Zeitschrift: Archives des sciences [1948-1980]

Herausgeber: Société de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève

Band: 4 (1951)

Heft: 3

Artikel: Procédé chromatographique rapide pour l'analyse des pigments de Pseudomonas fluorescens Flugger-Migula

Autor: Chodat, Fernand

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-739951

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 13.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

La lecture de ce tableau nous montre que ce sont les effets anticholinergiques qui prédominent d'une part et que l'action antihistaminique ne se montre guère que pour les organes détachés à part l'atébrine qui est active sur la pression. Les vertus antiadrénaliniques sont modestes et disséminées [1 à 3.]

1. Beck, I. T., Thèse de la Faculté de médecine de Genève nº 1944, 1949.
2. Seniow, St., Thèse de la Faculté de médecine de Genève, nº 1964, 1950.
3. Sokolow, J., Thèse de la Faculté de médecine de Genève, nº 2014, 1951.

Université de Genève.
Institut de Thérapeutique.

Fernand Chodat. — *Procédé chromatographique rapide pour l'analyse des pigments de* Pseudomonas fluorescens Flugge-Migula.

Les variations de la pigmentation de *Pseudomonas fluorescens* Flugge-Migula, dues à des causes cycliques et génétiques, ont fait l'objet de diverses publications dans notre laboratoire [1-4]. Nous avons développé à cette occasion une technique fort simple d'analyse chromatographique dont voici l'essentiel:

Données classiques.

Ce microbe sécrète dans divers milieux de culture un mélange de pigments, remarquable par sa fluorescence verte. La complexité de ce mélange et les efforts faits pour en séparer et identifier les composantes ont été relatés récemment dans l'étude de notre collaborateur P. Wolf [4]. Par fractionnement sur colonne d'adsorption, Giral [5] a séparé deux constituants: une substance I retenue sous forme d'un anneau rouge situé à la partie supérieure de la colonne de franconite et sable fin. Repris par l'eau, ce pigment accuse une couleur jaune et une fluorescence bleue. Sa nature chimique n'a pas, jusqu'à présent, été élucidée. L'élution par de la pyridine à 80% de la portion inférieure à l'anneau rouge, fournit une substance II, également hydrosoluble, de couleur jaune vert et de fluorescence vert bleu. Cette composante II ressemble par ses propriétés physiques et

chimiques aux flavines d'une part et aux ptérines de l'autre. Le spectre d'absorption du pigment bactérien a permis encore de le rapprocher de certaines molécules rencontrées dans les ailes de Papillons (leucoptérine), les écailles de Poissons (ichtyoptérines) et d'un pigment isolé par Gourewitch [6] des yeux de la Carpe. La connaissance chimique de cette composante II est encore imparfaite: des analyses précises ont été faites sur un mélange ! Les séparations proposées par Giral, puis plus tard par Turfitt [7] adsorption, élution, électrodialyse, ne se prêtent pas aux besoins du microbiologiste désireux de connaître, pour commencer, l'histoire naturelle de ces deux substances.

Procédé chromatographique.

Une goutte du liquide de culture, déposée au moyen d'une pipette au centre d'un disque de papier à filtrer sec, diffuse instantanément. Cette tache est, en règle générale, incolore à la lumière du jour en raison de la faible quantité de pigments apportée, surtout quand elle a été faite avec le liquide d'une culture jeune ou celui d'un milieu peu propice à la chromogenèse.

Examiné en lumière ultra-violette, le papier révèle alors un disque fluorescent homogène ou hétérogène. Des divers papiers essayés, nous avons retenu celui qui présentait une texture serrée: marque ruban bleu n° 589, diamètre 5,5 cm, Louis Schleiffer, Feldmeilen, Zurich.

Un liquide de culture de teinte vert jaune à la lumière du jour, fournit un disque central de fluorescence bleu-verdâtre bordé d'un anneau à double contour bien défini de fluorescence variant, selon la goutte, du jaune brique au rouge orangé. Le diamètre de la tache dépend du volume de la goutte; la largeur de la couronne marginale, ainsi que les teintes révélées, sont liées à la qualité du mélange de pigments. Les figures fournies par les milieux de culture synthétiques sont nettes mais de teintes discrètes; celles données par le bouillon de viande, sont fulgurantes et auréolées de jaune vif. Des épreuves témoins assurent que les milieux stériles ne sont pour rien dans ces fluorescences.

Les taches peuvent être observées à l'état frais, c'est-à-dire encore humides, ou à l'état sec. Dans ce dernier cas, on procède à l'*épreuve du mouillage* latéral. Elle consiste à déposer une goutte d'eau distillée sur le papier séché à une petite distance, à l'extérieur de la couronne. Diffusant dans le papier, l'eau atteint l'anneau marginal sec et provoque à son arrivée la redissolution du pigment adsorbé; ce dernier diffuse à nouveau et forme une tache secondaire, irrégulière et située à cheval sur la périphérie du disque initial. L'anneau, de fluorescence rouge orangé à l'état sec, accuse aussitôt dans sa zone mouillée et dans la tache secondaire, une fluorescence qui varie, selon la goutte, du jaune pâle au jaune vif. Pendant ce temps, l'eau franchit la couronne, rencontre le disque central sec et y détermine des effets analogues à ceux décrits pour l'anneau marginal. Bientôt les teintes du centre et du bord se confondent et l'observation utile prend fin. Elle est donc destinée à enregistrer, à l'état humide, la teinte fluorescente du pigment localisé dans la couronne.

