

ÉTUDE MYCOLOGIQUE
D'UNE SOUCHE DE *MONILIA ALBICANS*

Par P. NEGRONI

M. le Dr P. Ravaut a bien voulu m'envoyer une culture d'une levure qu'il a isolée d'intertrigos et me charger de l'étudier. Je l'en remercie vivement. Comme on verra dans la suite, je suis arrivé à identifier cette levure avec le *Monilia albicans* (Ch. Robin, 1853), agent du muguet.

Caractères des cultures et morphologie

Sur moût de bière gélisé, au bout de 24 h. à 37°, le développement est déjà abondant, confluent et d'une couleur blanc sale ; sa surface est humide et brillante et sa consistance crémeuse ; le matériel prélevé de la culture reste bien en suspension dans l'eau. Il y a fermentation du liquide de condensation du fond.

Au microscope, on ne constate que des blastospores à forme ovale prédominante (fig. 2). La dimension de celles-ci oscille entre 3 μ , 6 de diamètre pour les cellules les plus petites, jusqu'à 9 μ , 90 sur 7 μ , 20 pour les plus grandes. Ces blastospores sont pourvues généralement d'une grosse vacuole centrale ou à peine excentrique, entourée d'une couronne de globules graisseux. On voit parfois, au milieu des vacuoles, un ou plusieurs corpuscules métachromatiques animés de mouvements browniens. Il n'y a pas de vrais filaments.

Colonie géante sur moût de bière gélisé. — En ensemençant une petite portion de matériel de culture, sur moût de bière, en flacon d'Erlenmeyer, on obtient, au bout de 20 jours à un mois, la formation d'une colonie de 4 cm. de diamètre environ (fig. 1). Celle-ci est circulaire et présente aux bords 4 ou 5 festons très peu prononcés. Son centre est légèrement surélevé et sa surface humide, brillante et branchâtre est parcourue par des sillons radiés, incomplets, qui vont aboutir aux festons.

Moût de bière liquide. — Cette levure fait fermenter le moût de bière en formant un dépôt et un fin anneau à sa surface.

Eau de pomme de terre. — J'ai employé ce milieu, renfermant

25 gr. par litre de pulpe de pomme de terre, stérilisé à 120° et distribué en tubes de 18 mm. de diamètre (5 cc. chacun, technique de Talice). Dans ce milieu, on observe, déjà au bout de 24 h. à 37°, sur les parois, la formation de colonies étoilées et, au fond, des masses

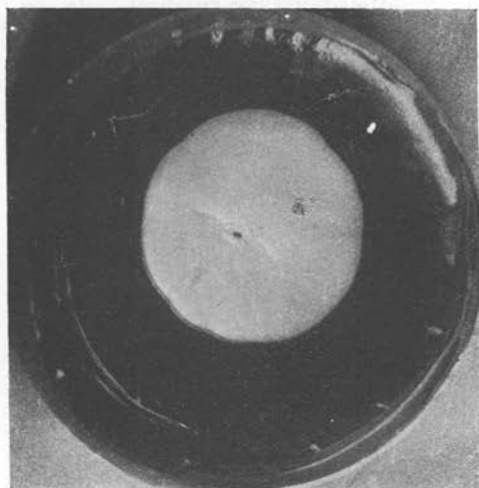


FIG. 1. — Colonie géante de la levure de Ravaut sur moût de bière gélifié.

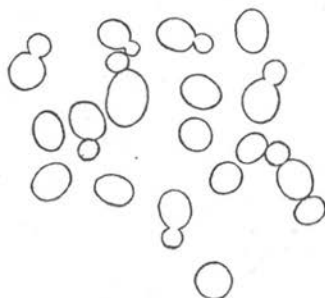


FIG. 2. — Aspect de la levure de Ravaut sur moût de bière gélifié (culture de 24 h. à 37°).

floconneuses. Le liquide reste clair. Dans les jours suivants, les colonies se fusionnent en un voile vertical, incomplet et fragile.

A l'examen microscopique, on constate un feutrage de filaments ramifiés et cloisonnés de 2 μ de diamètre environ. Assez souvent, on voit le filament partir d'une blastospore, comme s'il dérivait de sa

germination (fig. 4). Au niveau des cloisons, les filaments sont parfois plus gros et donnent naissance à une couronne de blastospores qui se rencontrent aussi sur la partie moyenne des articles (fig. 3 et pl. VII, fig. 1).

Sur carotte, le développement s'effectue bien et présente les mêmes caractères généraux que dans les cultures sur les autres milieux solides. Il n'y a pas formation de filaments, ni d'endospores.

