

ÉTUDE D'UNE COLLECTION NORVÉGIENNE DE LEVURES

(2^e PARTIE)

Par Edel DIETRICHSON

PRÉFACE

Pour publier notre étude de la partie restante de la collection de levures norvégiennes, nous avons attendu la parution de l'ouvrage de Lodder et Kreger-van Rij : *The Yeasts. A taxonomic study*, annoncée en 1949 au Rapport annuel de l'I.F.C.C. Sans cet ouvrage, nous n'aurions pas réussi à donner une étude taxonomique de la collection norvégienne de levures.

C'est pour nous un agréable devoir de remercier chaleureusement notre patron, M. le D^r Einar Aaser, Directeur de l'Institut National de la Santé Publique d'Oslo, qui nous a toujours appuyée dans nos efforts et a porté à notre travail le plus vif intérêt.

Nous prions M. le Professeur D^r A. J. Kluyver de trouver ici l'hommage de notre sincère reconnaissance. Il nous a donné la possibilité de poursuivre nos examens après la parution du travail de Lodder et Kreger-van Rij. Nous avons ainsi pu réaliser notre but, à savoir de continuer la description de la collection norvégienne de levures commencée en 1950.

Nous tenons également à remercier ici Mlle le D^r J. Lodder d'avoir témoigné personnellement tant d'intérêt pour notre collection, en nous aidant de ses conseils, avec toute l'autorité qui s'attache à son nom.

A Mlle W. Slooff, Assistante au Centraalbureau voor Schimmelcultures, Yeast Division, Delft, notre vive gratitude pour les encouragements qu'elle n'a cessé de nous prodiguer, ainsi que pour tout le travail personnel qu'elle a fourni en vue de nous aider dans nos recherches.

Le Centraalbureau voor Schimmelcultures, Yeast Division, nous a rendu le plus grand service en complétant pour nous toute une série d'analyses.

Nos remerciements vont aussi à Mlle A. van den Hoven van Genderen, Assistante au même laboratoire, pour son aide compétente et aimable.

Nous savons le plus grand gré au Professeur P. Hauduroy qui, en tant que Directeur du Centre de I.F.C.C. de Lausanne (Suisse), a pu nous met-

tre en rapport avec M. le Professeur F. Coutelen, de la Faculté de Médecine de Lille, Directeur du Centre de Parasitologie et de Pathologie parasitaire, et avec Mlle le D^r G. Cochet, Chef de Service de Mycologie de cet Etablissement. Par ce fait même, il nous a donné la possibilité de mener à bien notre travail.

Que M. le Professeur Coutelen veuille bien trouver ici nos remerciements pour la bienveillance dont il a fait preuve en nous permettant de confier à son service certains travaux complémentaires.

A Mlle le D^r Cochet, nous renouvelons l'assurance de notre profonde gratitude, car ses initiatives et son aide efficace nous ont été indispensables, tant à Lille qu'à Paris.

Nous remercions M. le Professeur Henri Galliard, de la Faculté de Médecine de Paris, Directeur de l'Institut de Parasitologie, de nous avoir donné la possibilité de finir nos études dans son service et d'avoir généreusement accordé à notre étude une place dans les *Annales de Parasitologie*.

Mlle Simone Dreyfus, Assistante à la Section de Mycologie de l'Institut de Parasitologie, s'est constamment tenue à notre disposition pour faciliter notre travail.

Le Conseil de Recherches de Science générale de Norvège (Norges Almenvitenskapelige Forskningsråd) nous a manifesté une grande bienveillance. Nous tenons à lui en dire ici notre vive reconnaissance.

Introduction

Dans cette étude, nous avons isolé 86 souches de levures qui comprennent 35 espèces, dont 9 espèces nouvelles et 7 variétés nouvelles. De plus, nous avons isolé 23 souches de moisissures qui comprennent 2 espèces.

Les levures que nous avons étudiées ont été isolées des matériaux suivants :

- 1) expectorations ;
- 2) sang ;
- 3) épiderme,

et comprennent les catégories de maladies suivantes :

1. origine inconnue ;
2. asthme ;
3. bronchite ;
4. fibrose remarquable des poumons ;
5. infiltration des poumons ;
6. malades suspects de tuberculose pulmonaire ;
7. mycose pulmonaire ;

8. tuberculeux pulmonaires ;
9. exanthème ;
10. onychomycose ;
11. dysurie ;
12. septicémie.

