REVUE CRITIQUE

VALEUR ET NATURE DES VARIATIONS ET DISSOCIATIONS DE COLONIES CHEZ LES CHAMPIGNONS LEVURIFORMES

Par Maurice LANGERON et Paul GUERRA

I. — HISTORIQUE

Les phénomènes, dits de « *dissociation* », ont surtout été observés dans les colonies bactériennes : entrevus par Naegeli dès 1877, c'est Arkwright qui, le premier, en 1921, en fit une étude complète et distingua des *colonies lisses* (smooth ou colonies S) et des *colonies rugueuses* (rough ou colonies R). Ces premières observations, appelées à un si grand retentissement, ont été faites sur des cultures de bacilles typhiques et paratyphiques, mais elles n'ont pas tardé à être reproduites avec diverses bactéries, pathogènes ou non, principalement avec le bacille tuberculeux. G. Petragnani (1932) et P. Hadley (1937) ont publié des revues alors très complètes de cette question. Ces variations n'ont pas seulement une importance morphologique ; elles paraissent, au moins pour les bactéries, retentir sur les propriétés biologiques des souches qui présentent ces variations.

Les mêmes phénomènes sont connus chez les levures et champignons levuriformes. De nombreux travaux ont déjà été publiés à ce sujet. Citons, par exemple, Punkari et Henrici (1933), Fabian et McCullough (1934), Negroni (1935 et 1936), Mackinnon (1936), Verona (1936), Kurotchkin (1936), Pinkerton (1937), Besta (1938), Cavallero (1938), Redaelli (1939). L'importante revue publiée par Cavallero est si complète que nous jugeons inutile de reproduire encore une fois, tout au long, l'historique des dissociations bactériennes ou mycosiques.

En ce qui concerne les champignons levuriformes, les travaux

récents que nous venons de citer renferment en général beaucoup plus de mots que de faits. C'est intéressant en ce sens qu'on connaît ainsi la conception plus ou moins claire et plus souvent confuse que chaque auteur se fait de la question. Tout le monde constate que les levures donnent des colonies lisses ou rugueuses, plus ou moins facilement réversibles de l'un à l'autre type : on a beau mettre en jeu la sérologie, invoquer des variations de virulence ou d'agglutination, on n'arrive pas à sortir de données banales qui n'apprennent rien de nouveau.

On sait depuis bien longtemps que les spores, quel que soit leur type, sont plus virulentes que le mycélium, et cela pour tous les groupes de champignons et pas seulement pour les levures (1). Cela tombe d'ailleurs sous le sens, une spore ayant une densité cytoplasmique très supérieure à celle d'un article mycélien. Le phénomène de *condensation cytoplasmique* paraît très général pour toutes les spores qui se forment sans acte sexuel précédé de méiose. Cette condensation paraît remplacer la rénovation nucléaire produite par la fusion des gamètes ; elle est portée à son maximum dans la chlamydospore et dans son diminutif, l'aleurie ; elle précède la formation des spores lorsqu'il existe une protochlamydospore ou une phialide. Rien donc d'étonnant à ce que le potentiel pathogène des spores soit beaucoup plus élevé que celui du mycélium, donc que les colonies lisses soient plus pathogènes que les colonies rugueuses (2).

II. — PHÉNOMÈNES MACROSCOPIQUES DE LA DISSOCIATION

La découverte de la dissociation des cultures de levures appartient sans conteste à Teissier qui, en 1897, décrit, avec une précision qui ne laisse aucun doute, les variantes S et R des cultures du champignon du muguet (3). Teissier préparait ses milieux de culture en ajoutant à 20 cm³ de gélose nutritive stérile I ou II gouttes

(1) Par exemple J. LEBASQUE insiste sur la grande virulence des aleuries des *Trichophyton* mégasporés des bovidés (*Les champignons des teignes du cheval et des bovidés*, Thèse doctorat sc. nat. Paris, 1933, 132 p., 8 pl., cf. p. 104-105, et ces *Annales*, XII, 1934, p. 440-441).

(2) Roux et Linossier (1890) avaient déjà remarqué que : « Ces filaments (le pseudomycelium) sont à coup sûr moins résistants que les formes levures, car, si l'on sème dans un liquide nutritif neuf la forme globulo-filamenteuse, ils disparaissent rapidement et la végétation nouvelle du champignon se fait toujours aux dépens des globules. » C'est aussi déjà la preuve de la réversibilité de R à S.

(3) Roux et Linossier, Linossier et Roux avaient employé presque exclusivement des milieux liquides au cours de leurs mémorables recherches sur *C. albicans*. C'est pourquoi ils n'ont pu observer les faits mis ensuite en lumière par Teissier.

d'acide lactique, acétique ou formique au dixième, de potasse ou de soude au millième, de bicarbonate de sodium à 5 p. 100 ou d'ammoniaque. Comme indicateur, il y joignait quelques gouttes de teinture de tournesol.

Le mieux est de reproduire le texte original de Teissier, qui n'a pas besoin de commentaires ; les parties en italiques le sont aussi dans l'original.

« Sur milieux acides comme sur milieux alcalins, les cultures se développaient avec une abondance et une rapidité égales, sauf toutefois à la température de 18° où les cultures sur milieux alcalins étaient certainement moins abondantes ; l'odeur dégagée par ces cultures était un peu différente, plus prononcée et plus vireuse pour les tubes alcalins. Mais ce qui frappait tout d'abord, c'était l'aspect essentiellement différent des deux variétés de cultures, si peu comparables entre elles, qu'il semblait difficile d'admettre l'identité de leur origine.

« La culture sur gélose acide débutant parfois par quelques colonies disséminées, formait le long du trait de semence une *nappe rapidement conflente, d'un blanc légèrement grisâtre ou rosé, crèmeuse, lisse, unie et humide. Nullement adhérente à la gélose* dont elle pouvait facilement se détacher au moyen du fil de platine, elle s'étirait légèrement, sans être à proprement parler visqueuse.

« L'ensemencement sur gélose alcaline donnait rapidement naissance à un *enduit continu, surmonté dès le principe de saillies verruqueuses, puis rapidement de plis nombreux, offrant un aspect membraniforme, chagriné, tomenteux, qui rappelait les cultures de tuberculose humaine*, bien que moins verruqueux et plus plissé que celles-ci. Très cohérente et difficile à étaler sur la lamelle, la culture était *très adhérente* à la surface de la gélose, en raison de la pénétration de filaments dans la profondeur de cette gélose en une sorte de chevelu analogue au chevelu des moisissures.

« Mais alors que la culture sur gélose alcaline, *constamment bleue*, gardait le même aspect ; la culture sur gélose acidifiée par l'acide acétique, l'acide formique ou l'acide lactique se modifiait au bout de vingt-quatre heures ou de quarante-huit heures. En certains points la coloration *rouge* devenait vineuse, puis se transformait franchement en *bleu*, et rapidement l'aspect de la culture se modifiait, la couche lisse et humide faisait place successivement à des soulèvements d'abord verruqueux, puis plissés, recroquevillés, qui ne tardaient pas à se réunir et à recouvrir toute la surface de la gélose. Cette transformation du milieu et de la culture ne s'observait pas sur les tubes de gélose acidifiée par l'acide sulfurique ; elle s'observait tardivement avec l'acide chlorhydrique, très rapidement avec l'acide acétique (dans les vingt-quatre heures). Les cultures additionnées d'acide formique se décoloraient même complètement au bout de quelques jours. Ce plissement secondaire de

la culture n'était jamais, il est vrai, aussi prononcé que dans les cultures alcalines d'emblée.

« Or ces différents aspects de culture correspondaient à des différences non moins précises de la forme du champignon du muguet.