L'*épreuve du découpage* complète celle du mouillage: on découpe à la lumière ultra-violette la couronne d'un papier séché, en prenant soin de négliger la portion contiguë au disque central. Un morceau de ce dernier est isolé avec les mêmes précautions. Chacun des fragments est alors posé au centre d'un papier à filtrer vierge. Le mouillage latéral d'un fragment de couronne donne lieu à la diffusion d'un pigment unique de fluorescence jaune. Le mouillage latéral d'un fragment du disque central, de fluorescence vert bleu à l'état sec, donne naissance à une tache secondaire de fluorescence bleue qui s'achève par l'apparition d'une marge de fluorescence jaune à jaune orangé. Tout se passe donc comme si la fluorescence verte du disque central était due à la superposition d'un pigment prédominant bleu et d'un pigment adjoint jaune. La diffusibilité dans le papier humide du pigment jaune étant plus grande que celle du pigment bleu, le jaune peut s'isoler à l'état pur dans la couronne, alors que le disque central demeure, dans la plupart des cas, mixte au point de vue pigmentaire.

L'existence et la séparation de deux pigments, l'un à fluorescence bleue, l'autre à fluorescence jaune, sont donc établies

avec simplicité par notre procédé chromatographique. L'inexistence d'une substance à fluorescence verte en découle.

Assimilant ensuite, pour des raisons qui seront énumérées plus loin, le pigment marginal de fluorescence jaune à la composante II de Giral, nous avons alors institué l'*épreuve de freinage*: un papier est imprégné au préalable par de la pyridine, puis séché. La tache fournie par une goutte de culture de couleur vert jaune, donne un disque sans couronne ou avec une couronne à peine perceptible. La pyridine, qui est l'éluant de choix de la composante II de Giral, retient le pigment jaune, c'est-à-dire ne lui permet pas de diffuser à la vitesse qu'il a normalement sur le papier non pyridiné. La tache, en présence de pyridine, fournit un disque homogène de fluorescence vert bleu, tandis que le témoin dessine au bout de quelques secondes sur le papier non pyridiné un anneau marginal jaune net.

En milieu acide (HCl), le pigment central de fluorescence bleue vire et prend une fluorescence qui va du jaune vif à l'or selon la concentration du pigment. Un papier primitivement dichrome en milieu neutre, devient homochrome après acidification. Le jaune d'or du disque central se confond avec la teinte marginale jaune à jaune orangé. Le pigment marginal ne modifie pas sa fluorescence sous l'effet de l'acide.

L'hydrosulfite réduit par contre le pigment jaune mais épargne le pigment bleu.

Il faut encore signaler la photolabilité de la substance fluorescente jaune: en quinze minutes elle se dégrade sous l'influence des rayons U-V. Cette décoloration par les rayons se retrouve d'ailleurs dans les cultures à virescence passagère et explique les recommandations empiriques de la bactériologie: pour avoir une culture de *Pseudomonas fluorescens* Flugge-Migula plus verte, la cultiver à l'abri de la lumière.

Nos résultats concordent dans une large mesure avec les données classiques: le pigment bleu est la composante I de Giral et le pigment jaune sa composante II. Par contre, Giral parle encore d'une fluorescence verte pour sa composante II. Cette teinte est pour nous le résultat d'une séparation insuffisante des deux principes bleu et jaune. Les techniques utilisées

par Giral ne lui ont sans doute pas permis de purifier complètement la composante I.

Ajoutons enfin, que des expériences qui seront relatées ailleurs, nous autorisent à dire que le pigment bleu est le premier formé et que la virescence résulte de l'apparition progressive et plus tardive du pigment jaune. Par les propriétés suivantes: adsorption en milieu acide sur la franconite, élution par la pyridine, fluorescence, réductibilité par l'hydrosulfite, photolabilité, spectre d'absorption, le pigment jaune s'apparente aux molécules à noyau iso-alloxasique (flavines) d'une part, et de l'autre aux molécules à noyau semi-alloxasique (ptérines).

La virescence, propriété génétique très labile dans l'espèce linnéenne *Pseudomonas fluorescens* Flugge-Migula, dépend donc essentiellement de la présence et du fonctionnement des enzymes de synthèse du pigment jaune d'affinité flavino-ptérinique.

Je remercie le Dr N. Wassilieff pour l'assistance qu'elle m'a accordée au cours de cette recherche.

BIBLIOGRAPHIE

1. Chodat, F., P. Wolf et N. Wassilieff, « Mutation vicariante et chromogenèse du *Pseudomonas fluorescens* ». *Rev. suisse de Pathol. et de Bact.*, *12*, 627, 1949.
2. Chodat, F. et P. L. Wolf, « L'asphyxie cyanhydrique chez *Pseudomonas fluorescens* », *Actes Soc. helv. Sc. nat.*, 153, 1949.
3. Chodat, F. et N. Wassilieff, « Sur la dissociation de *Pseudomonas fluorescens* », *Rev. suisse de Pathol. et de Bact.*, *13*, 541, 1950.
4. P. L. Wolf, *Répercussions de l'asphyxie cyanhydrique sur la pigmentation de* Pseudomonas fluorescens, thèse nº 1157, Genève, 1950.
5. Giral, F., *Anales Soc. espan. fisica y quim.*, *34*, 667, 1936.
6. Gourevitch, A., *C. R. Soc. biol.*, *15*, 130, 1939.
7. Turfitt, G. E., *Biochem. J.*, *30*, 1323, 1936 et *31*, 212, 1937.

Université de Genève.
Laboratoire de Microbiologie et Fermentations
de l'Institut de Botanique générale.