SUR UNE SOUCHE D'*ALEURISMA LUGDUNENSE* ISOLÉE DE LA PEAU D'UN DROMADAIRE

Par E.-A.-R.-T. BAUDET

En étudiant les cultures ensemencées avec des squames d'un dromadaire atteint d'une teigne (1), nous avons vu se développer dans un des tubes un champignon formant une couche poudreuse et blanche.

L'examen microscopique montrait qu'on avait affaire à une espèce du genre *Aleurisma*. Vuillemin, qui a fait une étude spéciale des Aleuriosporés, a écrit ce qui suit :

« Ce groupe paraît avoir été pressenti par Link, en 1809, lorsqu'il créa le genre *Aleurisma* pour des espèces où les spores survivant à des filaments fugaces dont elles procèdent, finissent par s'entasser comme une poudre de farine.

« Ces spores, que nous appellerons aleuries, diffèrent des conidies par leur union indissoluble avec les filaments mycéliens, dont elles ne sont affranchies que par la destruction de ces derniers. »

Plus loin, Vuillemin ajoute : « Les spores d'*Aleurisma* ne sont pas des conidies, bien que leur régularité en impose parfois à un examen superficiel. Elles peuvent être terminales, latérales ou intercalaires ; une même espèce offre toutes ces dispositions et les états intermédiaires. En aucun cas, elles ne sont originellement distinctes du thalle ; leur libération n'est assurée que par la mort des filaments qui les portent et qu'elles épuisent. »

Cette définition du genre *Aleurisma* est donc bien nette. Le champignon que nous avons isolé de la peau du dromadaire correspond tout à fait à cette description.

Culture. — La culture de l'*Aleurisma* du dromadaire se développe très bien à la température du laboratoire ou à 22-24° C. Après 2-3 jours, on voit une couche mince, lisse, humide et plus ou moins luisante sur la gélose glycosée à 2 p. 100. Après 5 jours, on observe déjà des colonies d'un diamètre de 3 mm. à 1 cm., d'abord couvertes

(1) BAUDET (E.-A.-R.-T.). — Sur une teigne trichophytique du dromadaire produite par une espèce nouvelle de *Grubyella*, *G. langeroni* n. sp. *Annales de Parasitologie*, VIII, 1930, p. 411-418, pl. XV-XVI.

d'un duvet blanc très court, qui bientôt se change en une poudre blanche et farineuse, par suite de la production intense des spores. Le revers de la colonie commence à se colorer en jaune de miel (*melleus*, d'après la *Chromotaxia* de Saccardo). Microscopiquement, on ne voit que des filaments ramifiés. Quelques-uns présentent un ou plusieurs renflements le long du mycelium, mais à des intervalles réguliers. En tous cas, ces renflements n'ont pas l'aspect de ceux qu'on rencontre dans les filaments en raquette des dermatophytes, où on les trouve régulièrement espacés. Déjà, après quelques jours, c'est-à-dire quand les aleuries commencent à se développer aux dépens du mycelium, on observe que peu à peu les fila-

FIG. 1. — *A. lugdunense* du dromadaire. Aleuries pédiculées et aleuries libres, culture de 10 jours sur gélose glycosée à 2 p. 100.

ments se vident. Leur protoplasma sert à former les aleuries qui, bientôt, vont couvrir la surface de la culture et lui donnent l'aspect farineux. Comme le montre la figure 1, la culture du dromadaire correspond à la description que Vuillemin a donné du genre *Aleurisma*. Les spores de notre culture sont plus ou moins ovoïdes et mesurent 1-2 μ , 5 sur 0 μ , 8-1 μ , 5. La dimension des spores dépend de leur âge ; les plus âgées sont les plus grandes. La forme ovoïde disparaît souvent et devient plus ou moins irrégulière, après que les spores se sont détachées des filaments.

Le pigment. — La raison principale qui nous a fait étudier ce champignon est la diffusion d'un pigment, d'abord de couleur rose, et puis rouge vineux, dans les cultures premières sur gélose glycosée à 2 p. 100.

Le point intéressant, c'est que nous avons vu ce pigment rouge seulement dans quelques cultures des premiers repiquages, et que plus tard cette couleur ne s'est plus présentée ni sur gélose glycosée, ni sur d'autres milieux.

