

## LE FACTEUR $pH$ EN MYCOLOGIE.

### SON INFLUENCE SUR LA CULTURE DE CERTAINES ESPÈCES DE CHAMPIGNONS PARASITES DE L'HOMME

Par R.-V. TALICE

Jusqu'à 1909, on se contentait, pour mesurer l'acidité ou l'alcalinité des milieux biologiques, de l'approximation qui est donnée par le virage des indicateurs usuels : tournesol, phénolphtaléine, etc. En effet, les méthodes électrométriques, les seules exactes, mais trop délicates, ne pouvaient pas être utilisées dans la pratique courante du laboratoire.

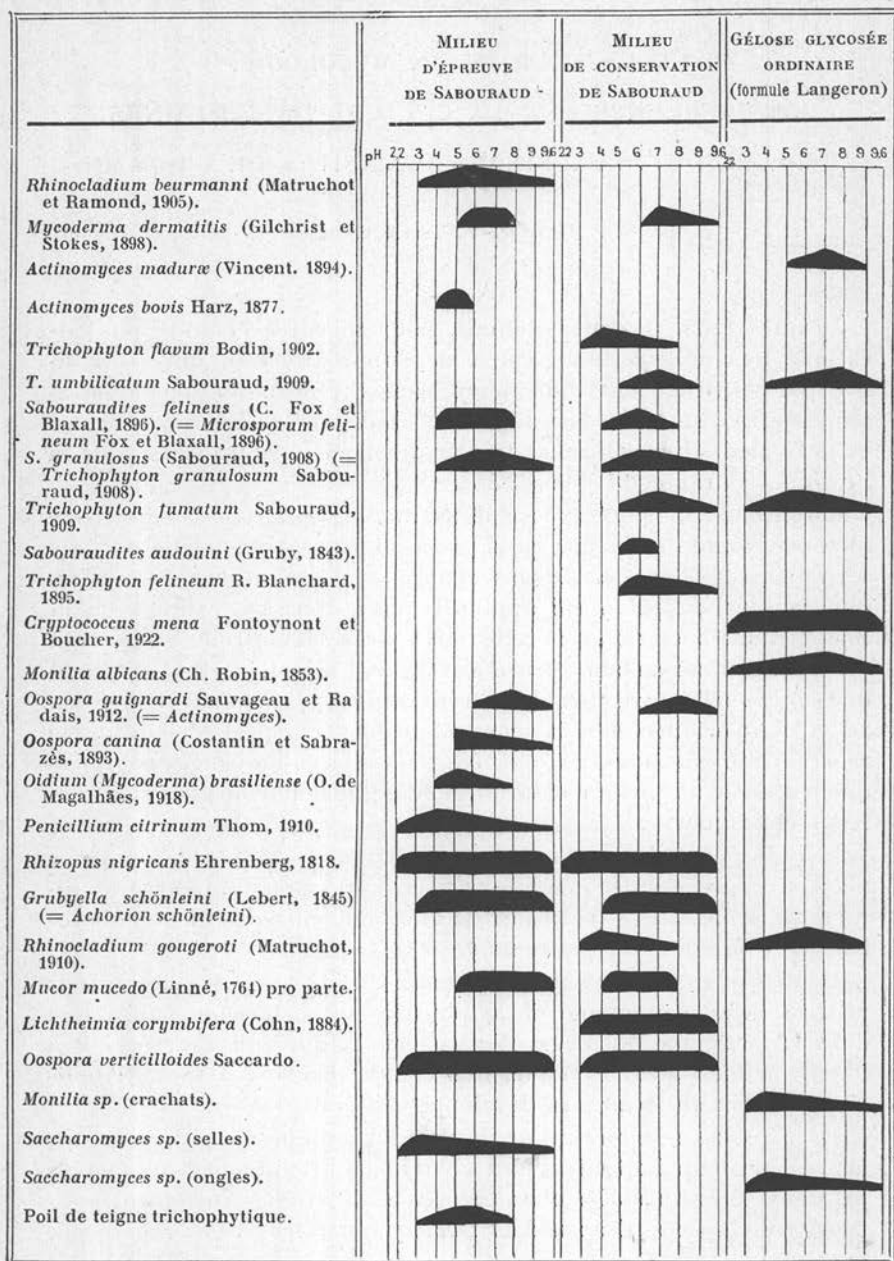
Sørensen, en 1909, expose dans un travail fondamental une méthode simple et précise pour mesurer la réaction réelle de tous les milieux biologiques. Depuis cette époque, la mesure de la réaction ionique ou  $pH$  a été appliquée dans tous les champs de la biologie. En bactériologie, cette méthode a été introduite en 1914 par Clark et ses collaborateurs aux États-Unis, d'où elle s'est étendue universellement. Des nombreux travaux ont mis ensuite en relief l'importance des facteurs physiques et spécialement de la réaction ionique dans les cultures des microorganismes, pour lesquelles on avait jusque-là presque uniquement considéré les facteurs chimiques.

