**LE *CRYPTOCOCCUS FARCINIMOSUS* RIVOLTA
DOIT PRENDRE PLACE PARMI LES DERMATOPHYTES
DU GENRE *GRUBYELLA***

Par Masao OTA

Depuis les travaux de Tixier et Delamotte (1878), on a publié un certain nombre d'études relatives à l'agent de la lymphangite épizootique. Il n'y a plus aucun doute actuellement sur la nature mycosique de cette affection. Tout dernièrement Boquet et Nègre ont écrit une excellente monographie sur ce sujet. Je voudrais, au cours de cet article, simplement discuter de la place qu'il convient de donner en systématique à l'agent de cette affection, agent que l'on connaît sous le nom de *Cryptococcus farcinimosus* Rivolta [= *Saccharomyces farcinimosus* (Rivolta), Tokishige ; *Parendomyces farcinimosus* (Rivolta), de Beurmann et Gougerot].

Ce champignon a été cultivé par Marcone (1895), Tokishige (1896), Baruchello (1898) et San Felice (1906). Dernièrement, Boquet et Nègre ont obtenu, en partant de chevaux atteints de lymphangite épizootique, des cultures qui, d'après eux, sont identiques à celles qui ont été étudiées par les auteurs précédents.

A côté de ce microorganisme, d'autres auteurs ont isolé différentes espèces parmi lesquelles nous mentionnerons un blastomycète (Ferini et Aruch, 1895) qui ne donne pas de filaments et paraît être une levure ; Mori semble, d'après sa description et ses figures, avoir isolé une espèce de *Monilia* (1914), enfin *Monilia capsulata* a été décrite par Lindner et Knuth, 1915.

Aperçu historique. — Les premiers, Rivolta et Micellone ont observé dans les lésions dues à cette maladie, un champignon qu'ils ne purent cultiver ; d'après son aspect morphologique, ils le classèrent parmi les levures et lui donnèrent le nom de *Cryptococcus farcinimosus*.

En 1895, Marcone réussit la première culture ; mais, rencontrant dans les cellules des corpuscules réfringents, il les assimila à des spores et donna au *Cryptococcus* de Rivolta le nom de *Saccharomyces equi*.

Tokishige, en 1896, assimile également ces corpuscules à des spores et décrit le *Cryptococcus* de Rivolta, sous le nom de *Saccharomyces farcinimosus*.

Par ailleurs, Boquet et Nègre ne pensent pas qu'il puisse s'agir d'un *Saccharomyces*, non plus que d'un *Endomyces*. Cependant, ces auteurs auraient observé des asques dans une de leurs cultures. Je pense que ce fait est douteux, car, d'une part, les auteurs eux-mêmes ne maintiennent pas d'une façon formelle cette observation, et d'autre part, si loin que j'aie poussé moi-même les examens, il ne m'est jamais arrivé de constater des asques. Enfin les éléments que Marcone et Tokishige ont décrits comme des spores, ne sont vraisemblablement que des granulations graisseuses, qui, au Soudan III, prennent une teinte d'un beau rouge.

Nous sommes d'accord avec Boquet et Nègre, pour laisser de côté le genre *Parendomyces* de Beurmann et Gougerot, car il ne nous paraît pas suffisamment établi. De plus, de Beurmann et Gougerot classent dans ce genre le *Parendomyces balzeri*, qui est très éloigné du *Cryptococcus* de Rivolta, et me paraît être plutôt un *Trichosporum*.

Depuis le travail de Boquet et Nègre, les auteurs s'accordent à considérer l'agent de la lymphangite épizootique, comme un *Cryptococcus*. Tel n'est pas notre avis. En premier lieu, ce champignon ne fait pas fermenter le glycose, le maltose, le levulose, ni le saccharose. De plus, sa morphologie microscopique est très éloignée de celle des levures. Enfin, en dehors des levures, il existe des champignons parasites fort bien connus, dont l'aspect microscopique et les cultures semblent voisins de ceux de notre champignon.