Milieu de Gorodkowa. — Même développement que sur moût de bière solide. On ne voit ni filaments, ni endospores.

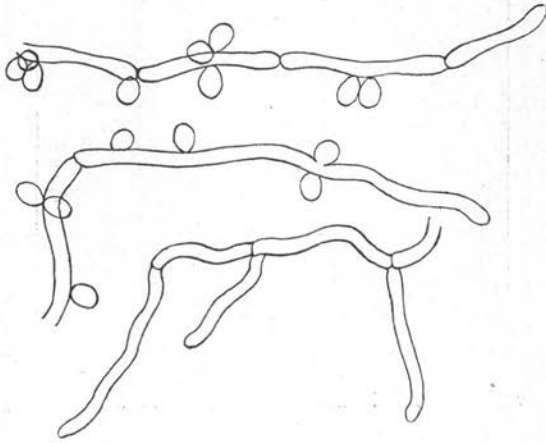


FIG. 3. — Filaments ramifiés et blastospores en eau de pomme de terre.

Bloc de plâtre. — On observe parfois des éléments à membrane épaissie et d'autres comme vidés de leur contenu protoplasmique. La levure ne forme sur ce milieu ni endospores, ni filaments.

Propriétés biologiques

Moût de bière gélatiné. — Cette levure sécrète un ferment protéolytique capable de liquéfier la gélatine. Ensemencée par piqûre dans ce milieu, elle se développe en forme de tête de clou, c'est-à-dire à la surface et tout au long de la piqûre où il y a formation de colonies arborescentes. On voit parfois, en dessous du développement superficiel, une grosse bulle d'air produite par la fermentation du milieu.

Lait tournesolé. — Il y a coagulation et acidification du lait, au bout de trois jours, à 37°.

Production d'indol. — La levure ne produit pas d'indol dans le bouillon glycosé (procédé d'Ehrlich-Goré, 1921).

Production de SH². — Cette levure ne donne pas de SH² dans le bouillon glycosé sur lequel on a suspendu une bandelette de papier de filtre imbibé d'une solution de sous-acétate de plomb.

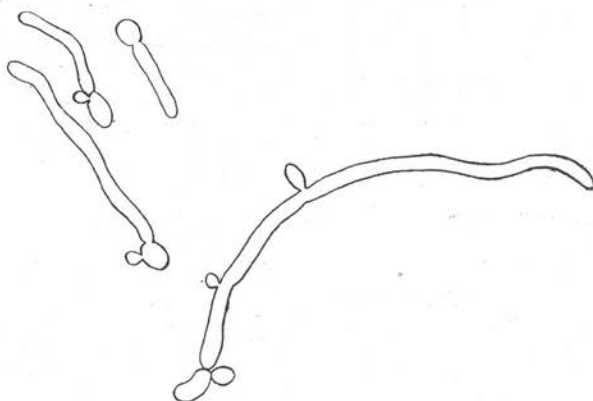


FIG. 4. — Germination des blastospores dans l'eau de pomme de terre.

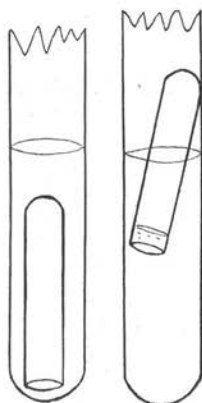


FIG. 5. — Tubes de Besson, employés pour l'étude des fermentations.

Pouvoir réducteur. — Elle ne réduit pas une solution faible de bleu de méthylène ajoutée à l'eau de levure maltosée.

Action sur les sucres. — J'ai employé, pour cet essai, les tubes de Besson avec 10 cm³ d'eau de levures et 1 gr. environ du sucre à étudier (fig. 5).

Ayant fait deux séries d'expériences : une en stérilisant l'ensemble à 115° pendant 10 minutes et l'autre en ajoutant les sucres au milieu préalablement stérilisé, afin d'éviter l'hydrolyse, j'ai obtenu exactement les mêmes résultats. En effet, les sucres ne s'hydrolysent pas dans l'eau de levure qui est presque neutre et la température de 115° pendant 10 minutes est moins dangereuse pour eux que la stérilisation à 100° plusieurs fois répétée.

Je préfère donc employer, pour l'étude des fermentations, les tubes de Besson stérilisés à 115° pendant 10 minutes avec les sucres, procédé plus sûr au point de vue aseptique que celui des petites fermentations de Lindner.