L'application des méthodes ionométriques en protozoologie a permis de préciser les conditions nécessaires pour obtenir des cultures de protozoaires, parasites de l'homme, en particulier des protozoaires de l'intestin et du sang.

De même, en bactériologie, la mesure du  $pH$  a apporté des grands progrès dans le domaine de la physiologie bactérienne, ainsi que dans la technique du diagnostic bactériologique courant. On sait à l'heure actuelle, par exemple, que chaque bactérie a son  $pH$  optimum, nécessaire pour son développement intégral.

En mycologie, la mesure de la réaction ionique n'a pas, jusqu'ici, attiré beaucoup l'attention des chercheurs. L'influence du facteur  $pH$  dans les cultures des champignons a été étudiée seulement pour très rares espèces (Näslund et Dernby pour les *Actinomyces* par exemple).

### Courbes de croissance en fonction de la concentration des milieux en ions H



NOMS DES ESPÈCES	MILIEU D'ÉPREUVE DE SABOURAUD			MILIEU DE CONSERVATION DE SABOURAUD			GÉLOSE GLYCOSÉE ORDINAIRE 2 0/0 (formule Langeron)		
	pH			pH			pH		
	minimum	optimum	maximum	minimum	optimum	maximum	minimum	optimum	maximum
<i>Rhinocladium beurmani</i> .....	3	6	9,6						
<i>Mycoderma dermatitis</i> .....	5		8	6	7	9,6			
<i>Actinomyces maduræ</i> .....							5	7	9
<i>Actinomyces bovis</i> .....	4	5	6						
<i>Trichophyton flavum</i> .....				3	4	8	3	5	8
<i>T. umblicatum</i> .....				5	7	9	4	8	9,6
<i>Sabouraudites felineus</i> .....				5	6	9,6	5	7	9,6
<i>S. granulosis</i> .....	4	6-7	9,6	4	6	9,6			
<i>Trichophyton fumatum</i> .....				5	7	9,6	3	5-6	9,6
<i>Sabouraudites audouini</i> .....				5	7				
<i>Trichophyton felineum</i> .....	4		8	4	6	8			
<i>Cryptococcus mena</i> .....							<2,2	3-9	9,6
<i>Monilia albicans</i> .....							<2,2	7	9,6
<i>Oospora guignardi</i> .....	6	8	9,6	6	8	9,6			
<i>Oospora canina</i> .....	5	5	9	5	8	9,6			
<i>Oidium brasiliense</i> .....	4	5	8						
<i>Penicillium citrinum</i> .....	<2,2	4-5	9,6				<2,2	4-5	9,6
<i>Rhizopus nigricans</i> .....	<2,2		9,6	<2,2		9,6			
<i>Grubjella schönleini</i> .....	3		9,6	4		9,6			
<i>Rhinocladium gougeroti</i> .....				3	4	8	3	6	9,6
<i>Mucor mucedo</i> .....	5		9,6	4		8			
<i>Lichtheimia corymbifera</i> .....				3		9,6			
<i>Oospora verticilloides</i> .....	<2,2		9,6	<2,2		9,6			
<i>Monilia sp. (crachats)</i> .....							3	4	9,6
<i>Saccharomyces sp. (selles)</i> .....	<2,2	3	9,6						
<i>Saccharomyces sp. (ongles)</i> .....							3	4	9,6
Poils de teigne trichophytique.....	3	6	8						

NOTA. — Les flèches indiquent que les espèces peuvent végéter au-dessous de 2,2 ou au-dessus de 9,6.

Nous nous sommes proposé d'étudier les caractères macroscopiques et microscopiques d'un certain nombre de champignons parasites cultivés sur des milieux préalablement ajustés à des pH croissants d'unité en unité, de 2,2, à 9,6. La concentration de ces milieux en ions H a été déterminée, d'après la méthode colorimétrique de Sørensen, avec les indicateurs classiques de Clark et Lubs et les

solutions-tampons de contrôle (standard-buffer solutions) conseillées par Malbaine. Les milieux employés ont été la gélose glycosée ordinaire, les milieux de Sabouraud (d'épreuve et de conservation) et le liquide de Raulin. Les tubes furent constamment ajustés après la stérilisation à pH 2,2 ; 3 ; 4 ; 5 ; 6 ; 7 ; 8 ; 9,6. Nous nous sommes assuré que leur titre ne variait pas lorsqu'on les conservait pendant plusieurs semaines avant de les ensemençer.

Tous les ensemencements ont été effectués dans des conditions comparables, en points ou en stries, avec la même quantité de matériel provenant de cultures mères sur gélose de Sabouraud ordinaire ou dans de l'eau de pomme de terre. Nous avons fait ainsi plus de 500 cultures de 30 espèces différentes de champignons à des températures variables, en examinant chaque jour les colonies et en notant les résultats obtenus : culture positive ou négative ; abondance du développement, caractères macroscopiques (forme, étendue, couleur des colonies, caractères des contours), etc. Le graphique ci-joint indique, pour chaque espèce, les courbes de croissance et la richesse des cultures en fonction du pH des milieux. Voici les résultats obtenus avec les espèces qui nous ont donné les aspects les plus constants : nous ne les exposerons que très sommairement.

1. — Il ressort de nos essais que, pour les espèces étudiées, les valeurs limites maxima et minima du pH, compatibles avec leur développement dans le milieu de Sabouraud, sont en général très éloignées l'une de l'autre. Le pH optimum se traduit beaucoup plus souvent par un plateau plus ou moins étendu, que par un sommet. Sauf de rares exceptions, les courbes, surtout celles qui correspondent aux espèces non ou peu pathogènes, offrent une grande amplitude.

2. — Dans la série des tubes ensemencés à des pH différents, on constate fréquemment : a) des variations macroscopiques dans la forme et la couleur des colonies, surtout pour les espèces normalement très colorées ; b) quelquefois des variations dans l'aspect microscopique du champignon (par exemple prédominance d'une forme végétative sur l'autre, suivant la valeur du pH).

3. — Donc la courbe de croissance de chaque espèce de champignon, comme pour les bactéries, quoique à un degré moindre, constitue un nouveau caractère biologique d'importance appréciable.

Les déductions pratiques qu'on peut tirer de nos recherches sont les suivantes :

A. — La tolérance de la plupart des champignons parasites aux variations du pH des milieux, rend inutile en général l'ajustement préalable de ces milieux, quand il ne s'agit pas d'études mycologiques spéciales.

B. — En cultivant une espèce dans un milieu ajusté à son pH optimum, on peut obtenir le maximum de développement dans le minimum de temps.

C. — La possibilité pour certaines espèces (*Monilia*, *Saccharomyces*, etc.) de végéter à des pH très acides, défavorables à la culture des bactéries, permet d'utiliser ce fait dans le diagnostic des mycoses viscérales, à partir des exsudats ou des produits organiques plus ou moins souillés et très riches en microbes, comme les crachats. Pijper a proposé ce procédé pour la recherche des mycoses pulmonaires. Il donne de très bons résultats comme nous-même nous avons pu le constater maintes fois. Les ensemencements de crachats dans le liquide de Raulin très acide (pH 2,2-pH 3) permettent, dans les cas positifs, d'obtenir des cultures primaires de *Monilia*, pures ou presque pures. Il en est de même avec les ensemencements des selles riches en champignons.

D. — Il serait intéressant d'étendre ces recherches à toutes les espèces connues de champignons parasites.

Nous désirons exprimer ici nos sincères remerciements à notre ami, le D<sup>r</sup> C. López García, assistant à l'Institut d'Hygiène de Montevideo, pour l'aide qu'il nous a apportée dans l'exécution de ce travail.

#### BIBLIOGRAPHIE

- ABT (G.). — La mesure de la réaction (pH) par la méthode colorimétrique dans les milieux de culture et les milieux biologiques. *Revue d'Hygiène*, XLV, 1923, p. 1-43.
- BACH (D.). — Variations de la concentration en ions hydrogène sous l'influence de de l'assimilation des nitrates par l'*Aspergillus repens* de Bary. *C. R. Acad. Sc.*, CLXXVIII, 1924, p. 520.
- Variations de la concentration des ions H au cours de l'assimilation des sels ammoniacaux d'acides forts par l'*Aspergillus repens* de Bary. *C. R. Acad. Sc.*, CLXXVIII, 1924, p. 2194.
- CLARK (W.-M.). — *The determination of hydrogen ions*. Baltimore, Williams et Wilkins, 1920, 318 p.
- CLARK (W.-M.) et LUBS (H.-A). — The colorimetric determination of hydrogen ion concentration and its application in bacteriology. *Journ. of bacteriol.*, II, 1917, p. 109 et 236.
- LANGERON (M.). — *Précis de microscopie*, 4<sup>e</sup> éd., Paris, Masson, 1925, p. 573-586.
- MICHAELIS (L.). — *Manuel de techniques de physico-chimie*. Trad. de Chabanier et Lobo-Onell, Paris, Masson, 1923.
- NÄSLUND (C.) et DERNBY (K.-G.). — Untersuchungen über einige physiologische Eigenschaften der Strahlenpilze. *Bioch. Zeitschr.*, CXXXVIII, 1923, p. 497. (analyse dans *Bull. Inst. Pasteur*, XXII, 1924, p. 943).

- PEREIRA (O.-B.). — *A iõnometria nos meios culturaes*. Thèse de Porto-Alegre (Brésil), 1926, 195 p.
- PIJPER (A.). — Bronchomoniliasis and *Monilia-fungi* in sputum. *Med. Journ. of South-Africa*, XIX, 1923, 11 p.
- SÖRENSEN. — Etudes enzymatiques : II. Sur la mesure et l'importance de la concentration des ions hydrogène dans les réactions enzymatiques. *C. R. Lab. Carlsberg*, VIII, 1909, p. 1.
- Note supplémentaire au mémoire intitulée : Etudes enzymatiques II. *C. R. Lab. Carlsberg*, VIII, 1909, p. 396.
- SIDERS (Ch.-P.). — The role of hydrogen-ion concentration on the development of pigment in *Fusaria*. *Journ. Agric. Res.*, XXX, 1925, p. 1011-1019 (analyse dans *Bull. Inst. Pasteur*, XXIV, 1926, p. 28).
- TALICE (R.-V.) et MACKINNON (J.-E.). — Estudio de algunas Monilias de los espantos. Consideraciones sobre micosis pulmonares. *4ª Reun. Soc. Argent. pat. reg. del norte. Bol. Inst. Clin. Quir. Buenos-Aires*, IV, p. 502-519, 1928.

*Section de Parasitologie de l'Institut d'Hygiène de Montevideo.*

---