Matériaux étudiés. — La première souche provient de l'Institut Pasteur de Paris ; je la dois à l'obligeance de M. le Dr Magrou (1), je pense qu'il s'agit de l'espèce de Boquet et Nègre, étant donnée la similitude de l'aspect microscopique et macroscopique de la culture.

J'ai recueilli la deuxième souche à Berlin, au laboratoire du Prof. Buschke, où elle était conservée, après que le Prof. Bierbaum l'eût isolée d'une maladie du cheval. Cette souche présente microscopiquement le même aspect morphologique que la première, d'où l'on peut conclure à leur identité.

Enfin, j'ai pu obtenir de l'Institut Pasteur de Strasbourg deux cultures étiquetées : *Cryptococcus* de Rivolta I et II, dont j'ignore la provenance ; ces cultures étaient mortes, et je n'ai guère pu obtenir que des renseignements succincts sur leurs caractères. Cependant il m'a semblé qu'elles étaient voisines des deux premières.

(1) Je tiens à remercier M. le Dr Magrou et le Prof. Buschke de l'obligeance, avec laquelle ils ont bien voulu mettre à ma disposition les matériaux de cette étude.

Forme des cultures. — La première souche, ensemencée sur gélose glycosée et sur pomme de terre, à 25°, a donné une culture qui répond exactement à la description de Boquet et Nègre. Le développement est très lent, et ne débute qu'environ dix jours après l'ensemencement. Après deux mois, la culture se présente sous la forme d'une calotte très irrégulière à centre acuminé, d'aspect cireux et de consistance solide. Le centre est gris brunâtre tandis que la périphérie forme une zone blanchâtre très distincte et de limites assez nettes.

Sur gélose, dans les mêmes conditions de température, la seconde souche présente quelques différences avec la première. Le développement est plus rapide : après un mois, la base de la calotte mesure 1 cm. 5 de diamètre. Elle est irrégulière, fendillée. Le centre est moins acuminé. La coloration se fonce au centre, devient ocre, mais reste blanche à la périphérie. Ensemencée sur gélose humide, cette seconde souche donne, après quelques mois, une culture plus étalée, mais aussi irrégulière et fendillée et de coloration jaune sale. Sur pomme de terre, il se forme une culture qui débute par de petits points blancs, s'accroissant lentement. Le centre devient gris tandis que la périphérie reste blanche. Après quelques mois de développement, la colonie forme une petite masse dont le centre est très acuminé, découpé, gris, et dont la périphérie, assez régulière, reste claire.

Il est à noter que certains champignons (*Grubyella alba*, *G. ochracea*, *G. discoïdes*, *Trichophyton* faviformes de Sabouraud), présentent déjà les mêmes caractères cultureux.

Morphologie microscopique. — Boquet et Nègre ont décrit, comme particuliers à cette espèce, les caractères microscopiques suivants :

- a) une forme levure ronde ou ovale ;
- b) des filaments mycéliens à double contour (caractères déjà décrits par les anciens auteurs) ;
- c) des filaments mycéliens à parois minces ;
- d) une forme de résistance : cellules tenant en suspension des gouttelettes huileuses et doublées d'une membrane épaisse ;
- e) des chlamydo-spores.

J'ai retrouvé tous ces caractères sur la souche que j'ai obtenue de l'Institut Pasteur de Paris (fig. A a). Comme Pinoy, je n'y ai observé aucun asque.

Quant à la seconde souche, dont la forme culturale se rapproche de la précédente, il m'a paru que le développement du mycélium et l'abondance des chlamydo-spores en constituait le caractère principal.

1° *Mycélium*. — Lorsqu'on laisse le développement se poursuivre sur milieux solides, pendant quelques mois, on recueille à la périphérie un mycélium à parois minces, cloisonné à de longs intervalles (fig. B a). Le protoplasma y est homogène, non granuleux.

