ANNALES DE PARASITOLOGIE

HUMAINE ET COMPARÉE

TOME VII

1^{er} MARS 1929

N° 2

MÉMOIRES ORIGINAUX

PENICILLIUM BERTAI (1) n. sp.

AGENT D'UNE MYCOSE BRONCHO-PULMONAIRE DE L'HOMME

Par R.-V. TALICE et J.-E. MACKINNON

La bibliographie de la question de mycoses pulmonaires est considérable, mais parmi les nombreux cas publiés il y en a certainement très peu qui résistent à une critique sévère, et même dans les cas qu'on peut considérer comme de vraies mycoses pulmonaires, rarement on a fait l'étude complète du champignon parasite et sa détermination.

Le cas qui fait l'objet de notre communication a été soigneusement étudié ; un champignon en a été isolé et déterminé. La constance avec laquelle ce champignon s'est révélé dans les crachats et les cultures nous permet de croire à son rôle pathogène. Ce cas nous semble d'autant plus intéressant qu'il s'agit d'un *Penicillium* et que les mycoses pulmonaires produites par des champignons de ce genre sont très rares et très mal connues.

Nous n'avons trouvé dans la littérature médicale que 4 cas de mycoses pulmonaires réelles provoquées par des *Penicillium*. Il y a d'abord le cas de Giordano, en 1918, avec constatation des spores et des filaments dans plusieurs examens directs de crachats récoltés après lavages soigneux de la cavité buccale. La culture lui a permis d'identifier le parasite ; c'est le *Penicillium glaucum* Link

(1) Nous dédions cette espèce au Dr A. Berta, l'éminent directeur de l'Institut d'Hygiène de Montévidéo.

(= *P. crustaceum* Linné, 1763), dont le pouvoir pathogène a été démontré par l'inoculation intraveineuse à un lapin.

Le deuxième cas a été publié la même année par Castellani, mais la détermination de l'espèce n'a pas été donnée.

Le troisième cas est celui de Pezzali (1921). Cet auteur a trouvé des conidies à l'examen direct des crachats du malade et à l'autopsie un abondant mycélium sur la paroi des bronches. Il n'a pas fait la détermination de l'espèce.

Le quatrième cas appartient à Xalabarder (1927), qui a isolé des crachats d'un malade deux variétés de *Penicillium* d'espèce indéterminée. Les cultures ont été obtenues soit avec les crachats soit avec le produit d'une ponction pulmonaire faite au niveau d'une lésion révélée par la radiographie.

Le parasitisme des *Penicillium* semble assez rare dans les voies respiratoires de l'homme, même dans le cas des lésions cavitaires puisque Artault (1898), sur 21 autopsies de tuberculeux, n'a trouvé qu'une fois le *Penicillium glaucum* Link (= *P. crustaceum* Linné, 1763), et Redaelli (1925), sur 12 autopsies, a trouvé une seule fois dans une caverne deux variétés de *Penicillium*. Ces deux auteurs pensent d'ailleurs que ce champignon n'a exercé aucune action pathogène.

Dans notre cas, il s'agissait d'un malade de 58 ans, Italien, habitant l'Uruguay depuis plusieurs années. Le malade a été examiné et traité par notre collègue le Dr Petrocelli, dans l'hôpital Maciel de Montevideo. Il présentait des signes de pseudo-tuberculose pulmonaire chronique, avec une toux et une expectoration très pénibles. Malgré des recherches répétées on ne put trouver de bacilles acido-résistants dans les crachats, mais on constata sur les radiographies l'existence d'une curieuse image pulmonaire à contours géométriques.

Sur la demande de notre collègue, nous avons fait l'examen de ces crachats à trois reprises, à 10 à 12 jours d'intervalle. Le malade avait fait le jour précédent de soigneux lavages buccaux avec des antiseptiques alcalins. Au laboratoire, le malade a expectoré en notre présence après de nouveaux lavages de bouche. Le résultat de notre examen a été le même les trois fois. Les crachats présentaient des petits grumeaux purulents, grisâtres ou rougeâtres, qui au microscope se montraient formés par des agglomérations des filaments mycéliens. Dans quelques préparations nous avons vu des spores isolées ou groupées. Jamais il n'a été possible de trouver le bacille tuberculeux. L'inoculation intrapéritonéale des crachats au lapin et au cobaye est restée sans résultat ; cette expérience a démontré en même temps qu'il ne s'agissait pas d'une tuberculose associée.