Cette levure acidifie et fait fermenter le glycose, le maltose et le lévulose, mais reste sans action sur l'inuline, le lactose, le manite, le raffinose, le saccharose et le xylose. Elle rend acide le galactose (le pH descend de 6,10 à 5,20), sans le faire fermenter.

Les observations ont été faites au bout de 24 h. et de 48 h. à 37°.

Action sur l'amidon. — En ensemençant la levure en tube de Besson contenant de l'amidon soluble, on aperçoit, déjà au bout de 24 h. à 37°, une intense production de gaz, accentuée dans les jours suivants. Si on fait bouillir quelques centimètres cubes de ce milieu de culture en fermentation avec la liqueur de Fehling, on constate la réduction de celui-ci. Il y a donc hydrolyse de l'amidon.

Températures optima et limites pour le bourgeonnement

La température optima pour le développement de cette espèce semble être aux environs de 37° c. La température minima pour le bourgeonnement est de 15° et la maxima de 44° environ.

Etude cytologique

Système vacuolaire : les blastospores ont une vacuole ronde et presque toujours centrale. Dans les filaments, les vacuoles sont allongées dans le sens de l'axe. Une solution faible de rouge neutre fait précipiter la métachromatine à l'intérieur des vacuoles ; celle-ci se redissout ensuite en donnant à la vacuole une teinte rouge.

Les graisses sont disposées en petits globules autour des vacuoles.

Le glycogène. — Les blastospores et les filaments, développés dans des milieux sucrés, sont remplis de glycogène dans les espaces laissés libres par les vacuoles.

Le chondriome n'offre rien de spécial (fig. 6, c). Il consiste en chondriocotes flexueux et parfois ramifiés. Dans les blastospores, il semble présenter une disposition radiée autour du noyau.

Noyaux. — On n'observe qu'un seul noyau dans les blastospores et aussi d'une manière générale, dans les articles des filaments.

Les noyaux sont pourvus d'un nucléole et parfois on arrive aussi à voir un réseau chromatique dans leur intérieur. La mem-

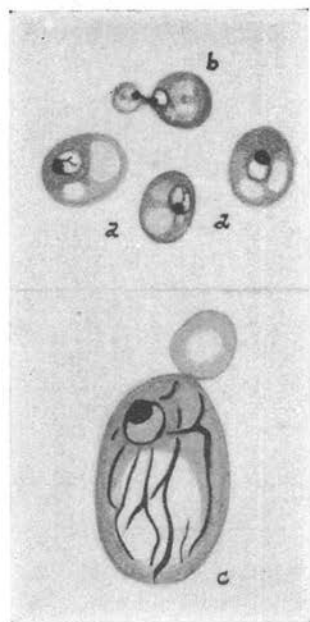


FIG. 6. — Cytologie de la levure de Ravaut : a, noyau ; b, division directe du noyau au niveau d'un bourgeon ; c, chondriome.

brane nucléaire est très apparente dans les éléments colorés après fixation au Flemming. Les noyaux se multiplient par division directe, au niveau des bourgeons et dans les articles des filaments (fig. 6, a et b).

Position systématique

Cette levure se présente dans presque tous les milieux sous la forme de blastospores. Elle ne produit pas d'endospores sur les milieux classiques employés pour la sporulation des levures.

Par ces caractères, on serait tenté de la classer dans le genre *Cryptococcus* ; mais en l'ensemencant dans l'eau de pommes de terre, d'après la technique proposée par Talice, elle forme de vrais filaments ramifiés et cloisonnés. On observe aussi ceux-ci dans presque tous les tubes avec eau de levure additionnée d'un sucre, employés pour l'étude des fermentations. Par suite de cette production de vrais filaments, cette levure présente les caractères des *Monilia*.

Elle fait fermenter le glycose, le maltose et lévulose et rend acide le galactose. Elle acidifie et fait coaguler le lait tournesolé et finalement elle liquéfie le moût de bière gélatiné.

L'ensemble de ces caractères de culture et de ces propriétés biologiques s'accordent exactement avec ceux du *Monilia albicans* (Ch. Robin, 1853), agent du muguet.

Pour vérifier cette détermination, j'ai étudié la levure comparativement avec un *Monilia albicans* conservé à l'Institut d'Hygiène de Montevideo. Cette dernière levure présente absolument les mêmes caractères morphologiques et les mêmes réactions biologiques que la levure « Ravaut ».

Il restait pourtant à obtenir la reproduction expérimentale du muguet à partir de notre champignon et ensuite la culture du champignon à partir des lésions provoquées.