FIG. — *Grubyella farcinimosa* (Rivolta) Ota emend. — A, souche de l'Institut Pasteur de Paris; B, souche Bierbaum de Berlin; Aa, filaments mycéliens à parois minces; Ab, filaments mycéliens à double contour; Ac, forme de résistance; Ad, forme levure ronde ou ovale; Ba, filaments mycéliens à parois minces; Bb, filaments mycéliens à double contour; Bc, bourgeons latéraux; Bd, spores intercalaires; Be, forme levure en chaînette; Bf, chlamydospores intercalaires; Bg, chlamydospores pédiculées; Bh, forme levure (chlamydospores isolées); Bi, spores bourgeonnant (mode de bourgeonnement tout à fait différent de celui des levures).

Le diamètre de ces filaments est de 1-2 μ . On peut recueillir également soit au centre, soit à la périphérie, des formes mycéliennes à parois épaisses, quelquefois à double contour, cloisonnées à des intervalles plus rapprochés et renfermant un protoplasme granuleux; leur diamètre est de 3 μ 5 à 4 μ 5 (fig. B b). Cette forme conduira plus tard à la forme de résistance.

2° *Chlamydospores pédiculées*. — Le filament mycélien se ramifie souvent, puis se renfle soit à l'extrémité des ramifications, soit à l'extrémité de la branche principale, en une petite masse où émigre une grande partie des granulations protoplasmiques (fig. Bg). Cette masse renflée est le plus souvent isolée de la cellule par une cloison : c'est la chlamydospore pédiculée de Sabouraud, qui, en tombant, formera la chlamydospore libre.

3° *Chlamydospores intercalaires*. — On peut trouver parfois sur un filament mycélien, des formations plus remarquables, dont le diamètre dépasse celui du mycélium de soutien. Leur membrane est épaissie ; elles renferment un protoplasme bourré de granulations huileuses. On doit les considérer, ainsi que Sabouraud le fait à propos de certains *Trichophyton*, comme des chlamydospores intercalaires (fig. Bf).

4° *Forme levure*. — C'est au centre des vieilles cultures qu'on rencontre une forme dont l'interprétation a été donnée dans le sens de *Cryptococcus*. Il s'agit d'éléments groupés ou isolés. Isolés, ils sont de forme arrondie ou ellipsoïde, à membrane très épaisse, circonscrivant un protoplasme chargé de granules très réfringents, qui se colorent par le Soudan III. Ces cellules mesurent $5 \times 6 \mu$, $6 \times 9 \mu$, $7 \times 11 \mu$, $8 \times 11 \mu$, etc. (fig. Bh). Groupés, ces éléments prennent le plus souvent l'aspect moniliforme, c'est-à-dire qu'ils sont formés d'un petit nombre de cellules courtes, ellipsoïdes, donnant à l'ensemble l'aspect d'un chapelet (fig. B e).

Le mode de liaison de ces cellules est variable. Tantôt il se fait à la façon des vraies blastospores, tantôt à la façon des arthrospores (*Mycoderma lactis*). Cependant nous avons observé plusieurs fois des cas où la cellule-mère est séparée de la cellule-fille par une surface d'articulation trop grande pour qu'on puisse considérer qu'il s'agit de vraies blastospores.

Si l'on observe maintenant le mode de germination d'une de ces chlamydospores, on voit le bourgeon se cloisonner bientôt. C'est là un caractère qu'on ne rencontre jamais chez les levures. Mais, si le bourgeon ne doit pas donner de formes mycéliennes, il reste court et se convertit lui-même peu à peu en forme de résistance : il s'entoure d'une membrane épaisse, le protoplasme devient moins homogène et se bourre de granules de graisse (fig. Bi). Aussi, nous sommes pleinement d'accord avec Boquet et Nègre et nous ne ferons même que de reprendre leur conclusion : « La forme levure du *Cryptococcus farcinimosus* n'est donc en définitive qu'un article mycélien de dimensions réduites. »

A côté de la forme ci-dessus décrite, on rencontre, peu fréquem-

ment il est vrai, d'autres formes que la présence de certains caractères rend un peu particulières. On peut trouver notamment :

1° *des bourgeons latéraux* qui, par leur disposition, en imposent pour de véritables conidies. De la partie latérale du mycélium part un prolongement qui peu à peu prend un aspect arrondi ou légèrement ovoïde ; tantôt une cloison le sépare du filament originaire, tantôt on ne voit aucune ligne de séparation entre les deux éléments. Ce prolongement ovoïde peut être unique. D'autres fois il est composé de deux ou trois cellules, jamais plus, réunies tangentiellement. L'ensemble de ces formations se présente alors sous l'aspect de conidies latérales (fig. B c).