Les ensemencements des particules de crachats sur différents milieux et dans une grande quantité de tubes ont été toujours positifs. Sur Raulin nous avons obtenu au premier ensemencement des cultures presque pures d'un *Penicillium*.

Le liquide de Raulin, par sa réaction fortement acide, est très commode pour isoler les champignons des crachats et de tous les exsudats infectés par des microbes. En effet, la propriété des champignons de s'adapter à des milieux très acides est bien connue. Nous avons pu constater en 1925, en faisant des recherches sur l'influence de la réaction du milieu dans les cultures des champignons parasites, que plusieurs *Penicillium* peuvent se développer en proportion sensiblement égale sur des tubes de milieu de Sabouraud dont le pH variait de pH 2,2 à pH 10.

I. Etude du *Penicillium* isolé

Milieux de cultures employés. — Le genre *Penicillium* renferme un nombre considérable d'espèces, la plupart répandues partout dans la nature. Ces champignons sont encore très incomplètement connus, car il n'existe qu'un petit nombre de monographies consacrées à ce groupe et encore n'intéressent-elles que des espèces rencontrées en Europe ou dans l'Amérique du Nord. La plus complète de ces monographies est certainement celle de Biourge qui renferme un grand nombre de planches en couleurs montrant les aspects que prennent les cultures sur les divers milieux employés systématiquement par l'auteur. Nous avons donc pensé que pour déterminer notre *Penicillium* le mieux était de suivre la méthode de Biourge, d'employer les milieux préconisés par cet auteur et de comparer les cultures avec ses planches. Nous allons donner une brève description de ces milieux dont la composition diffère de celle des milieux classiques :

1° *Raulin neutre de Dierckx*. Ce milieu ne contient que la quantité nécessaire d'acide tartrique pour dissoudre le carbonate de magnésie du milieu de Raulin. En voici la formule :

a) Dissoudre 0 gr., 71 d'acide tartrique et 0 gr., 40 de carbonate de magnésie dans de l'eau distillée de manière à avoir finalement 100 cm³ exactement.

b) Dans un ballon gradué d'un litre, contenant 800-900 cm³ d'eau distillée, dissoudre :

saccharose, 46,6 ;

nitrate d'ammonium, 2,66 ;

phosphate d'ammonium, 0 gr., 40 ;

carbonate de potassium, 0 gr., 40 ;

sulfate d'ammonium, 0 gr., 16 ;

sulfate de zinc, 0 gr., 04 ;

sulfate ferreux, 0 gr., 04.

Après dissolution, ajouter 66-67 cm³ de la solution de tartrate de magnésie et compléter jusqu'au trait.

c) Gélatiniser à 10 p. 100. Stériliser comme d'habitude.

2° *Bouillon gélatiné*. Le bouillon de viande des bactériologistes est neutralisé au papier de tournesol très sensible et on y ajoute 3 p. 100 de glycérine, 5 p. 100 de saccharose et 10 p. 100 de gélatine.

Biourge dit avec raison que « sur ce milieu les cultures vieillissent beaucoup plus rapidement que sur les autres....., la couleur des spores atteint plus tôt les tons olives ou bruns de la fin des végétations..... ».

3° *Moût de bière*. On chauffe le moût dans un ballon à 120° pendant 15 minutes. On filtre, puis on ajoute 10 p. 100 de gélatine et 1,5 p. 100 de gélose. Après dissolution, on distribue dans des tubes, on stérilise pendant 20 minutes à 110°, puis on incline les tubes.

4° *Pain*. On emploie du pain rassis de deux jours dont on coupe la mie en tranches d'un centimètre d'épaisseur. On stérilise en boîtes de Pétri.

5° La *pomme de terre* et les *milieux de Sabouraud* sont préparés suivant les procédés classiques.

II. Description des cultures

Pour désigner les teintes des colonies indiquées dans notre description, nous nous sommes servis des deux codes des couleurs :

1° SACCARDO, *Chromotaxia seu nomenclator colorum*, Patavii, 1891.

2° KLINCKSIÉCK et VALETTE, *Code des couleurs*, Paris, 1908.