J'y ai réussi, en prenant comme animaux d'expérience, des petits lapins d'une semaine, allaités par leur mère. Voici les résultats :

Reproduction expérimentale du muguet

J'ai fait cette étude pendant l'hiver à Buenos-Aires, où la température tombe parfois en-dessous de zéro.

J'ai fait en même temps trois séries d'expériences suivant le procédé précédemment employé par Okabe :

1^{re} série. — 4 petits lapins d'environ une semaine, allaités par leur mère. Deux (marqués en rouge) ont été inoculés chaque jour dans la cavité buccale avec 3-4 gouttes d'une suspension dans 8 cc. d'eau physiologique d'une culture de levure « Ravaut » de 48 h. sur moût de bière gélosé en tube de 18 mm. de diamètre.

La durée de l'expérience a été de 6 jours en renouvelant, pendant ce temps, trois fois les cultures.

Les deux autres lapins n'ont pas reçu de levures et restaient comme témoins.

2^e série. — 5 petits lapins d'une semaine, dont 2 (marqués en rouge) ont été inoculés avec une suspension de *Monilia albicans* en employant le même procédé que dans la première série. Les trois autres n'ont pas été inoculés (témoins).

3^e série. — 4 petits lapins d'une semaine environ. Deux (marqués en bleu) ont été inoculés chaque jour, pendant 6 jours, avec 3-4 gouttes d'une suspension de culture de *Saccharomyces annulatus*, suivant le même procédé général. Les deux restants ont été témoins.

Les lapins de chaque série ont été conservés dans des cages séparées, à l'abri des mouches.

Résultats. — Au 7^e jour, j'ai sacrifié tous les lapins et j'ai obtenu les résultats suivants :

1^{re} série. — Un des lapins inoculés avec la levure « Ravaut » présentait, dans la partie antérieure de la langue, une tache blanche, très adhérente. En examinant au microscope le produit du raclage, on a vu des filaments et des blastospores de *Monilia*.

A l'examen de l'œsophage, après l'avoir coupé suivant sa longueur, j'ai pu constater l'existence de petites colonies grisâtres spécialement dans la région terminale, près du cardia. L'observation microscopique du produit obtenu par raclage de la surface m'a permis d'observer la présence de nombreux filaments ramifiés et de blastospores.

Rien de particulier dans le reste du tube digestif (macro et microscopiquement), ni dans les autres organes.

L'autre lapin inoculé présentait une broncho-pneumonie double avec épanchement pleural purulent (maladie intercurrente). J'ai observé, tout le long de l'œsophage, mais spécialement dans sa portion terminale, des élévations blanchâtres plus petites que la tête d'une épingle. Les frottis de la surface de cet organe, examinés au microscope, montraient des filaments de *Monilia*.

Aucun champignon n'a été observé dans les produits de raclage de la surface libre des diverses portions de l'intestin. Rien dans les autres organes.

Les animaux témoins étaient parfaitement normaux. Aucun champignon a été vu dans les frottis faits par raclage de la surface de l'œsophage.

Histologie des lésions. — Il y a formation de micro-abcès (pl. VII, fig. 2) dans l'épaisseur de l'épithélium, au niveau des lésions œsophagiennes. Dans l'intérieur de certains micro-abcès et dans la

couche de cellules aplaties situées sur ceux-ci, on observe des filaments et des blastospores. Au-dessous des micro-abcès, dans le chorion, il y a une infiltration formée par des cellules polynucléaires et quelques mononucléaires. Je crois que les toutes petites colonies qu'on voyait avec la loupe correspondaient à des micro-abcès.

En ensemençant le matériel prélevé sur ces lésions, j'ai obtenu le même *Monilia*.

2^e série. — Un des lapins inoculés avec le *Monilia albicans* présentait sur la partie antérieure de la langue deux taches blanches, grosses comme la tête d'une épingle et très adhérentes. En examinant au microscope le matériel pris par raclage au niveau de ces taches, j'ai constaté la présence de filaments et de blastospores. Il existait, dans l'œsophage, spécialement près du cardia, de petites colonies grisâtres. Rien dans le reste du tube digestif. L'autre lapin inoculé présentait seulement des lésions œsophagiennes.

La rétroculture, à partir du matériel prélevé sur les lésions, a été positive.

Les coupes histologiques ont montré exactement les mêmes lésions œsophagiennes que dans la série de lapins précédente.

Les lapins témoins ne présentaient rien d'anormal.

3^e série. — Les deux lapins de cette série ont été inoculés avec une autre levure pathogène pour l'homme, le *Saccharomyces annulatus*. Un est mort au cours de l'inoculation, par suite d'une pneumonie due au produit inoculé. A l'autopsie, il ne montrait rien d'anormal dans son tube digestif. L'autre lapin, inoculé et sacrifié au 7^e jour, ne présentait non plus aucune lésion de l'appareil digestif.