Nous nous référons aux abréviations Ep.*G. V. (voir première partie de notre étude : « Etude d'une collection norvégienne de levures isolées d'expectorations de malades atteints d'asthme ou de bronchite » publiée dans les *Annales de Parasitologie*, t. XXV, n^{os} 1, 2, 3, 1950, p. 5-6).

Toutes les souches marquées Ep. ont été isolées à 30°C., deux souches n^o Ep. 292 b, Ep. 310 b et souche G. ont été isolées à 37°C. Les souches V ont également été isolées à 37°C., sauf quelques exceptions.

Toutes les espèces de levures ont été déterminées d'après Lodder et Kreger-van Rij. Deux espèces : *Trichosporon capitatum* et *Trichosporon cutaneum* ont été examinées, d'après l'Ecole hollandaise et d'après l'Ecole française, comme suit :

Trichosporon capitatum : une souche d'après l'Ecole hollandaise et huit souches d'après l'Ecole française.

Trichosporon cutaneum : deux souches d'après l'Ecole hollandaise et cinq souches d'après l'Ecole française.

Les deux espèces suivantes ont été déterminées respectivement par le Centraalbureau voor Schimmelcultures de Delft et de Baarn :

Trichosporon capitatum (n^o V. 695).

Sporotrichum carougeaui Langeron (n^o Ep. 858 b).

Dans tous nos travaux d'après Lodder et Kreger-van Rij, nous avons également employé la méthode française pour la morphologie macro- et microscopique.

Comme milieu de culture sur lame d'après l'Ecole hollandaise, la pomme de terre gélosée a été employée, en général. Comme milieu de culture sur lame d'après l'Ecole française, nous avons employé la pomme de terre-carotte (P.C.) gélosée (Langeron M. et Guerra P., 1938).

Pour onze espèces, nous avons recherché la température optimum en employant les températures suivantes en degrés Celsius : température de cave, 20, 25, 30, 37.

Pour des raisons pratiques, nous avons fait un choix des levures. La description est donnée en deux parties de la manière suivante :

1. Nous donnons une liste complète de toutes les souches isolées, avec des notes.

2. Pour les nouvelles espèces et pour les nouvelles variétés, nous donnons une description spéciale et détaillée.

Méthodes

Tandis que les précédentes monographies de levures des Ecoles hollandaise et française ont traité certains groupes de la taxonomie de levures, J. Lodder et N. J. W. Kreger-van Rij, dans leur travail fondamental : *The Yeasts. A taxonomic study* (Amsterdam, 1952), mettent en relief le système botanique complet des espèces de levures.

En ce qui concerne les principes de taxonomie de cet ouvrage, nous citons les auteurs, voir page 3 : « Our main principle is to give first rank to morphological characteristics in so far as these are mainly used for the primary divisions. In the species differentiation, however, physiological properties have been widely made use of. In addition we have given preference to those morphological and physiological properties which can be studied with simple methods. A further principle was not to pay too much attention to minor differences. It seems more desirable to leave open the possibility for a certain fluctuation within the taxon. »

La collection norvégienne de levures est représentée par les familles :

- 1) *Endomycetaceæ* (avec les genres *Hansenula*, *Pichia*, *Debaryomyces*, *Saccharomyces*).
- 2) *Cryptococcaceæ* (avec les genres *Candida*, *Torulopsis*), ainsi que par sa sous-famille *Trichosporoideæ* (avec un genre unique, *Trichosporon*).

Tous les genres nommés, *Torulopsis* excepté, peuvent être exclusivement déterminés d'après des caractères morphologiques.

Le genre *Torulopsis* est caractérisé au point de vue morphologie, et aussi biologiquement par : « No " starch " formation, capsule only exceptionally formed. Dissimilation oxidative or besides oxidative also fermentative. » (Voir Lodder et Kreger-van Rij, p. 370).

Technique générale d'isolement, de purification et de conservation des souches

Quant à l'origine des souches, nous nous référons à la première partie de notre étude.

I. — Isolement et purification.

Isolement et purification ont été effectués d'après les méthodes décrites dans la publication ci-dessus nommée sur les souches de levures norvégiennes.

D'après Lodder et Kreger-van Rij, les expériences ont montré que l'ensemencement superficiel, sur plaque d'une suspension dans l'eau d'une colonie isolée donnera en général une culture pure. Toutes les colonies doivent avoir un aspect macroscopique uniforme. Le milieu suivant est employé : moût de bière, non houblonné (10°Bllg.) gélosé à 2 p. 100.