I. Raulin neutre de Dierckx, gélatiné à 10 p. 100

Culture à la température ordinaire en tubes inclinés.

a. — *Culture en piqure*. Le 2° jour on voit une colonie blanche de 3 mm., de couleur jaune (*sulphureus* 25, Saccardo) au centre. Le 4° jour la colonie beaucoup plus grande a pris une couleur verte (*glaucus* 38, Saccardo) ; le revers est jaune (*sulphureus* 25, Saccardo). Le 10° jour la colonie est uniformément vert clair ; le 25° jour vert foncé (*atro-virens* 34, Saccardo). Odeur nulle.

b. — *Culture en strie*. Face : le 2^e jour : colonie saillante à croissance rapide, avec spores vertes (*glaucus* 38, Saccardo ; 371, K. et V.). 8^e jour : colonie plissée secondairement, d'un vert de plus en plus foncé (373, K. et V.), avec une zone périphérique blanche (1, Saccardo), étroite, qui ne prend la couleur des spores que lorsque la colonie ne peut pas s'étendre. 25^e jour : couleur fuligineuse (11, Saccardo ; 115, K. et V.).

Revers : les 3 ou 4 premiers jours coloration jaune (*luteus* 22, Saccardo) au centre ; puis orangé (*aurantiacus* 21, Saccardo). Au 12^e jour couleur bai (*badius* 20, Saccardo) dans la zone centrale. Au 25^e jour orange (104, K. et V.) au centre, orange clair (137, K. et V.) dans la périphérie. Odeur nulle.

c. — *Raulin neutre liquide*, à 27°. Le champignon se développe en surface, sous la forme de disque d'abord blanc qui commence à sporuler le 3^e jour (*glaucus* 38, Saccardo) en conservant une zone périphérique blanche. Revers du disque superficiel : *sulphureus* (25, Saccardo) le 8^e jour. Pigment jaune diffusible dans le liquide. Le 8^e jour on commence à voir au fond des tubes de petites colonies blanches d'un mm. en forme d'étoile. Au 25^e jour le disque est uniformément vert (*atro-virens* 34, Saccardo ; 194, K. et V.). Odeur nulle.

II. Bouillon, gélatiné, glycérimé, saccharosé

Tubes inclinés à la température ordinaire.

Au 2^e jour : colonie blanche à la surface ; revers jaune (*sulphureus* 25, Saccardo). Au 4^e jour : zone centrale verte (*glaucus* 38, Saccardo) et périphérique blanche ; revers avec une zone centrale orangé clair (*aurantiacus* 21, Saccardo). La liquéfaction commence avec diffusion du pigment orange.

Au 10^e jour : face verte (*atro-virens* 34, Saccardo) dans la zone centrale, jaune (*sulphureus* 25, Saccardo) dans la périphérie ; revers *aurantiacus* (21, Saccardo) dans la zone centrale, *sulphureus* dans la périphérie.

25^e jour : face *fuligineus* (11, Saccardo ; 140, K. et V.), revers *ferrugineus* (31, Saccardo ; 107, K. et V.). Odeur nulle.

III. Moût de bière gélatiné

Tubes inclinés à la température ordinaire. Culture en strie.

2^e jour : colonie blanche. 4^e jour : périphérie blanche, zone centrale sporulée verte ; revers *sulphureus*. La zone centrale s'étend et s'enfonce lentement. La liquéfaction du milieu commence avec diffusion du pigment.

6^e jour : *atro-virens* (34, Saccardo).

10^e jour : face *atro-virens* avec périphérie *sulphureus* ; revers *aurantiacus* au centre, *sulphureus* dans la périphérie. 25^e jour : face *atro-virens* (34, Saccardo ; 315, K. et V.) ; revers *ferrugineus* (31, Saccardo ; 107, K. et V.). Odeur nulle.

Les cultures sur ce milieu montrent toujours après quelques jours un duvet blanc abondant au centre des colonies.

IV. Milieu d'épreuve glycosé de Sabouraud

Tubes inclinés à 27°. Culture en strie.

Culture abondante en surface. D'abord blanche avec zone centrale sporulée verte (*glaucus* 38, Saccardo ; 371, K. et V.), les spores envahissent rapidement la colonie qui s'enfonce lentement (*atro-virens* clair, puis *atro-virens* foncé 34, Saccardo).

25^e jour : *fuligineus* (11, Saccardo ; 95, K. et V.).

Revers (*aurantiacus* 21, Saccardo) au 8^e jour, avec surface *sulphureus* ; *ferrugineus* le 28^e jour.

V. Milieu de conservation de Sabouraud

Tubes inclinés à 27°. Culture en strie.

8^e jour : strie d'un centimètre de couleur blanc rosâtre (1, Saccardo ; 53 A., K. et V.), surface plissée secondairement. Cet aspect a été observé jusqu'au 25^e jour.