« Sur gélose acide, tant que la réaction restait la même, on ne trouvait exclusivement que la forme levure normale ou devenue kystique ; dès que la culture devenait alcaline, des filaments courts puis longs apparaissaient au niveau des parties plissées. Sur gélose alcaline la forme filamenteuse était très prédominante mais non exclusive, quelques levures paraissaient se développer.

« L'aspect lisse, humide des cultures sur milieux acides ressortait donc à la forme levure ; la forme filamenteuse répondait à l'aspect plissé des cultures sur milieux alcalins. »

En résumé, Teissier a établi que ces modifications morphologiques des colonies sont étroitement liées à la réaction des milieux (1), qu'elles durent autant qu'elle et disparaissent aussitôt que le champignon est transplanté, qu'elles sont donc réversibles.

En effet, le passage sur gélose alcaline du champignon cultivé sur gélose acide, même après des ensemencements en série, donne la forme filamenteuse. Inversement, le passage sur gélose acide du champignon cultivé en série sur gélose alcaline, donne la forme levure exclusive.

L'alcalinisation spontanée de la gélose acide était due à la formation de carbonate d'ammonium, sel favorisant la filamentisation, comme l'avaient montré Linossier et Roux.

Cette action favorisante des alcalins semble en contradiction formelle avec le fait clinique bien connu de l'action inhibitrice des mêmes substances sur le développement du muguet chez l'homme. Cette contradiction a depuis longtemps attiré l'attention des biologistes : il semble que Kehrer (1883) ait été le premier à reconnaître que les substances employées pour combattre le champignon du muguet sont aussi celles qui favorisent son développement dans les cultures. Linossier et Roux (1890, p. 16-17) sont arrivés à la même conclusion et ont fourni l'explication bio-chimique de ce fait en apparence paradoxal : les alcalins arrêtent le muguet parce qu'ils empêchent, chez l'enfant, le dédoublement du lactose (2) par la salive en glycose et galactose et, chez

(1) Cette influence de la réaction du milieu a été redécouverte, en ce qui concerne les colonies de bacille tuberculeux, notamment par C.-K. Smithburn (1935-1937, cf. *Amer. rev. tuberculosis*, XXXV, 1937, p. 657-659 ; *Jl. exper. med.*, LXI, 1935, p. 395 ; LXII, 1935, p. 645 ; LXIII, 1936, p. 95), puis par M. Nasta et I. Lupascu, *C.R. Soc. biol.*, CXXIX, 1938, p. 1008-1010.

(2) Linossier et Roux paraissent avoir remarqué, les premiers, que *C. albicans* ne fait pas fermenter le lactose.

l'adulte, le dédoublement de l'amidon en dextrine et glycose, ce qui prive le champignon de son aliment essentiel et empêche son développement.

Les recherches de Teissier ont passé à peu près inaperçues. A l'époque où elles ont paru, elles n'ont pas été comprises : elles arrivaient trop tôt. Plus tard, elles ont été méconnues ou négligées ; c'est tout au plus si on les cite, vraisemblablement sans les avoir lues. Nous-mêmes n'en avons compris l'intérêt qu'après avoir observé le phénomène.

En effet, au cours des milliers de cultures macroscopiques et microscopiques que nous avons effectuées, nous avons rencontré fréquemment des phénomènes de cet ordre et nous avons essayé à notre tour d'en étudier la marche et les conditions d'apparition.

III. — PHÉNOMÈNES MICROSCOPIQUES DE LA DISSOCIATION

Si l'on parcourt les travaux publiés à partir de 1933 sur cette question, il apparaît que l'étude des phénomènes microscopiques de la dissociation des levures a été à peine ébauchée. Ce fait est dû en grande partie à l'emploi de procédés imparfaits de cultures sur lames ou lamelles (procédé de Fortner, très inférieur à celui de Rivalier et Seydel). En outre, *C. albicans* est la seule espèce qui ait été étudiée, les phénomènes si caractéristiques présentés par *C. tropicalis* ayant été totalement méconnus.

Par exemple, Negroni (1936) a obtenu, avec la variante R de sa souche de *Candida albicans*, des appareils verticillés avec chaînettes, à morphologie du type *Candida* (*sensu* Langeron et Talice), mais il n'attribue pas à cette modification de la morphologie microscopique le changement survenu dans la colonie géante.

Mackinnon (1936) a fait une étude plus approfondie du type membraneux ; il en conclut qu'il est dû à l'abondance des coremium et au remplacement des verticilles de blastospores par des verticilles de filaments. Il a vu aussi que la proportion entre les blastospores et les filaments est extrêmement variable.

Tout cela avait déjà été décrit en 1932 par Langeron et Talice : il est évident que l'accumulation des blastospores rondes et libres donne aux colonies leur consistance et leur aspect crémeux, tandis que la prédominance des filaments correspond à l'aspect membraneux et plissé.

Pourtant, l'étude de nos cultures sur lames nous a montré que les choses ne sont pas aussi simples. Cette explication ne rend pas

compte de l'apparition de colonies R, d'aspect membraneux et plissé, chez certains *Rhodotorula*, levures absolument dépourvues d'appareil filamenteux.

En outre, la morphologie du *Candida albicans* est extrêmement polymorphe (espèce protéiforme, comme l'écrit très bien Mackinnon). Aussi les figures publiées par les deux auteurs cités ci-dessus ne représentent-elles qu'un des nombreux aspects que peut prendre ce champignon.

C'est donc encore aux travaux du XIX^e siècle qu'il faut avoir recours pour trouver les premiers indices et même la description complète du mécanisme microscopique de la dissociation. Sans parler de Ch. Robin (1853) et de Quinquaud (1868), Plaut (1885) semble être le premier qui ait distingué nettement, dans les cultures, la forme levure du champignon du muguet et la forme mycélienne, l'apparition de cette dernière étant favorisée par les températures élevées.

Mais c'est dans le mémoire de Roux et Linossier (1890, p. 13) qu'on trouve une description remarquable du mode spécial de filamentisation qui caractérise la dissociation des colonies de levures. En effet, ces auteurs ont noté la présence de *chainettes* plus ou moins longues et de véritables bouquets de levures, ramifiés dans tous les sens et pouvant atteindre des dimensions considérables (ceci est la filamentisation verticillée décrite par Langeron et Talice en 1932 et maintenant admise par tous les auteurs). Roux et Linossier ajoutent :

« Les cellules constituant ces bouquets s'agrandissent lorsque les circonstances sont favorables et il n'est pas rare de rencontrer des amas ramifiés, dans lesquels *certaines globules ont une tendance à devenir filamenteux* (1), de sorte qu'il est possible d'observer tous les intermédiaires et une foule de passages entre la forme levure pure et la forme globulo-filamenteuse.

« ...L'apparition des filaments aux dépens des cellules de levure a lieu par deux procédés bien distincts, figurés par Ch. Robin et par Quinquaud, mais interprétés par eux de façon erronée. Tantôt un petit bourgeon apparaît sur un point d'un globule de levure et se sépare nettement de lui dès sa naissance par une cloison manifeste ; au lieu de rester rond ou légèrement ovoïde, il s'allonge rapidement et devient un article filamenteux susceptible d'en produire d'autres par un mécanisme semblable (2) ; tantôt la cellule de levure initiale pousse un prolongement

(1) Non en italiques dans l'original.