II. — Conservation des souches isolées et purifiées.

Nous avons parlé de la conservation des souches norvégiennes dans la publication, déjà nommée, dans les *Annales de Parasitologie*, voir p. 7-8.

Les capuchons en caoutchouc se sont montrés préférables aux bouchons en caoutchouc comme moyen de fermeture pour les tubes de saccharose. Au cas où une levure fait fermenter fortement le saccharose, aussi bien le bouchon que le coton seront rejetés, mais si le tube est fermé avec du coton et un capuchon en caoutchouc, le coton restera dans le tube, même si le capuchon est rejeté. La culture est intacte et on remet un nouveau capuchon.

Par la suite, nous allons mentionner les méthodes qui, d'après Lodder et Kreger-van Rij, ont été employées pour la classification des groupes botaniques nommés, ainsi que pour la différenciation des espèces.

Les méthodes morphologiques

I. — Examen direct des cultures.

L'étude morphologique d'une levure commence, en premier lieu, par un ensemencement sur milieu de moût de bière liquide et solide.

Milieu liquide. — On verse 30 cc. de moût de bière (15°Bllg.) sans houblon dans des flacons d'Erlenmeyer de 100 cc.

Milieu solide. — Le moût de bière (10°Bllg.) sans houblon et gélosé à 2 p. 100 est réparti dans des tubes inclinés.

Les deux milieux sont ensemencés avec une culture récente sur moût de bière gélosé et mis à l'étuve trois jours à 25°C. ; après ce temps, on examine au microscope la forme et la taille des cellules ainsi que leur mode de bourgeonnement. La dimension d'une levure est indiquée après mensuration de 20 cellules bien développées ; les valeurs extrêmes de la longueur et de la largeur des cellules sont indiquées.

La culture sur moût de bière liquide est également examinée au point de vue de la présence du dépôt, du voile et de l'anneau. L'examen est refait après un mois à 17°C.

En ce qui concerne la formation d'un voile retardé, nous citons Lodder et Kreger-van Rij, voir p. 20 : « To the delayed pellicle formation no taxonomic value has been attached. »

II. — Examen des cultures sur lames.

Les cultures sur lame d'après Rivalier et Seydel (1932 *a* et *b*) sont, en second lieu, une épreuve indispensable pour faire la différenciation du genre et de l'espèce. Tous les détails végétatifs du développement d'une levure doivent être étudiés par l'examen attentif des cultures sur lame.

Un champignon levuriforme, par exemple, peut ainsi être étudié dans toutes les phases de son développement caractérisé par :

- 1) un pseudomycélium avec un « appareil sporifère », Langeron et Talice (1932), ou :
- 2) un pseudomycélium et mycélium vrai bourgeonnant par blastospores, ou bien :
- 3) une combinaison des deux modes de filamentation en bourgeonnant, et par des blastospores et par des arthrospores.

On fait un ensemencement sur gélose de pomme de terre ou sur gélose de maïs. Nous avons essentiellement ensemencé sur gélose de pomme de terre. Dans les cas où la gélose de maïs a été employée, la filamentation a été obtenue également sur gélose de pomme de terre. Une seule exception à mentionner concerne l'espèce de *Candida* Ep. 836 b.

Cette souche a développé trois formes différentes de pseudomycélium sur gélose de maïs (fig. 22) tandis que l'ensemencement sur gélose de pomme de terre n'a donné que des ébauches.

Si les levures ne filamentent pas sur ces deux milieux, on conclut qu'aucun autre milieu ne pourra faire produire une filamentation.

Il faut, d'autre part, faire un essai de cultures en atmosphère carbonique.

Cultures sur lames selon Wickerham et Duprat.

Lodder et Kreger-van Rij appliquent la méthode de Rivalier et Seydel avec la modification de Wickerham et Duprat (1945), en couvrant la culture partiellement par lamelles pour donner ainsi à la levure des conditions anaérobiques qui, dans des cas spéciaux, favorisent la filamentation. D'après Wickerham (1951), c'est Dalmau qui, le premier, employa la méthode des lamelles.

Méthode. — On emploie des boîtes de Pétri stériles dans lesquelles est placé un bâtonnet en verre courbé servant d'appui à deux lames portant

quatre lamelles. En déplaçant les lamelles, on verse la gélose bien chaude sur les lames. Une fois refroidie, la gélose estensemencée avec une culture jeune sur moût de bière gélosé ; on fait deux ou trois stries sur chaque lame, qui sont ensuite couvertes de deux lamelles mises à distance l'une de l'autre. On verse un peu d'eau stérile au fond de la boîte, qu'on met à l'étuve à 25°C. Après quatre ou cinq jours, on regarde au microscope les stries ensemencées ; puis les cultures sont remises dans la boîte, qui est alors placée à la température de la chambre et revue une semaine après l'ensemencement.