VI. Pain

Boîte de Pétri à 27°. Culture abondante. Mycélium *sulphureus* (25, Saccardo ; 216 K. et V.), spores colorant peu à peu la surface de la colonie, d'abord *glaucus* (38, Saccardo ; 371, K. et V.) et rapidement *atro-virens* (34, Saccardo ; 289, K. et V.). Le 25^e jour toute la colonie est verte avec quelques excroissances périphériques jaunes (*luteus*, 22, Saccardo ; 150, K. et V.).

VII. Pomme de terre

27°. Culture en strie.

Culture abondante, superficielle, vermiculée, jusqu'au 25^e jour. Quelques flocons blancs se montrent dès les premiers jours dans l'eau au fond des tubes.

RÉSUMÉ DES TEINTES DANS LES MILIEUX DE CULTURE

Premiers jours (1-4)	face	<i>albus</i> → <i>glaucus</i> (38, Saccardo) → <i>atro-virens</i> (34, S.)
	revers	<i>sulphureus</i> (25, Saccardo) → <i>aurantiacus</i> (21, S.)
Après quelques semaines	face	<i>fuliginus</i> (11, Saccardo).
	revers	<i>ferrugineus</i> (31, Saccardo).

En résumé :

Notre *Penicillium* se développe bien et rapidement dans tous les milieux employés (milieux d'épreuve et de conservation de Sabouraud, moût de bière, bouillon saccharosé gélatiné, Raulin acide et neutre, liquide et gélatiné, pain, pomme de terre).

La température optima des cultures se trouve aux environs de 27°. A 37°, le développement est très faible. C'est donc un nouvel exemple d'un champignon endo-parasite qui ne se montre pas thermophile *in vitro*. Ce *Penicillium* liquéfie le bouillon saccharosé gélatiné, le moût de bière gélatiné, le Raulin neutre gélatiné. Il sécrète un pigment jaune orangé qui diffuse dans les milieux solides et les milieux liquides.

III. Examen microscopique

Cette étude a été faite par la méthode des cultures en cellule, en se servant du bouillon glycosé de Sabouraud. On a fait aussi des préparations colorées par le bleu coton C 4 B Poirrier et montées dans le lacto-phénol d'Amann. Voici la diagnose de ce champignon :

Mycélium abondant, rampant, cloisonné, incolore les premiers jours, jaune dans les cultures âgées. Le diamètre moyen des filaments stériles est de 2 μ , 5 (maximum 4 μ , minimum 2 μ). On observe une tendance des filaments à se disposer en groupements parallèles, sans arriver à former de vrais filaments corémiés.

Conidiophore dressé, de longueur variant de 20 μ à 90 μ , sortant perpendiculairement des filaments fertiles. Le diamètre moyen de ces derniers est de 1 μ , 95. Le conidiophore présente à son extrémité un léger renflement de 3 μ , 20 (maximum 4 μ , 5, minimum 2 μ) ; il est cloisonné et la distance moyenne des cloisons est de 17 μ , 8.

FIG. — A, conidiophores de longueur moyenne; B, conidiophores courts; C, conidiophores longs; D, extrémités de conidiophores avec de grandes phialides; E, extrémités de conidiophores avec de petites phialides; F, filaments mycéliens stériles groupés en pseudo-coremium; G, conidiophore rameux; H, conidiophores avec phialides portant les chaînettes de conidies; I, chaînettes de jeunes conidies; J, conidies de taille moyenne; K, conidies mûres.

Phialides placées sur le renflement de l'extrémité des conidiophores au nombre maximum de 5. Elles sont elliptiques et de dimen-

sions très variables. Leur longueur moyenne est de $9\ \mu$, 2 (maximum $16\ \mu$, minimum $6\ \mu$), leur diamètre moyen est de $2\ \mu$, 25 (maximum $3\ \mu$, 5, minimum $1\ \mu$, 5).

Les phialides portent des chaînettes de conidies qui prennent une direction divergente. Ces chaînettes peuvent compter jusqu'à 20 conidies. Le diamètre de celles-ci augmente progressivement depuis la phialide jusqu'à l'extrémité de la chaîne. Elles sont lisses, rondes, les plus grosses légèrement ovales. Leurs diamètres moyens sont les suivants : pour les plus petites, $1\ \mu$, 75 ; pour les moyennes, $2\ \mu$, 75 ; pour les distales à double paroi, $3\ \mu$, 5.