(2) C'est la filamentisation normale, décrite par Langeron et Talice (1932), donnant le *pseudomycelium*.

en doigt de gant (1) dont le protoplasma se continue directement avec celui du globule primitif et ne s'en sépare par une cloison que lorsque le filament est devenu très long et parfois même jamais (2). On croirait dans ce dernier cas assister bien véritablement à la germination d'une spore et il n'est pas étonnant que Robin et un grand nombre d'auteurs s'y soient trompés. Comme avec la même semence ces processus différents de *filamentisation* (3) se produisent suivant la nature du milieu nutritif, nous pensons qu'il ne s'agit ici que d'une simple variation dans le mode de bourgeonnement et nullement dans le second cas d'un acte de reproduction par *spore exogène* (3), c'est-à-dire par véritable *conidie* (3)... »

Ces phénomènes si curieux paraissent avoir totalement échappé à tous ceux qui ont étudié ensuite les champignons levuriformes, principalement à cause de leur technique défectueuse. Les cultures en stries sur gélose inclinée sont très inférieures à nos colonies géantes en tubes pour montrer l'aspect réel des colonies totalement ou partiellement crémeuses et membraneuses (4). D'autre part, la méthode d'examen microscopique par prélèvement au fil et étalement sur lame ne montre, comme nous l'avons dit bien souvent, que des débris dissociés. Lorsque la prise est transportée avec précaution dans une goutte de Lugol, on peut encore voir beaucoup de détails qui sont détruits en général dans une préparation séchée, flambée et colorée.

Il est certain que si Roux et Linossier avaient donné de bonnes figures des organes qu'ils ont si bien décrits, l'attention aurait été attirée et on aurait cherché à revoir les mêmes aspects. Cela est si vrai que c'est seulement après avoir retrouvé indépendamment ces modes de filamentisation que nous avons enfin compris toute la

(1) Roux et Linossier ont aussi observé sur carotte ce mode si particulier de filamentisation : « C'est dans ce cas surtout qu'il est facile d'observer des cellules poussant des prolongements en doigt de gant dont le protoplasma communie largement avec leur cavité propre, sans cloison interposée. »

(2) Comme chez *Candida tropicalis* (Langeron et Guerra, 1938, p. 460, pl. XIX, fig. 2 et pl. XX, fig. 1), nous trouvons ici la première description de la *blastèse*, parfaitement étudiée par Roux et Linossier.

(3) En italiques dans l'original.

(4) Le même reproche peut être adressé aux bactériologistes qui ont étudié la dissociation du bacille tuberculeux. Ainsi Saenz et Costil ont publié dans la *Presse médicale* (n° 92, 17 novembre 1934) des séries de photographies de colonies R et S qui sont bien loin d'être démonstratives.

C'est au point qu'en examinant les n°s 2, 3 et 4 de la fig. 1 et les n°s 5, 6, 7 de la fig. 2, qui devraient représenter le type S, on se demande si ces bacilles tuberculeux peuvent réellement donner de véritables colonies lisses. Quant aux n°s 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12 de la fig. 1 et 1, 2, 3, 4, 8 de la fig. 2, ce sont des étalements confus dans lesquels on ne peut séparer les aspects du type R de ceux du type S.

valeur et toute l'importance du texte que nous venons de citer plus haut *in extenso*.

La méthode des cultures sur lames gélosées, très supérieure à tous les procédés analogues, a enfin permis de voir nettement et commodément ces phénomènes de filamentisation et d'en conserver des préparations d'une durée indéfinie. C'est grâce à cette méthode que nous pouvons confirmer et même compléter les travaux si remarquables de ces deux savants.

IV. — RECHERCHES PERSONNELLES

Dès que nous nous sommes intéressés à l'alternance des phases crémeuse et membraneuse chez les *Candida*, nous avons remarqué l'analogie qui existe entre la dissociation des colonies bactériennes et celle des colonies de levures. De part et d'autre, les colonies lisses (crémeuses) sont formées d'éléments séparés, indépendants, pouvant rouler les uns sur les autres comme des billes et même couler sur la couche inclinée de gélose, tandis que dans les colonies rugueuses (membraneuses), les éléments néoformés ne se séparent pas des cellules-mères, mais restent attachés bout à bout, pour former des chaînettes ou même des filaments plus ou moins allongés.

L'essence des colonies lisses est d'être une crème de globules séparés, tandis que les colonies rugueuses sont des colonies filamenteuses (1).

Les *Candida* constituent donc un matériel très favorable pour l'étude de la dissociation, puisque ces champignons, bien plus faciles à observer que les bactéries, peuvent végéter, soit sous la forme levure, libre, soit sous la forme filamenteuse, et que leurs filaments peuvent même s'agglutiner en mèches ou coremiums, élément essentiel des colonies membraneuses.

C'est justement ce qui avait frappé Langeron et Talice au cours de leurs recherches et c'est pourquoi, sans penser aux phénomènes de dissociation, dont les mycologues ne s'occupaient pas encore à cette époque (1928-1931), ils avaient attaché une si grande importance à la distinction entre colonies crémeuses et colonies membraneuses. Ils en avaient même fait le critère fondamental de leur classification, ce en quoi ils s'étaient trompés.

(1) Pour les bactéries en bâtonnets, les colonies S sont formées de bâtonnets normaux, courts, isolés, tandis que les colonies R sont constituées par de longs filaments, formés des mêmes bâtonnets attachés les uns aux autres par leurs extrémités. Voir, par exemple, M. H. SOULE: Microbic dissociation. I. *Bacillus subtilis*. *Jl. infect. dis.*, XLII, 1928, p. 93-148, 5 pl. (cf. pl. II, fig. 6 et 7).

Cette erreur était inévitable avec les procédés de recherche imparfaits dont ils disposaient à cette époque : colonies macroscopiques en stries et cultures microscopiques en goutte pendante.

Lorsque nous avons voulu réétudier les genres de Langeron et Talice au moyen de la méthode des lames gélées et des colonies géantes en tubes par ensemencement punctiforme, nous n'avons pas tardé à nous apercevoir qu'une même espèce pouvait donner successivement des colonies crémeuses et des colonies membraneuses, ou encore que ces deux types pouvaient coexister normalement dans une même colonie, par exemple dans celles de *Candida tropicalis*.

La question passait donc du point de vue systématique, qui se trouvait éliminé, au point de vue biologique. Car il était évident que nos colonies crémeuses correspondaient au type lisse des bactériologistes et nos colonies membraneuses au type rugueux. Il ne s'agissait plus d'un caractère morphologique fixe, permettant des coupures systématiques, mais d'un phénomène biologique de dissociation microbienne.

Il restait à étudier le mécanisme morphologique microscopique de ces variations et de leur alternance et à déterminer si elles étaient réversibles. On saisit tout de suite l'importance de cette réversibilité : si elle existe, si les colonies devenues rugueuses ou membraneuses reprennent par simple repiquage leur aspect lisse primitif, il n'y a pas dissociation à proprement parler, c'est-à-dire séparation de deux éléments, l'un globuleux, l'autre filamenteux, qui peuvent continuer à vivre séparément et qui manifestent des propriétés différentes.

C'est donc pour nous toute la question de la dissociation qui est en jeu. Nous allons demander à l'étude des *Candida* si, pour les levures, c'est un phénomène réel ou si c'est simplement une vue de l'esprit, basée sur des apparences morphologiques trompeuses.

De l'examen de très nombreuses lames, nous arrivons à conclure que, dans l'ensemble, les colonies membraneuses de *Candida* se distinguent des colonies crémeuses par les caractères suivants :

1° *dimension* plus considérable du pseudo-mycélium et des blastospores ;

2° *prédominance* des filaments sur les blastospores. Ce caractère n'est toutefois pas suffisant car nous voyons des *Candida* à facies *Mycocandida*, c'est-à-dire avec des verticilles de blastospores très réduits portés par un appareil filamenteux très développé (*C. pelliculosa*, *C. parakrusei*), donner toujours des colonies crémeuses, lisses, sans tendance au plissement ;

3° *substitution*, aux verticilles de *blastospores acrogènes*, c'est-à-dire naissant à l'apex des articles, de *pseudo-conidies pleurogènes* naissant sur un point quelconque de la longueur d'un article. Ces pseudo-conidies peuvent constituer des chaînettes simples ou composées. Ce phénomène est surtout accentué chez *Candida tropicalis* ;

4° *apparition* de filaments *non cloisonnés*, quelquefois très longs, naissant d'une blastospore, d'une pseudo-conidie, ou même d'un article du pseudomycélium (*blastèse*). Ces filaments, formés par germination, sont entièrement distincts du pseudomycélium, toujours issu du bourgeonnement et de l'élongation de blastospores.