Formation des ascospores

Les souches ayant formé des ascospores — au nombre de 13 — sont très vieilles. Elles ont été conservées sur 10 p. 100 saccharose pendant plusieurs années. Les spores ont pour la première fois été vues il y a dix à vingt ans. Les milieux ayant donné un résultat positif étaient les suivants : blocs de plâtre, milieu de Gorodkowa, cônes de pomme de terre. La recherche des ascospores a été renouvelée en 1953 et les souches ensemencées sur des milieux différents spéciaux pour la sporulation tels que : blocs de ciment, milieu de Gorodkowa, V8, milieu de Starkey (1946), milieu d'acétate, d'après Adams (1949), carotte et eau distillée ; cinq souches n'ont pas formé d'ascospores.

Il est recommandable d'activer les cultures avant l'ensemencement sur les milieux spéciaux pour la sporulation, en faisant des ensemencements de souches récentes trois fois de suite sur moût de bière, non houblonné (15°Bllg.).

On est de plus en plus attiré vers la recherche d'une séparation nette entre la forme parfaite et la forme imparfaite d'une espèce et vers la description complète des deux formes.

Caractères morphologiques des cultures macroscopiques

Ces examens se réfèrent à des cultures en stries sur moût de bière gélosé, milieu dont la composition est donnée plus haut. Les cultures en stries sont examinées au point de vue macroscopique après un mois à la température de la chambre (17 à 18°C.).

Les méthodes physiologiques

La formation de voile, qui révèle un caractère morphologique, est aussi un caractère biologique, le voile indiquant, dans ce cas, l'exigence des cellules en oxygène.

Fermentation

Pour la fermentation, nous nous sommes servis de tubes de Durham. Ceux-ci sont considérés par Lodder et Kreger-van Rij comme étant plus sensibles que les flacons d'Einhorn. Ces derniers sont employés par ces auteurs pour la « Standard description ». Ces conditions expliquent certaines discordances que nous prétendons avoir pu démontrer chez deux souches de *Candida mycoderma* (V 342a, V 474). Ces souches ont donné une fermentation faible, contrairement à ce qui se passe chez *Candida krusei*. Les expériences en tubes de Durham ont donné des résultats plus décisifs que ceux décrits dans « Standard description » pour *Candida mycoderma*.

Nous donnons la définition de la fermentation du raffinose 1/3 et 2/3 d'après Kreger-van Rij, voir p. 22 : « Fermentation of raffinose for 1/3 only means the fermentation of the fructose part of the molecule, the melibiose part being not attacked. If a yeast also contains melibiose in addition usually both the glucose and the galactose part are fermented. In some rare cases the galactose part remains unfermented ; we have indicated this as fermentation of raffinose for 2/3. »

Pour démontrer la fermentation du raffinose 1/3 ou complet, nous avons appliqué la méthode de Wickerham (1943) en tubes de Durham, mais en employant une solution de raffinose à 2 p. 100, au lieu de 4 p. 100 comme il le fait lui-même.

Pour prouver la fermentation du raffinose aux 2/3, nous avons employé une solution de mélibiose. Celle-ci est préparée avec une solution de raffinose à 3 p. 100, à laquelle on ajoute une souche récente de *Saccharomyces cerevisiæ*. Après une semaine à 25°, le liquide fut clarifié par filtrage sur papier-filtre et stérilisé quinze minutes à 110°C. Comme contrôle, onensemence un tube avec *Saccharomyces cerevisiæ* et un autre avec *Saccharomyces carlsbergensis*.

Méthode. — Les sucres suivants commerciaux ont été employés pour les épreuves de fermentation : glucose, galactose, saccharose, maltose, lactose, raffinose. L'inuline a été employé d'après la méthode de Langeron et Guerra (1938). Les sucres s'emploient en solution à 2 p. 100. L'essai est fait en tubes de Durham mis à l'étuve pendant dix jours à 25°C., la lecture étant faite tous les deux jours. Quand la fermentation du raffinose est positive, il s'agit de décider si ce sucre fermente au 1/3, 2/3 ou complètement.

La fermentation et l'assimilation des sucres jouent un grand rôle dans la différenciation des espèces. Mais chez les espèces donnant une faible, ou même aucune fermentation, l'assimilation de sucre peut avoir une grande valeur taxonomique. Ainsi, deux espèces azymatiques nouvelles sont bien caractérisées par l'assimilation de glucose, galactose, saccharose, maltose : V 15 *Candida aaseri* et Ep. 68 *Hansenula amylofaciens*.

La méthode auxanographique d'assimilation des sucres comprend les cinq sucres suivants : glucose, galactose, saccharose, maltose, lactose. La

lecture du résultat se fait après un ou deux jours à 25°C. La méthode donne souvent des résultats peu nets chez les levures à croissance lente et nécessitant beaucoup de temps pour s'adapter ; fait qui se remarque surtout quand il s'agit du galactose.

Pour l'assimilation des sucres, Wickerham et Burton (1948) emploient une méthode sur milieu liquide, qui donne à la levure de meilleures conditions d'assimilation et qui, appliquée pour le galactose, donne un résultat plus sûr et plus facile à interpréter. Lodder et Kreger-van Rij ont employé la méthode de Wickerham et Burton pour tous les essais d'assimilation des sucres.

Cette méthode a été employée par nous uniquement pour le galactose et dans un nombre restreint d'épreuves. Pour un cas de *Saccharomyces cerevisiae* — Ep. 4.329 — l'assimilation du galactose n'a pas donné le résultat positif souhaité, même après adjonction d'eau de levure.

Nous citons ci-dessous les méthodes auxanographiques de l'assimilation des sucres appliquées par Lodder et Kreger-van Rij. On emploie un milieu synthétique de base ne contenant aucune source de carbone. Ce milieu est fondu, refroidi à $\pm 40^{\circ}\text{C}$. et versé en boîtes de Pétri, dans lesquelles on vient de mettre ± 2 cc. d'une concentration forte de levure et une goutte d'eau de levure ou une solution de vitamines. Les liquides sont soigneusement mélangés. Après solidification, la boîte reste quelques heures à 25°C. sens dessus-dessous, pour obtenir une surface sèche de gélose. De petites quantités des sucres à essayer, c'est-à-dire glucose, galactose, saccharose, maltose et lactose, sont déposées à différents endroits de la gélose. La boîte de Pétri est alors mise en position normale dans l'étuve à 25°C. Les résultats doivent être observés après un ou deux jours.

Nous donnons ci-dessous l'épreuve en milieu liquide d'après Wickerham et Burton (1948). Voir Lodder et Kreger-van Rij p. 24 et 25.

Méthode. — Des tubes remplis de 5 cc. d'un milieu minéral synthétique contenant chacun un des cinq sucres à étudier (glucose, galactose, saccharose, maltose, lactose) sontensemencés avec une goutte d'une suspension de levure. Un tube, contenant le milieu sans sucre etensemencé comme décrit ci-dessus, sert de témoin. Les tubes sont mis à 25°C. et examinés après une, deux ou trois semaines. S'il y a une différence de croissance indéniable entre un tube et le témoin, le résultat est estimé positif.

Méthode auxanographique de l'assimilation de l'azote

Lodder (1934) et Diddens et Lodder (1942) ont systématiquement pratiqué cette méthode pour les substances azotées suivantes : nitrate de potassium, sulfate d'ammonium, asparagine, urée et peptone. Les deux derniers auteurs le font néanmoins avec réserve, disant ceci (p. 74 et 75) : « Mais on a constaté que seule l'assimilation de nitrate a de l'importance comme moyen de différenciation car, dans la plupart des cas,

on obtient de la croissance avec sulfate d'ammonium, asparagine et peptone. »

Lodder et Kreger-van Rij (1952) éliminent catégoriquement l'emploi de toutes les substances azotées, nitrate de potassium excepté. La peptone sert de témoin. Dans les cas exceptionnels où l'assimilation de nitrate de potassium ne donne pas de résultat net d'après la méthode auxanographique, Lodder et Kreger-van Rij appliquent la méthode de Wickerham et Burton de 1948 sur milieu liquide.

La preuve de l'assimilation du nitrate de potassium a surtout une valeur taxonomique pour la différenciation spécifique, mais peut aussi avoir de l'importance pour la différenciation des genres.

Méthode. — La technique est celle désignée pour l'assimilation des sucres. La substance ne contient aucune source d'azote et le glucose sert de source de carbone.

Nous donnons ci-dessous l'épreuve en milieu liquide d'après Wickerham et Burton (1948). Voir Lodder et Kreger-van Rij, p. 26.