IV. Identification

Les caractères microscopiques de ce *Penicillium* nous permettent de le placer dans le sous-genre *Aspergilloïdes*, caractérisé par la forme de la cellule terminale du conidiophore. Cette cellule peut être plus ou moins conique ou, comme dans le cas de notre champignon, renflée en ampoule. Un caractère important, souligné par Biourge, est que les spores terminales des chapelets sont fréquemment beaucoup plus volumineuses que les autres. Au point de vue biologique, les *Aspergilloïdes* produisent des pigments diffusibles, caractère présenté aussi par notre champignon.

Dans les ouvrages que nous avons pu consulter, nous n'avons trouvé aucune espèce d'*Aspergilloïdes* dont la description correspond à celle de notre *Penicillium*. Nous nous croyons autorisés à la considérer comme une espèce nouvelle et nous proposons pour elle le nom de *Penicillium bertai*. Nous en avons donné plus haut la diagnose.

C'est la première fois qu'un *Aspergilloïdes* est décrit comme parasite des voies respiratoires de l'homme. Nous devons rappeler que ce groupe est très voisin des *Microaspergillus*, dont l'*Aspergillus fumigatus*, capable de produire des mycoses pulmonaires graves, est le type.

V. Inoculations expérimentales

Nous avons déjà dit que l'inoculation des crachats du malade dans le péritoine d'un cobaye et d'un lapin n'a donné aucun résultat. L'inoculation intraveineuse d'une émulsion des spores à un lapin a donné aussi un résultat négatif.

Nous désirons exprimer ici nos plus sincères remerciements au Professeur Brumpt qui nous a si aimablement accueilli dans son laboratoire et aussi à notre ami, le D^r M. Langeron dont les savants conseils et l'autorité indiscutable nous ont été très précieux dans l'exécution de ce travail.

RÉSUMÉ

Dans cette communication, nous donnons l'étude mycologique d'un champignon parasite, isolé à plusieurs reprises des crachats d'un malade présentant une pseudo-tuberculose pulmonaire chronique. Il s'agit d'une espèce nouvelle de *Penicillium* appartenant au sous-genre *Aspergilloïdes*, pour laquelle nous proposons le nom de *Penicillium bertai*. Il semble que ce champignon a produit une mycose broncho-pulmonaire pure. Le malade traité par l'iode a présenté une amélioration considérable aux points de vues clinique et radiographique.

BIBLIOGRAPHIE

- ARTAUD. — Flore et faune des cavernes pulmonaires. *Arch. de Parasitologie*, I, 1898, pp. 217-307.
- BIOURGE (Ph.). — Les moisissures du groupe *Penicillium* Link. Etude monographique. *La Cellule*, XXXIII, 1923, 331 p., 36 pl.
- BRUMPT (E.). — *Précis de Parasitologie*, 4^e édition, Paris, Masson, 1927.
- GIORDANO (M.). — Un caso di micosi polmonare da *Penicillium glaucum*. *Ann. di Med. Navale e Coloniale*, XXIV (II), 1918, fasc. V-VI.
- PEZZALI (G.). — Un cas de penicilliose secondaire du poumon. *Giornale di clinica Medica*, Bologne, II, n° 6, 10 avril 1921.
- POLLACCI (G.) et NANNIZZI (A.). — *I miceti patogeni dell'uomo et degli animali*. Miceti N° 6 (Fasc. 1, 1923); 36 (Fasc. IV, 1925), Bologna, Capelli.
- REDAELLI (P.). — *I miceti come associazione microbica nella tubercolosi polmonare cavitaria*. R. Università di Pavia. Istituto de Anatomia Patologica, Pavie, 1925, 99 p., 9 pl.
- SARTORY (A.) et BAILLY (A.). — *Les mycoses pulmonaires et leurs parasites*. Paris, Edition Clinique et laboratoire, 1923.
- SOPP (O.-J.). — *Monographie der Pilzgruppe Penicillium*. I. Videns Kapsselskapets Skrifter. I. Mat. Naturv. Klasse, 1912, N° 11, Kristiania, 1912, 208 p., 23 pl.
- THOM (Ch.). — Cultural studies of species of *Penicillium*. U. S. Department of Agriculture. Bureau of animal industry, Bull. n° 118, Washington, 1910, 109 p.
- WESTLING (R.). — *Über der grünen Spezies der Gattung Penicillium*: Inaug. Diss. Uppsala, 1911, 156 p.
- XALABARDER (X.). — Micosis pulmonar producida por una especie de *Penicillium*. *Revista Médica de Barcelona*, VIII, 1927, p. 574-577.

Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris.