoïdes s'y effectue dans des îlots répartis suivant des zones de différenciation localisées, déterminant dans les colonies une structure organisée suivant certaines règles.

L'étude de la structure du *Nocardia ivorensis* décrit dans une précédente Note ⁽¹⁾ nous a conduits à constater que l'évolution des filaments mycéliens en éléments coccoïdes ne se produit ni uniformément ni au hasard dans l'ensemble de chaque colonie, au fur et à mesure de sa croissance, mais qu'elle s'effectue dans des îlots mycéliens bien délimités, répartis en zones de différenciation localisées, déterminant dans les colonies une structure organisée suivant certaines règles.

L'examen des très jeunes colonies, par observation directe au microscope, puis celui de coupes faites dans des colonies plus âgées, à divers stades du développement, ont donné lieu aux constatations suivantes :

Une colonie de 2 jours, développée sur milieu synthétique gélosé, où l'aliment carboné est représenté par du glucose ⁽¹⁾, colorée par la fuchsine ou le bleu de méthylène, se montre formée d'un buisson de structure homogène constitué de très minces filaments ramifiés. Ces filaments sont Gram-positifs.

Une coupe faite perpendiculairement à la face supérieure dans la région

O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

n° 11897

16 MAR 1957

médiane d'une colonie de 5 jours, encore incolore, fixée par le liquide de Carnoy, présente également une structure homogène (*fig. 1*); les filaments ramifiés qui la constituent forment un mycélium dense Gram-positif.

L'examen de coupes pratiquées dans une colonie de 6 jours, à la surface de laquelle est apparue une tache brun clair (¹), montre que cette tache correspond à un renflement de la face supérieure et à une transformation des filaments mycéliens constituant cette région en éléments coccoïdes. A ce stade la structure de la colonie a donc cessé d'être homogène; dans les préparations traitées par la méthode de Gram, la partie correspondant à la tache brune superficielle (en noir sur la figure) apparaît constituée de formes cocci Gram-positives se détachant sur un réseau mycélien Gram-négatif; le reste de la colonie est formé d'un mycélium qui, lui aussi, est Gram-négatif.

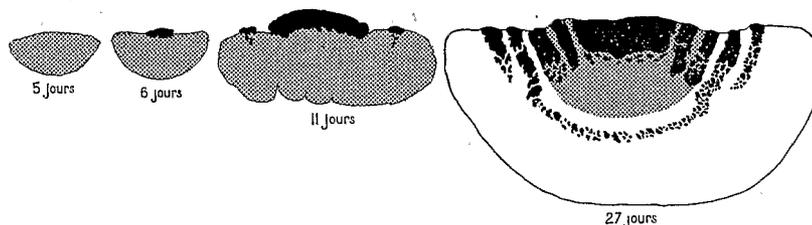


Fig. 1. — Schémas de coupes médianes, perpendiculaires à la face supérieure, dans des colonies de 5, 6, 11 et 27 jours. En noir, régions à éléments coccoïdes. En grisé, mycélium dépourvu de ces éléments et prenant bien les colorants. En blanc, mycélium sans formes cocci et ne retenant que faiblement les colorants. ($G \times 20$).

La formation d'éléments coccoïdes dans les filaments mycéliens ne commence pas en même temps dans l'ensemble de la tache brune superficielle, ni au hasard; elle débute dans des flots de mycélium nettement délimités, qui deviennent progressivement de plus en plus nombreux, s'accroissent, puis finissent par confluer.

L'examen de coupes non colorées permet de constater que, dans chacun de ces flots, les filaments mycéliens et les éléments coccoïdes qu'ils produisent se sont teintés par l'apparition d'un pigment noir. Ces flots de mycélium offrent l'aspect de pelotons, le plus souvent de forme sphérique, se distinguant par leur coloration du reste du mycélium demeuré incolore. Le diamètre des éléments coccoïdes a été déterminé par M. Giuntini, de l'Institut Pasteur, sur des photographies prises par lui au microscope électronique; il s'agit de particules sphériques (*fig. 2*) dont le diamètre est compris entre 0,8 et 0,9 μ .

Dans les colonies un peu plus âgées (11 jours), une coupe médiane perpendiculaire à la face supérieure montre de part et d'autre de la tache centrale, riche en formes cocci, deux petits renflements présentant les mêmes caractéristiques.

tères que cette dernière. Ils correspondent au premier cercle noir apparu à ce stade (4) à la surface des colonies; ces renflements sont eux aussi constitués d'un mycélium producteur d'éléments coccoïdes.

Dans les coupes faites parallèlement à la face supérieure, les plus superficielles présentent une plage circulaire centrale, formée d'un mycélium presque totalement transformé en éléments coccoïdes, entourée d'un anneau de même nature. Les coupes pratiquées au niveau de régions plus profondes se distinguent par une plage circulaire centrale et un anneau périphérique à un stade de transformation moins avancé; l'évolution des filaments mycéliens en éléments coccoïdes y est encore localisée en îlots distincts, séparés les uns des autres par du mycélium dépourvu de ces éléments (fig. 3 et 4).

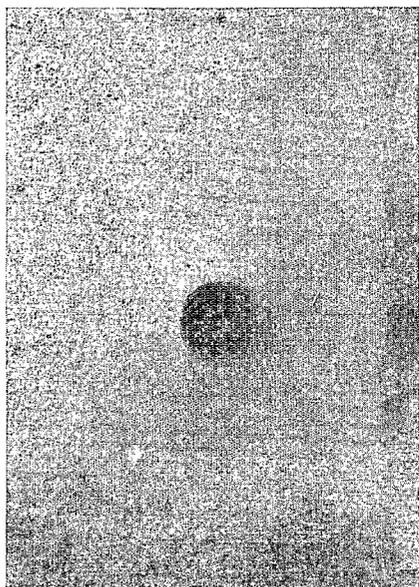


Fig. 2. — Photographie d'un élément coccoïde au microscope électronique. (G × 12 000).

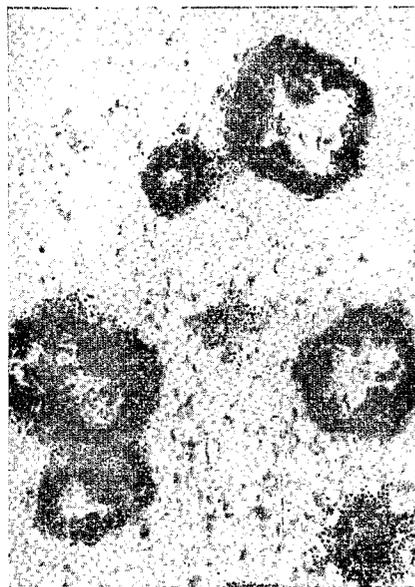


Fig. 3. — Groupe d'îlots à éléments coccoïdes. (G × 500).

Dans les coupes médianes faites perpendiculairement à la face supérieure d'une colonie de 27 jours, le nombre des renflements superficiels correspondant à des cercles de mycélium se transformant en éléments coccoïdes s'est accru autour de la masse centrale, et chacun d'eux s'enfonce à l'intérieur de la colonie plus avant qu'au stade précédent. A l'extrémité inférieure de ces régions on retrouve les groupes d'îlots isolés observés dans les colonies plus jeunes. On constate en outre qu'au-dessous de l'un de ces cercles superficiels la transformation d'îlots du mycélium en éléments coccoïdes s'est étendue vers les parties profondes de la colonie, puis a gagné

le centre de cette dernière, constituant une assise continue en forme de coupe, qui traverse toute la colonie dans sa région médiane. L'existence de cette assise est très constante; elle a été retrouvée dans toutes les colonies examinées après un développement d'une durée supérieure à trois semaines. A ce stade les formes cocci sont Gram-positives et les filaments mycéliens Gram-négatifs; le mycélium qui constitue la région centrale supérieure (en grisé sur la figure 1) fixe bien les colorants, tandis que le reste du mycélium (en blanc sur la figure) ne les fixe que très faiblement.

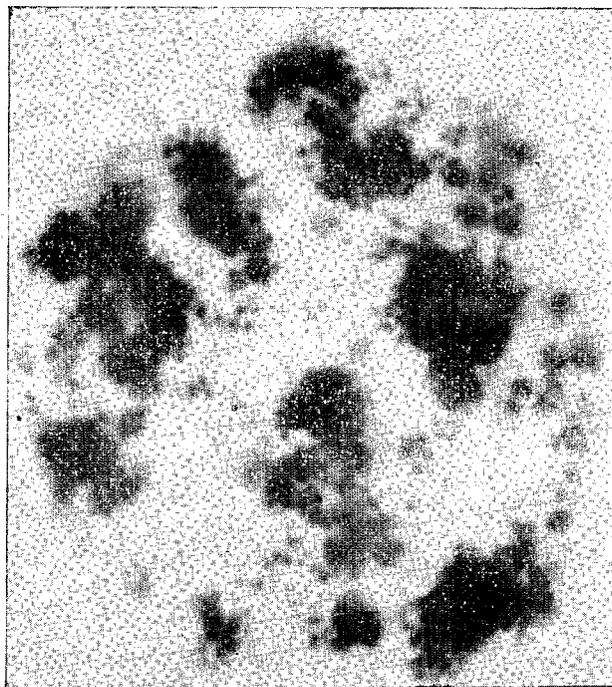


Fig. 4. — Photographie d'un îlot. (G \times 2 500).