Les lapins témoins étaient absolument normaux. Les frottis faits avec le matériel pris par raclage de la surface libre des diverses régions du tube digestif de tous les lapins, n'ont pas permis de découvrir l'existence de la levure inoculée.

EXPLICATION DE LA PLANCHE VII

FIG. 1 — Filaments et blastopores développés en eau de pomme de terre (microphotographie du Dr Mosto).

FIG. 2. — Lésions œsophagiennes des lapins inoculés avec la levure de Ravaut. En a, microabcès dans l'épaisseur de l'épithélium.

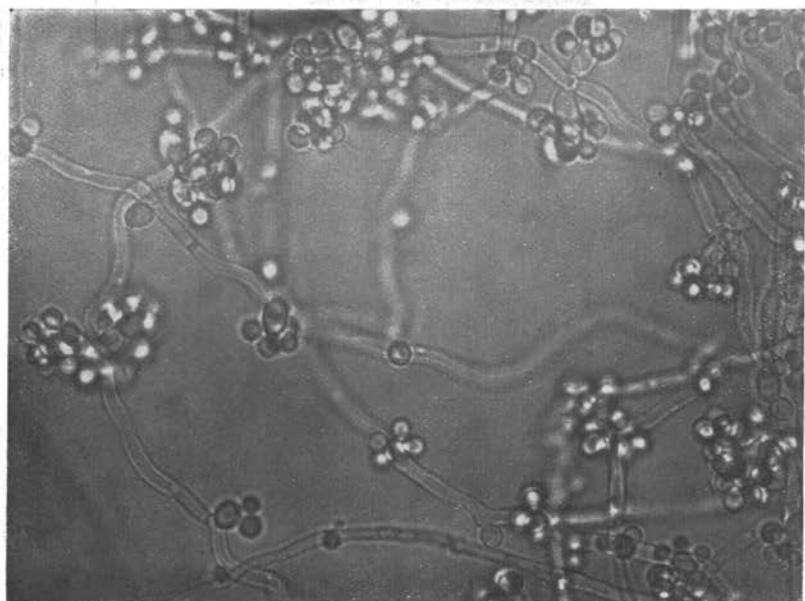


FIG. 1

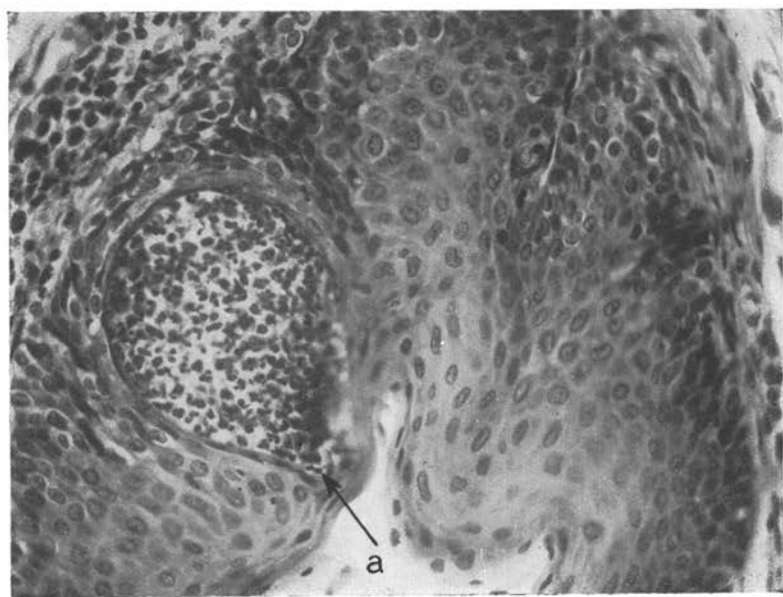


FIG. 2

En résumé, seul le *Monilia albicans* est capable de produire, au niveau de la langue et de l'œsophage des lapins, des altérations pathologiques semblables au muguet.

Je crois donc, avec cette étude, être arrivé à démontrer que la levure « Ravaut » est identique au *Monilia albicans* (Ch. Robin, (1853), agent du muguet.

BIBLIOGRAPHIE

- OKABE (Y.). — Studien über den Soorpilze. *Centrabll. f. Bakt. I. Abt., Orig.*, CXI, 1929, p. 181-194, 5 pl.

Institut de bactériologie de Buenos-Aires.