On remarquera que cette disposition n'est pas rare chez d'autres dermatophytes (*Bodinia*, *Endodermophyton*, *Grubyella*, etc.). Ces cellules subiront plus tard, une transformation qui les amènera à l'état de chlamydospores.

2° *des spores intercalaires* : en un point quelconque d'un filament mycélien le protoplasma se condense et se charge de granules de graisse ; deux cloisons épaisses séparent cette nouvelle formation de la masse protoplasmique résiduelle. En deçà et au delà, le protoplasme se dessèche, se vacuolise, et fait contraste par son aspect avec cette spore intercalaire. Ces éléments se rencontrent souvent également chez certains dermatophytes.

3° *des formes mycéliennes de résistance*, surtout à la partie centrale, cireuse des cultures vieilles. Là on ne rencontre plus guère, en effet, de mycélium à membrane mince et à cloisons espacées, mais beaucoup plus souvent la forme levure qu'avec Boquet et Nègre nous avons assimilée à un article mycélien de dimensions réduites et cette forme particulière de mycélium, que nous nommons d'après eux « forme de résistance ».

Ici les cellules sont irrégulières, boursoflées ; la membrane est très épaisse ; elle renferme un protoplasme où les granules sont rares ou absents. Ces cellules se groupent encore sans ordre, forment un chapelet grossier qui donne parfois naissance à un chapelet de deuxième ordre, aussi irrégulier que le premier.

Il ne s'agit pas là de vraies chlamydospores, cependant on peut les considérer comme telles, puisqu'elles présentent une capacité de germination certaine.

Position systématique. — Nous avons vu, au début de cette étude, les différentes positions que les auteurs ont assigné au *Cryptococcus farcinimosus*. Nous avons critiqué en passant quelques opinions ; nous n'y reviendrons pas, abordant maintenant l'étude systématique.

A vrai dire, ce champignon ne présente pas d'organes qui, par

leurs caractères précis, puissent nous permettre de le ranger presque infailliblement dans telle ou telle classe. Aussi le travail de classification s'en trouve-t-il plus difficile.

Tout d'abord, nous ne pouvons nous ranger à l'assertion de Marcone et Tokishige. Les corps réfringents que ces auteurs avaient pris pour des spores ne sont, avons nous dit, que des inclusions graisseuses. Sans doute Boquet et Nègre, quoiqu'avec des réserves, ont décrit des asques. Si le fait était exact, il serait important : ce champignon pourrait alors être le type d'une classe où rentreraient un bon nombre d'espèces de situation indécise et qui morphologiquement sont assez voisines de la nôtre. Mais nous avons donné précédemment les raisons qui nous font douter de l'existence des asques entrevus par Boquet et Nègre.

En réalité, notre champignon doit prendre place parmi les *Fungi imperfecti* et parmi ceux-ci dans la classe des Hyphomycètes.

Un nombre assez grand d'auteurs ont voulu en faire, comme nous l'avons montré au début de notre étude, un Blastosporé. Nous ne croyons pas pouvoir adopter leur avis. Sans doute ce so-disant *Cryptococcus* se développe parfois par bourgeonnement vrai. Mais c'est là une modalité si fréquente parmi les Hyphomycètes qu'on ne pourrait vraiment songer, sauf dans les cas typiques, à l'établir comme un critère de classification. Surtout l'aspect microscopique, la forme culturale des vrais Blastosporés (*Cryptococcus*, *Myceloblastanion*, *Monilia*), sont si différents de ce que notre *pseudo-Cryptococcus* nous a montré, qu'il nous est impossible de le rapprocher de ces espèces bien que le développement par bourgeonnement vrai, seul, ait pu nous y inviter.