Le rôle des pseudo-conidies pleurogènes est un fait nouveau qui, à notre connaissance, n'a pas encore été mentionné au sujet des colonies membraneuses. Langeron et Talice (1932) avaient bien vu et figuré ces pseudo-conidies, surtout chez leurs *Geotrichoides*, mais sans leur attribuer un rôle particulier.

Blastèse. — Nous donnons le nom de blastèse (1) au phénomène de pseudo-germination si bien décrit par Roux et Linossier (1890). C'est cette pseudo-germination des blastospores ou des pseudo-conidies qui donne naissance aux tubes non cloisonnés, caractéristiques des colonies membraneuses. Nous avons retrouvé ce même phénomène chez des souches de *Rhodotorula* à phase plissée et membraneuse (n° 670, 688, 339, 611, 400, 259) ; or, on sait que ces levures roses ne produisent pas de pseudomycélium avec verticilles de blastospores.

V. — EXEMPLES DE BLASTÈSE

1° *Candida suaveolens*. — La blastèse nous est apparue dans toute sa netteté en étudiant la souche (n° 728) que nous avons décrite sous le nom de *Candida suaveolens* (1938, p. 505-508, pl. XXXII, fig. 2 et pl. XXXIII, fig. 1 et 2). Cette souche présente la faculté de passer très rapidement de la phase de colonies crémeuses ou même muqueuses à celle de colonies plissées, membraneuses, sèches, par une transformation très rapide, due à l'intensité de la blastèse.

Les colonies de la *phase crémeuse* peuvent être *mates*, très bombées, grisâtres, ou encore *humides*, lisses, ou enfin *brillantes*, mu-

(1) De βλαστῆσις, germination. La création d'un terme nouveau est nécessaire pour distinguer ce phénomène de la germination proprement dite.

queuses, avec tendance à couler au fond du tube (comme certains *Torulopsis*).

A la phase membraneuse, elles sont sèches, plissées, à plis profonds.

Les aspects de la phase crémeuse varient d'un repiquage à l'autre et sont très polymorphes, mais ce qui est constant, c'est la réversibilité à la phase crémeuse lors du réensemencement et le brusque plissement des colonies crémeuses lorsqu'elles ont atteint un certain développement.

Voici, chez cette espèce, comment se produit la blastèse. On voit (pl. XXX, fig. 1 et 2) une blastospore ordinaire, ne se différenciant en rien des autres, donner naissance à un tube ou filament très mince, susceptible d'un allongement plus ou moins grand, et terminé d'habitude par un petit renflement (1). Ce tube, qui est en général unique chez les *Candida*, peut être multiple chez les *Rhodotorula*.

La fig. 1 (pl. XXX) montre une portion de culture sur lame, dans laquelle on voit des filaments ramifiés en pinceaux très effilés, à rameaux longuement étirés, portant des verticilles de blastospores confluent à la fin. Cette ramification correspond à la phase crémeuse avec colonies humides et bombées.

Au milieu du champ, l'attention est attirée par un arbuscule échelonné, d'aspect très différent. Cet arbuscule est représenté à un plus fort grossissement dans la fig. 2 (pl. XXX) : son allure spéciale est due à d'abondantes blastèses. On voit en effet, dans cette figure, que presque toutes les blastospores ont germé et ont donné naissance à des tubes d'abord fins et droits, puis plus volumineux et flexueux, terminés par un renflement et formant une sorte de cheveu. Nous avons pu saisir ainsi et fixer par la microphotographie le point qui est l'origine d'une colonie filamenteuse, membraneuse et plissée, du type R. Chez *Candida suaveolens*, l'intensité et la rapidité de la blastèse expliquent la brusque transformation des colonies crémeuses en colonies membraneuses.

2° *Candida albicans*. — Nos observations concernant cette espèce sont beaucoup plus étendues que celles de la plupart de nos prédécesseurs. Ainsi Negroni (1935-1936) n'a étudié qu'une seule souche, Mackinnon (1936) cinq souches, Cavallero (1938) dix souches.

(1) Cet aspect avait été vu et figuré par Langeron et Talice (1932, fig. 7, p. 27 et fig. 26, p. 61), dans leur souche n° 493 (*Blastodendron intermedius* Ciferri et Ashford 1929 = *Candida intermedia* (Cif. et Ashford), groupe *tropicatis*), mais sans qu'ils en aient reconnu la signification et le lien avec l'apparition des colonies membraneuses.

Nous avons pu suivre à ce sujet les 113 souches énumérées dans notre mémoire de 1938, ainsi que quelques autres que nous avons reçues ou isolées par la suite. Presque toutes présentent, d'une manière plus ou moins marquée, les variantes membraneuses, souvent très lentes à apparaître et envahissant très progressivement la surface de la colonie géante.

Les exemples sont faciles à trouver, il suffit de suivre les colonies pendant plusieurs mois, ce qui est aisé lorsqu'on a constitué une collection de souches de levures, soumises à des examens et à des repiquages périodiques. En conservant les vieilles cultures, tant qu'elles ne sont ni infectées, ni trop desséchées, on peut avoir constamment sous les yeux les étapes de la phase membraneuse. Cet emploi judicieux de la patience nous a bien mieux réussi que tous les moyens expérimentaux et nous a montré l'inanité de la plupart des conclusions tirées de l'examen de colonies trop jeunes.

Ici se pose la question de la *réversibilité* (1), en même temps que celle de la notion de dissociation. Il est évident que, si les colonies sont facilement réversibles, elles ne sont pas dissociées (2) : il n'y a pas séparation de deux éléments devenus distincts et autonomes, l'un donnant des colonies crèmeuses, l'autre des colonies membraneuses. La transformation de la colonie crèmeuse en colonie membraneuse devient un simple phénomène de sénescence, ou mieux un stade normal d'évolution, et le repiquage doit reconstituer d'emblée la colonie crèmeuse.

S'il en est ainsi, tout ce que l'on a bâti sur ces fameuses dissociations s'effondre comme château de cartes, à la place duquel il reste un phénomène normal et méconnu.

Or, il en est ainsi. La plupart des colonies de *Candida*, au bout de 4 ou 5 mois, sont devenues plus ou moins complètement plissées et membraneuses. Si à ce moment on les repique, on reconstitue d'emblée la colonie crèmeuse qui redeviendra membraneuse en un ou deux trimestres et ainsi de suite. Il y a eu blastèse, il n'y a pas eu dissociation.

Nous extrayons de notre collection photographique quelques documents qui nous ont paru démonstratifs. La pl. XXXII va nous

(1) M. Nasta a signalé la transformation *spontanée in vitro* d'une souche de bacilles tuberculeux de variété R en variété S (*C.R. Soc. biol.*, CXXV, 1937, p. 83-85). Arloing, Thévenot et Viallier ont aussi obtenu la réversibilité spontanée des caractères R et S de bacilles tuberculeux bovins et humains sur milieux solides gélosés (*C.R. Soc. biol.*, CXXIX, 1938, p. 584-586).

(2) G. Petragiani (1932, note infrapaginale, p. 153-154) a précisé le sens du mot dissociation ; il propose avec raison d'employer « variation » pour désigner le phénomène et « dissociation » pour les manipulations sélectives de séparation des variants. C. Cavallero (1939, p. 227, note 2) se rallie à cette manière de voir.

montrer une série de colonies crémeuses issues de la colonie membraneuse correspondante.