Nous avons indiqué, en décrivant le *Nocardia ivorensis* ⁽¹⁾, que chez les colonies âgées de plusieurs semaines, croissant sur milieu synthétique glucosé et gélosé, il se développe autour de la partie principale noire de chaque colonie des ramifications rayonnantes grisâtres, formant à cette dernière une couronne plus ou moins régulière, à la surface de laquelle apparaissent des zones concentriques brunes noircissant rapidement. Ces dernières naissent sous forme de nombreux granules superficiels bruns, qui s'accroissent puis tendent à confluer en rubans circulaires continus. Les coupes faites dans cette couronne montrent qu'il s'agit encore là d'îlots mycéliens pourvus de pigment noir subissant la transformation en éléments coccoïdes.

Il a été également mentionné que ces ramifications rayonnantes peuvent se prolonger dans le milieu gélosé au-delà de la couronne visible, par un mycélium d'une extrême ténuité, non visible au sein de la gélose, mais qui manifeste sa présence en produisant à sa surface une multitude de granules noirs de taille variable. La photographie de la figure 5 représente une partie de deux colonies confluentes âgées de 3 mois; on y distingue les trois régions précédemment décrites : à gauche, la région centrale noire, puis la couronne plus claire qui prolonge cette dernière, avec ses îlots à éléments coccoïdes noirs superficiels, les uns isolés, les autres confluant en un ruban circulaire continu; enfin, au-delà de la couronne visible, un semis de grains noirs isolés les uns des autres, de tailles diverses; ces grains paraissent émerger à la surface du milieu gélosé sans avoir de rapports entre eux; ils sont en réalité produits par un mycélium commun, prolongeant celui qui constitue la couronne, mais devenu dans cette région

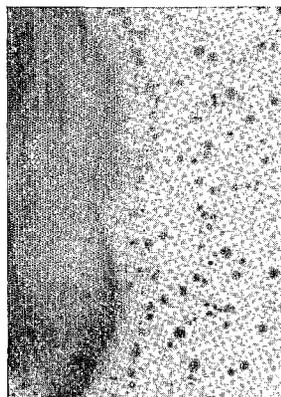


Fig. 5. — Photographie de deux colonies confluentes âgées de trois mois. ($G \times 20$).

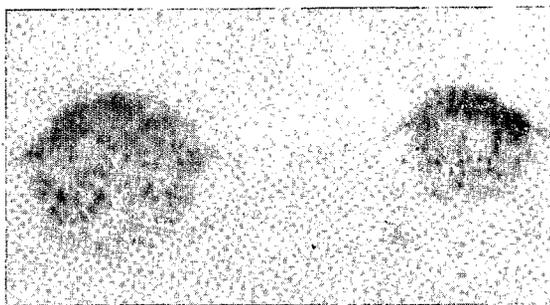


Fig. 6. — Photographie d'une coupe perpendiculaire à la surface de la gélose dans la région périphérique d'une colonie de trois mois. ($G \times 1000$).

d'une telle ténuité qu'il n'est pas visible directement; l'introduction dans le milieu gélosé d'un colorant, la fuchsine par exemple, suivie d'un long lavage dans l'eau courante, permet de le mettre en évidence.

Les coupes pratiquées dans cette partie périphérique des colonies, perpendiculairement à la surface du milieu gélosé, montrent que chacun des granules noirs superficiels est un îlot mycélien rempli d'éléments coccoïdes, sorte de poche incluse dans un mycélium ne fixant que faiblement les colorants. Ces poches sont surtout localisées à la surface du mycélium; très rares sont celles qui se différencient au-dessous de cette surface. La figure 6 montre une photographie de l'une de ces coupes, colorée par la fuchsine; deux poches à éléments coccoïdes y sont visibles,

ayant fixé normalement le colorant, portées à la surface du milieu gélosé par un mycélium qui, lui, ne s'est que très faiblement coloré.

En conclusion, les colonies du *Nocardia ivorensis* cultivé sur milieu synthétique glucosé et gélosé, qui sont en réalité des individus, sont caractérisées par une localisation de la production des éléments coccoïdes dans des flots du mycélium, aboutissant à la différenciation de sortes de poches remplies de ces éléments, ainsi que par la coloration noire de ces formations. Le lieu de plus grande précocité de la différenciation, et de plus grande rapidité d'évolution de ces flots, est la région centrale de la partie supérieure des colonies. En surface, à partir de cette région, la différenciation des flots se fait suivant des zones alternantes les unes précoces et à évolution rapide, les autres plus tardives et à évolution lente. Il en résulte l'apparition à la surface des colonies, de zones circulaires de plus grande différenciation, colorées en noir par le mycélium et les éléments coccoïdes qui les constituent, alternant avec des zones de différenciation plus lente ou plus incomplètes, de couleur claire, dont la plus externe présente une formation d'éléments coccoïdes noirs limitée à des poches dispersées à la surface du mycélium. En profondeur, la différenciation s'arrête rapidement, sauf au niveau de l'une des zones circulaires actives, dont le fonctionnement se poursuit jusqu'à produire une assise en forme de coupe, qui s'étend de façon continue à travers toute la colonie.

(¹) *Comptes rendus*, 244, 1957, p. 821.