Nous avons remarqué que les milieux dans lesquels ce pigment rouge s'était formé étaient très acides. La gélose glycosée, par exemple, dans laquelle le pigment était d'un rose vif, avait un pH de 4-4,2, tandis que dans les cultures où le pigment rouge ne s'était pas produit, le pH du milieu était de 8-8,4.

Pour déterminer le pH de nos milieux, nous avons employé les indicateurs préparés suivant les formules de Medalia, et en comparant les colorations obtenues avec l'échelle de Clark ; nous avons utilisé aussi avec avantage l'indicateur de Guillaumin. Dans les deux cas, les déterminations ont été effectuées non dans des tubes à essai, mais dans des godets de porcelaine, suivant le procédé préconisé par M. Langeron (1929).

Grâce à cette méthode, la légère coloration de quelques milieux n'a pas eu d'influence sur l'appréciation du virage des indicateurs.

A la suite de ces déterminations, nous avons pensé à essayer des milieux de diverses acidités et alcalinités. De plus, nous étions très portés à croire que les milieux acides seraient préférables, pour la production du pigment, parce que nous avons pu observer le fait suivant :

En prélevant un petit fragment d'une culture de l'*Aleurisma* du dromadaire, dont le revers était coloré en jaune (*citrinus* ou *luteus*, selon Saccardo), et en le traitant par une goutte d'acide chlorhydrique, lactique ou nitrique, la couleur virait immédiatement au rouge (*miniatus* de Saccardo). Quelques gouttes d'une solution concentrée de soude ou d'ammoniaque ne faisaient pas changer la couleur.

Nous avons employé les milieux suivants :

Milieux acides

Gélose glycosée 4 p. 100, pH 4,4-4,6.

Gélose glycosée 2 p. 100, pH 2,8.

Gélose peptonée 3 p. 100, pH 2,8.

Riz (pH de l'eau du fond des tubes), 4,6.

Milieux alcalins

Gélose glycosée 4 p. 100, pH 7,4-7,6.

Gélose glycosée 2 p. 100, pH 7,6-7,8.

Gélose glycosée 2 p. 100, pH 8,2.

Gélose peptonée 3 p. 100, pH 7,6-7,8.

Riz (pH de l'eau du fond des tubes), 8,2-8,5.

Pomme de terre glycélinée à 2 0/0.

Pomme de terre à l'eau de source.

Grâce à l'amabilité des D^{rs} Langeron et Milochevitch, qui font actuellement des recherches sur les milieux les plus favorables pour les dermatophytes, j'ai pu disposer de divers milieux préparés dans ce but. La formule de ces milieux a été publiée dans le travail de ces auteurs. Ces milieux étaient les suivants: gélose à la dextrine blanche et blonde, gélose à l'amidon, grains d'orge, d'avoine et épis de blé.

Nous avonsensemencé trois tubes de chacun de ces milieux. Ces tubes ont été placés soit à l'étuve de 22-24°, soit à la température du laboratoire à la lumière, soit, enfin, à la température du laboratoire à l'obscurité. Les cultures ont été observées régulièrement jour par jour, et la couleur du pigment face et revers a été notée dans des tableaux que nous croyons inutile de reproduire ici et dont voici l'essentiel :

Nous n'avons pu observer la diffusion du pigment rose (intermédiaire entre *roseus* et *incarnatus* de Saccardo), que dans trois de ces milieux :

a) *Gélose glycosée à 4 p. 100* (pH 4,4-4,6), maintenue à la température du laboratoire à la lumière.

b) *Riz*, dont l'eau avait un pH de 4,6 ; le pigment ne se trouvait pas sur le riz, mais dans le coton hydrophile qui se trouvait au-dessous du riz. La culture a été faite à la température du laboratoire et à la lumière.

c) *Gélose à la dextrine blanche*, culture à la température du laboratoire et à la lumière. Dans tous les autres milieux, le pigment rose ne s'est jamais produit. On observait une culture blanche farineuse, tandis que le milieu lui-même restait incolore. Sur les milieux gélosés, le revers des colonies montrait différentes teintes jaunes variant entre *sulphureus*, *citrinus*, *flavus*, *luteus*, *aurantiacus*, *melleus*, *fulvus*, mais ne passant jamais au *rosaceus* (Saccardo).

Sur les milieux au riz, à la pomme de terre et sur les grains d'orge, on observait, surtout à l'endroit où le milieu de culture touchait le tube, une des teintes suivantes : *flavo-virens*, *viridis* ou *citrinus* (Saccardo). En déposant une goutte d'acide lactique, ou d'un autre acide, ces pigments viraient très vite au rouge (*ruber* ou *miniatus* de Saccardo).

Le pigment rose ne s'est plus montré dans les cultures que nous avonsensemencées ensuite. Dans aucun cas, nous n'avons réussi à reproduire cette coloration. En étudiant les résultats mentionnés plus haut, nous avons pensé que l'influence de la lumière et un milieu sucré et acide sont favorables à la production de ce pigment. Mais le résultat de nos recherches n'a pas répondu à notre attente, puisque, parmi toutes ces cultures, nous n'avons pu en trouver que trois qui ont montré la diffusion de ce pigment rose dans le milieu. Il faut encore noter que sur les milieux très alcalins, par exemple la gélose peptonée à 3 p. 100 et la gélose glycosée, tous deux de pH 7,6-8, les colonies restaient lisses et humides et formaient une couche plus ou moins poudreuse au centre.

Le pigment rose se laisse extraire en très petite quantité par l'eau froide, et en plus grande quantité par l'alcool.

Il est insoluble dans l'éther, l'éther de pétrole, le chloroforme, le tétrachlorure de carbone, le toluène et le sulfure de carbone (extraction à froid). Après 24 heures, l'extrait coloré en rose pâlit et la couleur disparaît à la fin tout à fait.

N'ayant plus de cultures à pigment rose à notre disposition, nous avons fait quelques recherches sur les pigments qui s'étaient formés dans les autres cultures. Nous avons suivi la méthode que Lasseur et Girardet ont décrite pour l'extraction du pigment de l'*Aleurisma flavissimum*. La culture estensemencée sur pomme de terre glycinée. Après que le pigment s'est formé, on récolte avec soin, à l'aide d'une spatule de platine, toutes les parties colorées. Cette masse est traitée par l'alcool bouillant. La solution alcoolique est additionnée de son volume d'eau distillée. Cette solution hydroalcoolique est épuisée par l'éther de pétrole ou l'éther sulfurique. En faisant cet extrait des cultures de l'*Aleurisma flavissimum*, Lasseur et Girardet ont obtenu finalement deux solutions A et B :

A : solution étherée bleue ou vert-bleu.

B : solution hydro-alcoolique jaune verdâtre.

La solution B, traitée par la benzine, prit une belle coloration jaune d'or.

Nous avons répété cette expérience avec la culture de l'*Aleurisma* du dromadaire. L'extrait alcoolique a une couleur jaune-verdâtre. Nous avons dilué cette solution à parties égales avec de l'eau distillée et nous l'avons épuisée avec l'éther de pétrole. Nous n'avons pas obtenu la solution étherée bleue ou vert-bleu et la solution hydroalcoolique jaune verdâtre, comme Lasseur et Girardet pour l'*Aleurisma flavissimum*. La couleur de nos deux solutions (alcoolique et étherée) reste la même, c'est-à-dire jaune-verdâtre.

Pour cette raison, il nous a été impossible de continuer les recherches sur ce pigment suivant la méthode employée par Lasseur et Girardet pour le pigment de l'*Aleurisma flavissimum*.

Nous avons dit plus haut que le pigment rose de notre *Aleurisma* n'était pas soluble dans le chloroforme à froid. Nous avons donc fait l'extrait chloroformique en plaçant au bain marie la fiole conique qui contenait la culture avec le chloroforme. L'extrait obtenu a une couleur orangée (*aurantiacus* de Saccardo). En ajoutant quelques gouttes d'acide chlorhydrique, on obtient une belle couleur rose (*roseus*) ; avec l'acide acétique, la couleur ne change pas, tandis qu'avec l'acide nitrique il se produit une couleur brique (*testaceus*) qui disparaît au bout de quelques minutes.

Affinités. — Chevallier a mentionné cinq espèces d'*Aleurisma* : 1. *A. erubescens* Nees, 1817 ; 2° *A. sporulosum* Lk., 1809 ; 3° *A. bulbosum* Lk. (*A. bulbosorum* Lk., 1816) ; 4° *A. saccharinum* Lk., 1816 ; 5° *A. flavissimum* Lk., 1815.

D'après Vuillemin, la troisième et la quatrième de ces espèces sont douteuses ; *A. bulbosum* est réuni par Streinz à *A. erubescens*, tandis que Chevallier dit que cette espèce est blanche ; *A. saccharinum*, trouvé sur les Agarics, ne serait, d'après Lindau, qu'une poussière de spores de ces grands champignons. *A. erubescens* de Nees, déjà considéré par Persoon comme subordonné à *A. sporulosum*, n'en est pas spécifiquement séparé.

Vuillemin considère seulement deux types de Link comme incontestés : *A. sporulosum* Lk., 1809 et *A. flavissimum* Lk., 1815.

Notre champignon diffère de l'*Aleurisma sporulosum*, dont les spores ont une coloration rouge. Au contraire, notre *Aleurisma* conserve toujours sa couleur blanchâtre à la surface, parce que les aleuries restent incolores.

La différence avec *A. flavissimum* résulte de même de la couleur des aleuries. Voici ce qu'en dit Vuillemin : « Le champignon forme d'abord un duvet blanc délicat. En vieillissant, les cultures prennent un aspect pulvérulent et des couleurs variées. La même gamme de tons est réalisée par les végétations provenant des colonies jaunes et par celles qui sont fournies par les colonies vertes. La coloration jaune est la plus précoce ; elle se montre dans le contenu des spores et des filaments et se maintient parfois indéfiniment, justifiant alors le nom assigné à l'espèce. »

Les spores et les filaments de notre *Aleurisma* sont incolores. Mais il y a encore une plus grande différence, c'est la dimension des spores. Celles de l'*Aleurisma flavissimum* mesurent 5 μ , 5-6 μ , 5 $\times$ 4 μ -4 μ , 75. Les spores de notre *Aleurisma* sont beaucoup plus peti-

tes et ont une dimension de $1-2 \mu$, 5×0 , $8-1 \mu$, 5 . La différence de taille dépend de l'âge de la spore.

Massia et Grigoraki ont étudié une nouvelle espèce d'*Aleurisma* à laquelle Vuillemin (*in litt.*) a donné le nom d'*Aleurisma lugdunense*. Ils ont isolé ce champignon des squames d'une épidermophytie humaine, apparue sous forme de placards érythémato-squameux avec vésico-pustules périphériques, sur la surface interne du genou d'un malade portant un appareil de prothèse entretenant localement la peau très humide.

Coufmont et Désir de Fortunet avaient déjà isolé de la peau humaine un champignon parasite qui a été décrit par Busquet sous

FIG. 2. — *A. lugdunense*, souche de Massia et Grigoraki, culture en goutte pendante de 6 jours dans l'eau de pommes de terre.

le nom d'*Achorion arloini* et que Vuillemin a placé dans le genre *Aleurisma* sous le nom de *A. arloingi*. Ce dernier champignon colorait certains milieux en rouge vif, mais les spores étaient plus grandes que celles de l'*Aleurisma lugdunense* ; elles avaient une dimension de $3-4 \mu$ sur $2-2 \mu$, 5 .

En comparant les dessins que nous avons fait de l'*Aleurisma* du dromadaire et d'une souche d'*A. lugdunense* (souche Massia et Grigoraki) de la collection du laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Médecine, on verra (fig. 2) qu'il n'y a pas de différence entre ces deux souches. La dimension des spores de l'*A. lugdunense* était de 0μ , $5-2 \mu$, 5 sur 0μ , 4 à 1μ , 4 . Sachant que la dimension des spores dépend surtout de leur âge, on voit bien que ces dimensions correspondent à celles de notre *Aleurisma*. L'aspect des deux cultures était le même.

Il y a toutefois une exception, en ce qui concerne les cultures premières de notre *Aleurisma* qui ont produit le pigment rose, étudié plus haut, et qui a disparu dans les générations suivantes.

En prenant un petit fragment de la culture d'*A. lugdunense* et en le déposant dans une goutte d'acide chlorhydrique, lactique ou acétique, la couleur vire rapidement au rouge (*ruber* et *miniatus* de Saccardo). Ce phénomène est identique à celui que nous avons observé. Cette coloration du milieu paraît donc être une particularité temporaire du genre *Aleurisma* ; comme il a été dit plus haut, l'*Aleurisma arloingi* colore certains milieux en rouge vif.

FIG. 3. — *A. lugdunense*, souche de Massia et Grigoraki ; a, renflement ; b, chlamydospore ; c, filament vide, qui ne contient que quelques granules.

En outre, nous n'avons jamais rencontré de chaînes de 5 à 15 spores, comme Massia et Grigoraki en ont vu dans leur souche d'*A. lugdunense*. En étudiant cette souche, conservée dans la mycothèque du Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris, nous n'avons jamais pu observer ni dans les milieux solides, ni dans les cultures en goutte pendant des spores en chaînette. D'ailleurs, le caractère essentiel d'un *Aleurisma* est la production d'aleuries au dépens du mycélium ; chaque aleurie se forme seule et est pédiculée.

Nous avons vu, dans la même souche d'*A. lugdunense* de Massia et Grigoraki, des renflements du mycélium, qui ne nous ont pas donné l'aspect de la vraie forme en raquette des dermatophytes.

Comme le montre la figure 3, *a*, ces renflements sont placés très irrégulièrement ; quelquefois on en trouve deux, l'un après l'autre. Nous croyons plutôt que ces cellules produiront peut-être des chlamydospores (fig. 3, *b*), car nous en avons trouvé quelques-unes. Mais on voit, déjà après quelques jours, que les filaments se vident et que leur protoplasma passe dans les aleuries. Il ne reste qu'un filament vide à paroi mince dans lequel on ne trouve que quelques granules (fig. 3, *c*).

Nous croyons donc que l'*Aleurisma* que nous avons isolé du dromadaire doit être considéré comme identique à l'*Aleurisma lugdunense* de Vuillemin (Massia et Grigoraki),

Inoculations. — Nous avons inoculé deux cobayes avec une culture de notre *Aleurisma*. Après avoir rasé la peau, nous l'avons frottée avec la culture déposée sur de la toile d'émeri. Le résultat a été négatif. Une action pathogène pour le cobaye ne s'est donc pas montrée.

J'adresse mes plus vifs remerciements au D^r M. Langeron, pour l'aide précieuse qu'il m'a apportée au cours de ce travail.

RÉSUMÉ

Nous avons isolé de la peau d'un dromadaire un *Aleurisma*, qui s'est montré identique à la souche que Massia et Grigoraki (1924) ont trouvée chez l'homme. Toutefois, nous n'avons pas vu de spores en chaînette ni de vraies cellules en raquette comme ces auteurs en ont décrit. Ces derniers organes nous semblent des simples renflements du mycélium, répartis très irrégulièrement le long de quelques filaments. L'*Aleurisma* du dromadaire a produit un pigment rose dans les cultures premières sur gélose glycosée.

Nous avons étudié ce pigment et nous avons recherché si des conditions particulières de culture (*pH*, température, lumière, obscurité), ou si certains milieux seraient favorables à sa production.

La culture ne s'est pas montrée pathogène pour le cobaye par inoculation à la surface de la peau.

BIBLIOGRAPHIE

- BUSQUET. — Etude morphologique d'une forme d'Achorion, l'*Achorion arloini*, champignon du favus de la souris. *Annales de micrographie*, 1890-91, p. 9.
COURMONT et DESIR DE FORTUNET. — Parasites des éruptions circinées. *Lyon médical*, 1889, n° 42, p. 253.

- Etude expérimentale sur un champignon trouvé chez l'homme dans une lésion de la peau, qu'il faut considérer comme une lésion favique. *Annales de dermatologie*, 1890, p. 239.
- LANGERON (M.). — *Précis de microscopie*, 4^e édit., Paris, Masson, 1925 ; cf. p. 273-586.
- Détermination du pH des eaux sur le terrain. *Ann. de parasitologie*, VII, 1929, p. 88-89,
- LANGERON et MILOCHEVITCH. — Morphologie des dermatophytes sur milieux naturels et milieux à base de polysaccharides. *Annales de Parasitologie*, VIII, 1930, p. 422-436 et 465-508.
- LASSEUR et GIRARDET. — *Contribution à l'étude des pigments microbiens*, Nancy, J. Courbé et fils.
- MASSIA et GRIGORAKI. — Sur une épidermophytie occasionnée par une espèce nouvelle : *Aleurisma lugdunense* (Vuillemin in litt., 1924). *C. R. Soc. de biol.*, XCI, 1924, p. 1383-1384.
- SACCARDO. — *Chromataxia seu nomenclator colorum*. Patavii, 1891.
- VUILLEMIN. — Les Aleuriopores. *Bulletin des séances de la Société des sciences de Nancy*, s. d.

*Section de mycologie du Laboratoire de Parasitologie
de la Faculté de Médecine de Paris.*