1. Souche 43 B. (souche Catanei, *Monilia* du singe), colonie membraneuse repiquée à l'âge de 5 mois et ayant donné la colonie crémeuse très étendue et âgée de 2 mois.

2. Souche 711 A. (souche Catanei, *Monilia* du singe).

3. Souche 447 B. (souche Guerra, Hôp. St-Louis).

4. Souche 335 A. (souche Sézari, Hôp. St-Louis).

5. Souche 332 B. (souche Kara, service Milian, Hôp. St-Louis).

8. Souche 563 B. (*Monilia alvarezsotoi*) (souche Talice et Mackinnon n° 471).

Les cultures des souches 2, 3, 4, 5 sont contemporaines ; les colonies membraneuses avaient 3 mois quand elles ont été repiquées et ont donné des colonies crémeuses ayant 2 mois au moment où elles ont été photographiées.

Chez *Candida albicans*, la blastèse est certainement plus rare et plus lente que chez *C. suaveolens*, ce qui explique la longue durée de l'évolution des colonies membraneuses. Aussi, pour cette espèce, le phénomène est-il plus facile à observer dans les étalements à l'encre de Chine que dans les cultures sur lames, à condition de s'adresser à des colonies suffisamment âgées. La fig. 2 (pl. XXXI) montre une préparation faite avec la partie membraneuse d'une colonie de 8 mois sur gélose glycosée à 2 p. 100 (souche 335 A, D' Sézari, Hôp. St-Louis). Les blastospores en blastèse sont nombreuses et peuvent même simuler des copulations hétérogamiques de *Debaryomyces*.

Nous représentons d'autre part (pl. XXXI, fig. 1 et 3) deux points d'une colonie sur lame de la souche 563 B, sur milieu PC, âgée de 25 jours. On voit, désignées par des croix, quelques blastospores au début de la blastèse et poussant de minces tubes et on notera la présence de nombreuses pseudo-conidies formant manchon, si abondantes en général dans les colonies membraneuses.

Notons enfin que, dans le groupe *albicans*, l'abondance des protochlamydospores et des chlamydospores peut donner à la colonie un aspect tellement typique qu'on serait tenté d'en faire une espèce différente, alors qu'il s'agit simplement d'une phase membraneuse (1).

(1) Sauf pour *Candida stellatoidea* (Jones et Martin 1938) dont les colonies régulièrement plissées sont très différentes des colonies membraneuses (ces *Annales*, XVII, 1939, p. 257-260, pl. XVIII).

3° *Candida triadis*. — Dans notre mémoire de 1938 (p. 453), nous avons écrit n'avoir jamais observé, pour la souche 587 A, de phase membraneuse. Ce n'est plus exact maintenant : la fig. 7 (pl. XXXI) représente une colonie de cette souche devenue membraneuse et plissée. D'autres souches de *triadis* peuvent aussi devenir entièrement plissées et membraneuses, mais la phase est réversible, comme le montre la fig. 6 (pl. XXXII), qui représente une colonie membraneuse de la souche 735 (souche E. Aaser, Oslo, donnant des chlamydospores) ayant donné, après quatre mois, la colonie crémeuse qui présente au centre un début de plissement et deviendra semblable à la colonie-mère plissée.

4° *Candida tropicalis*. — Il n'y a pas à proprement parler de phase membraneuse chez cette espèce, puisqu'elle forme constamment des colonies mixtes, à centre membraneux et à périphérie crémeuse, représentées dans notre précédent mémoire (1938, pl. XVII, fig. 4 et 5) et comme le montre la fig. 5 (pl. XXXI) (colonie de deux mois de la souche 631 A, souche Redaelli, Gadetto II). C'est en somme l'établissement précoce et normal d'un aspect qui se manifeste beaucoup plus tardivement et irrégulièrement chez *C. albicans* (pl. XXXI, fig. 6).

Au cours des repiquages successifs, ces colonies conservent à peu près la même physionomie, avec une constance remarquable pour chaque souche et en général pour les trois colonies géantes d'une même souche, ensemencées suivant notre méthode. Les proportions du centre membraneux et de la périphérie crémeuse, le volume, la profondeur et l'orientation des plis sont d'une fixité frappante, mais ne sont pas toujours synchrones pour des souches différentes (1938, pl. XVII, fig. 5).

L'anneau crémeux peut être réduit à un simple liseré, à peine visible autour des colonies géantes et qui disparaît dans les ensemencements en strie. D'autres fois, c'est le centre membraneux qui est très petit et n'apparaît que tardivement (1938, pl. XVII, fig. 4, colonies du centre de cette figure, souche 677 A, Castellani), au bout d'une quinzaine de jours ; l'ensemencement en strie ne permet pas de le voir.

Les souches 382 B (Dakar), 340 B (Tunisie), 414 (Paris), 630 A et 631 A (*Candida insolita*) étaient au début complètement crémeuses, mais plusieurs d'entre elles, en colonies géantes en tubes, ont développé un centre membraneux typique.

Notons enfin que Castellani (1938) a isolé, des crachats d'un malade, des colonies R et S de *C. tropicalis* : ces deux séries de colo-

nies se sont montrées microscopiquement, biochimiquement et sérologiquement identiques. Malheureusement, les figures données représentent des cultures en stries, de sorte qu'on ne peut apprécier les proportions du dimorphisme.

Chez *Candida tropicalis*, la *blastèse* est un phénomène constant et banal. Un élément quelconque : blastospore, pseudo-conidie ou même article du pseudomycélium, peut germer et donner naissance à un très long filament non cloisonné qui peut s'enrouler à son extrémité (pl. XXXI, fig. 4). C'est la reproduction exacte de ce qui a été si bien décrit par Roux et Linossier (*vide supra*, p. 452-453) chez *Candida albicans*.

La partie membraneuse des colonies est formée par ces longs tubes et par les chaînettes touffues produites par les pseudo-conidies. Par un heureux hasard, la fig. 4 (pl. XXXI) réunit les éléments du début d'une colonie membraneuse, exactement comme pour *C. suaveolens*, la fig. 1 (pl. XXX). La partie inférieure gauche de la figure 4 montre les chaînettes caractéristiques de pseudo-conidies, qu'il ne faut pas confondre avec des blastospores ; au centre et à droite dominant des filaments, les uns cloisonnés et portant quelques pseudo-conidies isolées ou en chaînettes, les autres *non cloisonnés*, très longs et plus ou moins sinueux ou enroulés, *formés par blastèse* et terminés par une dilatation.

5° *Candida brumpti*. — Nous avons déjà dit, dans notre mémoire de 1938 (p. 497), que les colonies de *C. brumpti*, normalement d'un blanc sale, crémeuses, humides, lisses, pouvaient se plisser et prendre un aspect membraneux. Les plis apparaissent vers le 3^e mois, s'accroissent peu à peu et, vers le 9^e mois, la colonie géante est devenue tout à fait membraneuse. Bien entendu, le repiquage sur milieu frais reconstitue immédiatement la colonie du type S.

6° Cas des *Rhodotorula*. — La fig. 7, pl. XXXII, montre une colonie plissée, âgée de 4 mois, du *Rhodotorula mucilaginosa* (Jørgensen) Harrison, var. *pararosea* (Cast.) Lødder (= *Cryptococcus pararoseus* Cast. 1927), souche 670. À côté se trouve la colonie lisse et coulante, obtenue par repiquage de la colonie plissée. Les *Rhodotorula*, bien que ne présentant pas de pseudomycélium avec verticilles de blastospores, peuvent donc donner, soit par bourgeonnement, soit par blastèse, une filamentation suffisante pour produire une phase membraneuse et plissée.

VI. — LE VOILE DANS LA PHASE MEMBRANEUSE

Comme il était facile de le prévoir, la phase membraneuse s'accompagne toujours de la production d'un voile en milieux liquides sucrés (1).