Par contre, nous avons indiqué plus haut, à plusieurs reprises, que certains dermatophytes (*Grubyella alba*, *G. discoïdes*, *G. ochracea*, *Trichophyton* faviformes de Sabouraud), se rapprochaient assez bien de notre espèce par des caractères précis. On trouve chez les unes et les autres la même lenteur de développement, les mêmes caractères culturels, un aspect microscopique d'une similitude frappante. Il n'est pas jusqu'à leur action pathogène, caractérisée par la production des lésions sous-dermiques profondes où l'on trouve d'abondants parasites, qui ne justifie le rapprochement que nous tentons entre ces espèces.

Nous voudrions rappeler brièvement, pour finir, la situation du genre *Grubyella* Ota et Langeron, 1923, en systématique. Ce genre nouveau renferme des champignons dermatophytes pourvus d'une organisation simple. Il n'existe pas d'aleuries, pas de fuseaux ni d'organes nodulaires, tous organes constants chez les dermatophytes des genres *Trichophyton* et *Sabouraudites*. Les organes principaux

sont surtout des chlamydospores pédiculées, intercalaires et des bourgeons latéraux à caractère pseudo-conidien. On peut donc considérer les *Grubyella* comme des dermatophytes rudimentaires, et les placer ainsi dans la sous-famille des *Closterosporæ* dont elle représente un type affaibli, dégradé.

Nous pensons avoir suffisamment montré quels caractères rapprochent le *Cryptococcus farcinimosus* Rivolta des autres dermatophytes du genre *Grubyella*. Nous pouvons dès lors conclure en donnant à cette espèce, le nom de *Grubyella farcinimosa* (Rivolta) Ota emend.

Nous ne voudrions pas terminer cette étude sans remercier M. le professeur Brumpt du bienveillant intérêt qu'il a porté à notre travail, et M. le Dr Langeron dont nous avons apprécié les connaissances si étendues et l'obligeance si parfaite.

RÉSUMÉ

Le champignon isolé des lésions de lymphangite épizootique des solipèdes et considéré jusqu'ici comme un blastomycète du genre *Cryptococcus*, doit être placé parmi les Conidiosporés, dans la sous-famille des Clostérosporés, dans le genre *Grubyella* Ota et Langeron, 1923 et prendre le nom de *Grubyella farcinimosa* (Rivolta) Ota emend.

BIBLIOGRAPHIE (1)

- BOQUET (A.) et NÈGRE (L.). — *Lymphangite épizootique des Solipèdes*. Monographie de l'Inst. Pasteur, Paris, Masson, 1920.
- MORI (N.). — Sulla natura dei virus filtrabili. Ricerche sperimentali sul virus rabico e su di un ifomicete isolato dalle lesioni del farcino criptococcico. *Annali della Stazione Sperimentale per le malattie infettive del bestiame*. Naples, II, 1914.
- FERMI et ARUCH. — Ueber eine neue pathogene Hefeart und ueber die Natur der sogenannten *Cryptococcus farcinimosus* Rivolta. *Centralbl. für Bakteriöl.*, XVII, 1895, p. 593-600.
- LINDNER et KNUTH. — Untersuchungen ueber einen im Eiter eines an der epizootischer Lymphangitis erkrankten Maultieres gefundenen Pilz. *Zeitschr. f. Haustiere*, XVII, 1916.
- OTA et LANGERON. — Nouvelle classification des Dermatophytes. *Ann. de Parasitologie*, I, 1923, p. 305-336.
- TOKISHIGE. — Ueber pathogenen Blastomyceten. *Centralb. f. Bakteriöl.*, XIX, 1896, p. 105-113, pl. III-V.

Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de médecine de Paris.

(1) Nous avons restreint intentionnellement la liste des ouvrages à consulter, on pourra trouver la bibliographie complète dans la monographie de Boquet et Nègre.