C. tropicalis et *C. suaveolens* présentent le même voile dans les deux cas. Pour *C. albicans*, il existe, comme le signale Mackinnon, un gros anneau membraneux à la phase R. Mais cet anneau peut s'étendre au point de couvrir toute la surface libre, formant ainsi un véritable voile membraneux bien tissé, qui ne surnage que par suite de son adhérence à la paroi ; il tombe en entier au fond si l'on vient à secouer le tube. Ce caractère est d'autant plus net que la phase membraneuse est plus accentuée ; il acquiert son maximum pour la souche dénommée par Redaelli *Candida mycotoruloidea*.

Ce voile peut apparaître aussi en atmosphère carbonique, dans les tubes de fermentation. Il se forme alors tardivement, vers le 10° ou le 15° jour, est de couleur tout à fait blanche, ne se plisse jamais et ne peut être confondu avec le voile de *C. triadis*, qui apparaît brusquement et n'est pas membraneux.

VII. — LES PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES DANS LA PHASE MEMBRANEUSE

1. Fermentations. — Nous n'avons trouvé aucune différence entre le zymogramme de la phase crémeuse et celui de la phase membraneuse. Mackinnon (1936) a obtenu le même résultat. La seule remarque que nous ayons faite est, pour les souches membraneuses de *C. albicans*, une très légère fermentation du saccharose, indiquée par une bulle de gaz (1938, p. 448). Ce détail, ainsi que la similitude des colonies mixtes, partiellement membraneuses (par exemple *albicans* 682 (*pinoyi*), fig. 6, pl. XXXI et *tropicalis* 631, fig. 5, pl. XXXI), montre la parenté des deux groupes *albicans* et *tropicalis* et l'impossibilité de les séparer par une coupure générique.

Par contre, nous ne pouvons confirmer le tableau donné par P.

(1) Un certain nombre de *Candida* peuvent présenter une phase membraneuse plus ou moins nette et facultative, par exemple *C. zeylanoides*, *C. flareri* ; chez d'autres (*C. krusei* et *parakrusei*, *C. pseudotropicalis*) la phase membraneuse est exceptionnelle et ne se manifeste que par un aspect grenu. Chez *C. pelliculosa* et *C. guilliermondi*, la phase membraneuse n'existe pas, tandis qu'elle est constante chez *C. deformans*, *C. aldoi*, *C. chalmersi*, *C. intermedia*. La présence d'un voile n'est pas liée à ces variations : ainsi *C. aldoi* et *C. flareri* ne forment jamais de voile, tandis que *C. pelliculosa* et *C. guilliermondi* ont un voile muqueux.

Negroni (1936, p. 403). D'après ce tableau, la variante R de *C. albicans*, faisant fermenter le glycose et le fructose, serait inactive pour le mannose (1), ce qui est absolument contraire aux lois de Kluyver-Dekker. La forme mixte RS ferait en outre fermenter l'inuline, ce qui est bien surprenant, car toutes les souches de *C. albicans* que nous avons étudiées sont inactives pour ce polyholoside. Seuls, *Monilia macedoniensis* et *M. macedoniensoides* peuvent le faire fermenter... mais ce sont des *Saccharomyces* et non des *Candida*, pour lesquels l'inuline n'a pas lieu de figurer dans un zymogramme.

Notons enfin qu'en général les souches membraneuses donnent avec le galactose un peu plus de gaz que les souches crémeuses.

2. Assimilation de l'azote et élection des sucres. — Nous n'avons constaté aucune différence à ce sujet entre les phases crémeuse et membraneuse d'une même espèce.

3. Réactions sérologiques. — Ce genre de manipulations étant en dehors de la mycologie, nous avons laissé de côté les expériences d'agglutination, de floculation, etc. Nous remarquerons cependant qu'*a priori*, et au moins en ce qui concerne l'agglutination, la présence d'un pseudomycélium très développé ainsi que de touffes de blastospores ou de pseudo-conidies qui ont donné de longs filaments par blastèse, doit fausser en grande partie les résultats obtenus avec les phases membraneuses. Les conclusions tirées de ces expériences sont donc extrêmement fragiles.

VIII. — CONDITIONS D'APPARITION DE LA PHASE MEMBRANEUSE

A. Réaction du milieu. — Il semble que cette réaction soit un des principaux facteurs morphogénétiques. En effet, les recherches de Teissier, citées textuellement au début de ce mémoire, ont montré que l'alternance des deux phases S et R est, pour *Candida albicans*, sous l'étroite dépendance de la réaction du milieu : un milieu acide donne exclusivement la phase lisse et crémeuse, tandis qu'un milieu alcalin donne exclusivement la phase rugueuse et membraneuse. Le passage d'un milieu à l'autre, même après des ensemencements en série, amène la transformation immédiate des colonies qui présentent toujours la phase correspondant à la réaction du milieu sur lequel elles sont transplantées.

Dans les milieux de culture usuels, dont l'acidité ou l'alcalinité

(1) Ou pour la mannite, cela ne ressort pas clairement du texte. Si c'est la mannite, ou mannitol, l'épreuve est sans signification, car cet hexol n'est pas fermentescible.

sont très faibles, l'effet est beaucoup plus lent à se produire. Il faut tenir compte aussi de la variation incessante du pH d'un milieu sous l'influence du champignon. Teissier avait parfaitement vu que la réaction alcaline était stable, tandis que la réaction acide commençait à s'atténuer, puis à disparaître (dans le cas des acides faibles) au bout de 24-48 heures. La colonie à la phase S passait alors progressivement à la phase R. Teissier, en 1897, ne disposait que du tournesol comme indicateur : on est donc surpris que les modernes aient complètement méconnu l'importance de la concentration ionique comme facteur morphogénétique, surtout après l'engouement dont ont joui les jolies réactions colorées de détermination du pH . Teissier a donc donné, expérimentalement, le premier exemple de *réversibilité* de la phase S à la phase R et inversement.

Les travaux de Molliard (1919, 1922, 1924), puis de Florence et Lafay (1935) (cf. 1938, p. 163) ont décelé l'existence de variations lentes de la réaction des milieux de culture sous l'influence de divers champignons. Il s'établit ainsi un équilibre acidité $\rightleftharpoons$ basicité, sans cesse variable (« réflexe chimique » de Molliard) qui joue certainement un rôle morphogénétique. Florence et Lafay ont notamment montré que la consommation des radicaux organiques acides et la protéolyse (qui doit s'exercer surtout aux dépens des cellules mortes des vieilles colonies) sont des causes d'alcalinisation, donc d'évolution vers la phase R. C'est très vraisemblablement ainsi que se manifeste la sénescence, qu'on a invoquée comme cause de transformation de la phase S en phase R. Le report sur un milieu frais et acide, comme le sont tous les milieux employés en mycologie, reconstitue immédiatement la phase S.

B. Facteurs d'élongation. — L'action morphogénétique de l'alcalinisation du milieu peut être renforcée par l'influence des facteurs d'élongation. Parmi ceux qui sont le mieux connus, nous pouvons citer les *nitrites*, dont l'action remarquable (1) a été signalée par Linossier et Roux (1890), et l'*anhydride carbonique*, bien étudié à ce point de vue par Molliard (1934-1935) et que nous avons largement employé dans nos recherches de zymologie médicale (1938, p. 68 et *passim*. ; pl. XIV, fig. 2 ; pl. XVII, fig. 3 et XVIII, fig. 1 ; pl. XXVII, fig. 4). La consommation énergétique de sucres, pendant l'active multiplication des blastospores à la phase S, a

(1) Linossier et Roux ont précisé que les *nitrites* en général et le nitrate d'ammonium en particulier ne sont, pour *C. albicans*, ni un aliment, ni un toxique ; en dehors de leur pouvoir d'élongation, ils se comportent comme une substance inerte.

certainement pour conséquence une abondante production de CO_2 , qui doit être partiellement fixé sous la forme de carbonate d'ammonium et agir ainsi doublement comme facteur d'élongation.

Un autre facteur d'élongation, plutôt expérimental que naturel, est la *concentration élevée en peptone*. Kurotchkine (1936) a étudié, sur diverses souches de champignons levuriformes, l'action de milieux gélosés peptonés à 10 p. 100. Nous avons essayé à notre tour ce facteur d'élongation et de filamentisation et nous avons obtenu, avec *C. krusei*, une transformation membraneuse des plus nettes (1938, p. 486 et fig. 3, pl. XXXII). Ce résultat est d'autant plus intéressant qu'il n'y a pas de véritable phase R chez *C. krusei*, dont les colonies *lisses* et *mates* sont toujours crémeuses et s'accroissent en surface sans devenir convexes : c'est tout au plus si quelques souches présentent parfois une surface granuleuse (1938, pl. XXXII, fig. 1, 2^e tube à partir de la droite). Par contre, nous n'avons obtenu aucun résultat appréciable avec *C. guilliermondi* et *C. parakrusei*.

Linossier et Roux (1890) avaient déjà établi que la complication morphologique de *C. albicans* croît avec le poids moléculaire de l'aliment (1), que celui-ci soit hydrocarboné ou azoté ; les résultats obtenus par Kurotchkine avec la peptone concordent avec cette loi et aussi avec le fait, déjà reconnu par Linossier et Roux, que la peptone est, pour *C. albicans*, un aliment de tout premier ordre.

Les mêmes auteurs ont constaté que la concentration élevée des aliments (hydrocarbonés ou azotés) est aussi un facteur de filamentisation.

RÉSUMÉ

1. Il existe normalement chez les *Candida* une *alternance de deux phases*, l'une à colonies crémeuses et *lisses*, l'autre à colonies *plissées*, membraneuses et rugueuses, correspondant aux phases S et R des bactériologistes.

Il peut y avoir des colonies mixtes, par exemple pour *C. albicans* et surtout pour *C. tropicalis*, chez qui c'est la règle ; ces colonies présentent les deux phases réunies. Il y a aussi des souches qui restent toujours crémeuses, sans jamais varier.

2. Les deux phases sont *réversibles* l'une à l'autre par simple changement de la réaction du milieu (Teissier). Lorsque la phase R

(1) Inversement ces mêmes auteurs ont reconnu que la valeur alimentaire d'un hydrate de carbone croît à mesure que sa structure moléculaire se simplifie.

est apparue spontanément, dans des colonies de 3 à 4 mois, le repiquage sur milieu frais suffit pour reproduire la phase S, même en partant de colonies totalement plissées.

3. La *phase membraneuse* est caractérisée *microscopiquement* par trois éléments :

a) *pseudomycélium* (formé par *bourgeoisement*) très développé, souvent corémié, avec réduction progressive du nombre des blastospores ;

b) *pseudo-conidies pleurogènes* qui, chez certaines espèces (*C. tropicalis*) peuvent former des chaînettes longues et ramifiées ;

c) *filaments non cloisonnés*, grêles et très longs, formés par pseudo-germination (*blastèse*) des blastospores, des pseudo-conidies et même des articles du pseudomycélium.

La *phase crémeuse* ne présente que des éléments levuriformes libres, avec de rares ébauches de pseudomycélium.

4. La notion des pseudo-conidies est nouvelle. La filamentisation avec formation, soit de pseudomycélium par bourgeoisement, soit de filaments non cloisonnés par blastèse, a été décrite (mais non figurée) par Roux et Linossier dès 1890 : les phénomènes de blastèse n'avaient pas été retrouvés depuis, nous leur avons donné ce nom de *blastèse*.

5. La phase normale est la phase S. La phase R apparaît sous l'influence de divers facteurs : les principaux sont la *réaction du milieu* (Teissier) et les *facteurs d'élongation* (CO₂, aliments de poids moléculaire élevé, nitrates) ; certains de ces facteurs se manifestent spontanément dans les cultures âgées de 3 à 4 mois ; leurs variations suffisent à conditionner et à expliquer l'alternance des deux phases et la lenteur du processus naturel.

6. La phase R s'accompagne toujours de l'apparition d'un *voile* en milieux liquides sucrés.

8. Il n'y a pas, dans le passage d'une phase à l'autre, de modifications importantes du zymogramme ni des auxanogrammes de l'azote et des sucres.

9. Les arguments sérologiques ou de virulence invoqués contre la réversibilité des deux phases paraissent d'autant plus fragiles qu'il s'agit en général d'expériences isolées.

10. La conclusion générale est qu'il n'y a pas de véritable dissociation chez les *Candida*, la réversibilité des phases étant toujours possible. Comme il n'y a pas de différence fondamentale entre la prétendue dissociation des levures et celle des bactéries, la réalité même du phénomène de la dissociation devient extrêmement douteuse.

11. Nos observations et expériences ont porté sur les 16 espèces de *Candida* décrites dans notre précédent mémoire (1938), la majorité de ces espèces étant représentée par de nombreuses souches, quelques-unes suivies depuis une dizaine d'années. Les conclusions auxquelles nous arrivons nous ont été imposées par les faits qui se sont développés sous nos yeux.

BIBLIOGRAPHIE

- BESTA (B.). — Il fenomeno della dissociazione in uno stipiti di *Mycotorula albicans*. *Mycopathologia*, I, 1938, p. 41-52, pl. IV-V.
- CASTELLANI (A.). — Smooth and rough forms of *Monilia tropicalis* Cast. in the sputum of the same patient. *Jl. trop. med. hyg.*, XLI, 1938, p. 277-279.
- CAVALLERO (C.). — Fenomeni di variazione e di dissociazione nei miceti lieviti-formi. *Mycopathologia*, I, 1938-1939, p. 227-266, pl. XXXIV-XXXVI.
- FABIAN (F. W.) et MC CULLOUGH (N. B.). — Dissociation of yeasts. *Jl. of bacteriol.*, XXVII, 1934, p. 583-620.
- HADLEY (P.). — Further advances in the study of microbial dissociation. *Jl. infect. dis.*, LX, 1937, p. 129-192.
- KEHRER. — Ueber den Soorpilz. *Verh. Naturw.-Med. Ver. Heidelberg*, N.F., III, 1883, p. 143-214.
- KUROTCHKIN (T. J.). — Variation of colonial characters of certain yeast-like fungi. *Chinese med. Jl.*, suppl. I, févr. 1936, p. 171-178.
- LANGERON (M.) et GUERRA (P.). — Nouvelles recherches de zymologie médicale. *Ann. de paras.*, XVI, 1938, p. 36-84, 162-179, 429-476, 481-525, pl. XII-XXXIII.
- LANGERON (M.) et TALICE (R. V.). — Nouvelles méthodes d'étude et essai de classification des champignons levuriformes. *Ann. de paras.*, X, 1932, p. 1-80, pl. I-V.
- LINOSSIER (G.) et ROUX (G.). — Recherches biologiques sur le champignon du muguet. *Arch. de méd. exp.*, 1890, mars, 31 p.
- MACKINNON (J. E.). — Nuevo sentido de variacion en *Mycotorula albicans*. *Archivos Soc. biol. Montevideo*, VII, 1936, p. 162-188.
- NEGRONI (P.). — Variation du type R de *Mycotorula albicans*. *C.R. Soc. biol.*, CXX, 1935, p. 815.
- Ensayos para obtener la reversion de la forma R a la S de *Mycotorula albicans*. *Rev. Inst. bacterio.*, Buenos Aires, VII, 1936, p. 393-409, pl. XVI.
- PETRAGNANI (G.). — La dissociazione batterica. *Atti IV° Congresso nazionale di microbiol., Soc. internaz. di microbiol., sez. ital.*, 1932, p. 153-236.
- PLAUT (H. C.). — Beitrag zur systematischen Stellung des Soorpilzes in der Botanik. Leipzig, Voigt, 1885, 16 p.
- PUNKARI (L.) et HENRICI (A. T.). — A study of variation in a chromogenic asporogenous yeast. *Jl. of bacteriol.*, XXVI, 1933, p. 125-138.
- Further studies on spontaneous variation of *Torula pulcherrima*. *Jl. of bacteriol.*, XXIX, 1935, p. 259-267.
- QUINQUAUD (M.). — Nouvelles recherches sur le muguet. Classification et conditions de développement du *Syngospora robinii* (dit *Oidium albicans*). *Arch. physiol. norm. et pathol.*, I, 1868, p. 290-305, pl. VIII.

- REDAELLI (P.). — Un'ipotesi sull'eterosmosi dei lieviti in rapporto alla dissociazione. *Mycopathologia*, II, 1939, p. 12-27.
- ROBIN (Ch.). — *Histoire naturelle des végétaux parasites qui croissent sur l'homme et sur les animaux vivants*. Paris, Baillière, 1853, 704 p., 15 pl.; cf. p. 488-513.
- ROUX (G.) et LINOSSIER (G.). — Recherches morphologiques sur le champignon du muguet. *Arch. de méd. expér.*, 1890, p. 62-87.
- TEISSIER (M.). — Contribution à l'étude du champignon du muguet. *Arch. méd. expér. et anat. pathol.*, 1897, n° 3, p. 253-276.
- VERONA (O.). — *Giorn. batter. immunol.*, XVII, 1936, p. 593.

Institut de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris
(Directeur : Prof. E. Brumpt).
Section de mycologie (Chef de service : Dr M. Langeron).

EXPLICATION DES PLANCHES XXX-XXXII

PLANCHE XXX

- FIG. 1 et 2. — Début de la phase R chez *Candida suaveolens* (souche 728 A, souche du Centraalbureau de Baarn) (Langeron et Guerra, 1938, p. 105, pl. XXXIII, fig. 1 et 2).
- FIG. 1. — Portion d'une colonie sur lame gélosée montrant en haut et en bas la filamentisation caractéristique de cette souche, avec verticilles formés d'éléments dressés et appliqués. Au milieu, un arbuscule d'aspect échevelé, représenté à un plus fort grossissement dans la fig. 2. Un très grand nombre de blastospores sont en blastèse et ont donné chacune naissance à un tube non cloisonné, plus ou moins allongé, terminé par un renflement. Cet arbuscule est l'origine de la filamentisation qui donne la phase R, si accentuée dans cette souche.

PLANCHE XXXI

- Fig. 1-4. — Début de la phase R chez *Candida albicans* et *C. tropicalis*.
- FIG. 1. — *Candida albicans*. Manchons de pseudoconidies et début de la blastèse d'une blastospore (en face de la croix). Colonie membraneuse de la souche 563 B = souche Talice et Mackinnon n° 471 (= *Monilia alvarezsotoi* Mazza, Quintana et Bernasconi 1931). Culture sur lame de 25 jours sur gélose P.C. 400. Voir pl. XXXII, fig. 8, l'alternance des deux phases R et S. Cf. Langeron et Guerra, 1938, p. 451, pl. XVI, fig. 1.
- FIG. 2. — Etalement dans l'encre de Chine de la partie membraneuse d'une colonie de 8 mois de *Candida albicans* sur gélose glycosée à 2 p. 100 (souche 335 A du Dr Sézari, onychomycose, Hôpital St-Louis). Nombreuses blastèses. Voir pl. XXXII, fig. 4, l'alternance des deux phases R et S.
- FIG. 3. — Même lame que pour la fig. 1. Début de blastèse d'une blastospore et d'une pseudoconidie en face des croix.
- FIG. 4. — *Candida tropicalis*. Point de départ d'une colonie membraneuse du type R dans une colonie sur lame de 15 jours sur gélose glycosée à 2 p. 100,

Ce point est des plus caractéristiques, car il montre à la fois les longues chaînettes de pseudoconidies, et les très longs filaments grêles non cloisonnés, enroulés à leur extrémité et produits par blastèse. Souche 267 A, souche Castellani. Cf. Langeron et Guerra, 1938, p. 460, pl. XIX, fig. 1-3.

FIG. 5. — *Candida tropicalis* (souche 631 A = souche Gadgetto II envoyée de Sicile par P. Redaelli). Colonie géante de deux mois du type S, avec portion excentrique membraneuse du type R : c'est l'aspect normal des colonies de *C. tropicalis* bien qu'ici l'îlot membraneux soit excentrique au lieu d'être central. Cf. Langeron et Guerra, 1938, p. 458, pl. XVII, fig. 4-5.

FIG. 6. — *Candida albicans* (souche 682 A = *Monilia pinoyi* Cast., souche du Ross Institute de Londres). Colonie géante de six mois du type S, ayant pris l'aspect d'une colonie de *C. tropicalis*, avec zone excentrique membraneuse du type R.

FIG. 7. — *Candida triadis* (souche type 587 A). Colonie géante du type S, devenue partiellement membraneuse comme *C. tropicalis*.

PLANCHE XXXII

Les huit figures de cette planche sont destinées à montrer la régularité du passage de la phase R à la phase S, puis du retour de la phase S à la phase R, chez les champignons levuriformes des genres *Candida* et *Rhodotorula*.

FIG. 1. — *Candida albicans* (souche 43 B, souche Catanei, *Monilia* du singe). A gauche, colonie du type R, de 7 mois, dont le réensemencement au 5^e mois a donné la colonie de droite, du type S, âgée de 2 mois.

FIG. 2-5. — A gauche, colonies du type R, âgées de 5 mois, qui, réensemencées au 3^e mois, ont donné directement les colonies de droite du type S ; celles-ci sont âgées de 2 mois. Les colonies S des fig. 1, 2, 4, commencent à se plisser et à passer à la phase R.

FIG. 2. — *Candida albicans* (souche 711 A, souche Catanei, *Monilia* du singe).

FIG. 3. — *Candida albicans* (souche 447 B, souche Guerra, grand intertrigo avec levurides, Hôp. St-Louis).

FIG. 4. — *Candida albicans* (souche 335 A, onychomycose, cas du Dr Sézari, Hôp. St-Louis). Voir aussi pl. XXXI, fig. 2, l'aspect microscopique de la phase R.

FIG. 5. — *Candida albicans* (souche 332 B, souche Milian, Hôp. St-Louis, cas Kara, dysidrose du pied).

FIG. 6. — *Candida triadis* (souche 735, souche norvégienne du Dr E. Aaser, isolée de crachats et donnant des chlamydospores). A gauche, colonie du type R de 7 mois ; à droite, colonie du type S âgée de 3 mois 1/2, obtenue de la colonie R âgée de 3 mois 1/2 ; cette colonie S commence à se plisser en réseau et à entrer dans la phase R.

FIG. 7. — *Rhodotorula mucilaginosa* (Jørgensen) Harrison, var. *pararosea* (Cast.) Lodder (souche 670) (= *Cryptococcus pararoseus* Castellani). A gauche, colonie de 7 mois du type R, qui, repiquée à 3 mois 1/2, a donné la colonie de droite du type S, lisse et coulante, âgée de 3 mois 1/2.

FIG. 8. — *Candida albicans* (souche 563 B, souche Talice et Mackinnon n° 471 = *Monilia alvarezsotoi* Mazza, Quintana et Bernasconi 1931). A gauche, colonie de 6 mois du type R, qui, repiquée à 4 mois, a donné la colonie de droite du type S, âgée de 2 mois, présentant déjà des irrégularités, début de la transformation en type R. Voir aussi pl. XXXI, fig. 1, le début microscopique de la phase R par blastèse.