Méthode. — Cette épreuve est employée dans des cas rares. C'est également le glucose qui sert ici comme source de carbone. La croissance en ce milieu avec le nitrate de potassium est comparée avec celle du sulfate d'ammonium comme source d'azote.

Alcool, seule source de carbone

La croissance et la respiration des cellules ont été mesurées également par l'assimilation de l'alcool. Les essais se font en tubes et en tubes-témoins. Voir Diddens et Lodder (1942), p. 75. Les tubes contenant 5 cc. du milieu sont ensemencés avec une goutte de levure en suspension dans l'eau, puis étuvés à 25°C. La lecture se fait en général après une semaine, mais les cultures peuvent exceptionnellement rester à l'étuve jusqu'à trois semaines.

Dédoublement d'arbutine

Lodder et Kreger-van Rij font remarquer (voir p. 27) que le genre *Hansenula* est arbutine positive, mais les genres *Hanseniaspora* et *Kloeckera* sont arbutine négative ; tandis que, dans d'autres genres, certaines espèces font dédoubler l'arbutine et d'autres ne le font pas.

Méthode. — Nous indiquons ci-après la méthode d'après Lodder et Kreger-van Rij, voir p. 28. Un milieu contenant 0,5 p. 100 d'arbutine en eau de levure gélosée est fondu et versé dans une boîte de Pétri, dans laquelle on a mis auparavant une goutte d'une solution de $FeCl_3$. Les liquides sont bien mélangés. Une fois refroidie, la gélose est ensemencée et mise à l'étuve à 25°C. Un résultat positif, c'est-à-dire une zone brune foncée autour des colonies peut être observée après deux, quatre ou six jours.

Le dédoublement de l'arbutine joue un rôle moins important pour la taxonomie.

Production de substances analogues à l'amidon

Lodder et Kreger-van Rij commencent le chapitre comme suit : « Bien que la portée de la production de substances analogues à l'amidon au point de vue taxonomie ne puisse encore être complètement évaluée, nous l'avons employé comme une des caractéristiques définissant le genre *Cryptococcus*. »

La seule souche examinée par nous quant à la présence de substances analogues à l'amidon est celle d'*Hansenula amylofaciens*, qui est amidon positif.

Méthode. — Nous l'indiquons d'après Lodder et Kreger-van Rij (voir p. 31).

Un milieu synthétique a été employé. On ajoute une goutte d'eau de levure ou un mélange de vitamines à chaque boîte. Celle-ci est ensemencée et mise à l'étuve à 25°C. Après une à deux semaines, la présence des substances analogues à l'amidon peut être démontrée en ajoutant du lugol à la surface de la gélose.

La peptonisation et la formation d'acide dans le lait sont pratiquées en deux phases

La peptonisation du lait a été examinée en plaques et la recherche d'acide s'effectue dans le lait tournesolé.

a) *Peptonisation du lait en plaques : d'après Smith et al. (1946)*

Méthode. — On prépare une gélose à 2 p. 100 et on y ajoute du lait maigre en proportion de 20 p. 100. On verse le mélange dans une boîte de Pétri en couche assez mince pour que le résultat soit obtenu plus rapidement. Une fois refroidie, la gélose est ensemencée avec les souches à étudier. *Candida pseudotropicalis* var. *lactosa* a été employé comme témoin. Les boîtes sont mises à 25°C. On fait la lecture tous les deux jours en l'espace de dix jours.

b) *Formation d'acide dans le lait*

Le lait tournesolé est ensemencé avec la souche à étudier, et la lecture a été faite après six et dix jours.

Liste complète de toutes les souches isolées :

1. Les levures

Saccharomyces cerevisiae Hansen :

N ^{os}	
V 212	} Isolées respectivement en 1935, 1940 d'expectorations d'origine indéterminée.
V 369 b	
V 293	
V 365	} Isolées respectivement en 1937 et 1940 (4 derniers numéros) d'expectorations d'asthme.
V 441	
V 450	
V 451 b	
Ep. 4.329	Isolée en 1934 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire.

Note. --- Cette souche est conforme à la souche-type sauf pour l'assimilation du galactose. L'épreuve de l'assimilation du galactose a été effectuée d'après la méthode de Wickerham. Comme cette analyse a donné un résultat négatif au mépris de la théorie, nous avons refait nos examens en ajoutant une goutte d'eau de levure sans avoir pu démontrer un résultat positif.

N ^{os}	
Ep. 4.277	} Isolées respectivement en 1934 et 1935 (3 derniers numéros), en provenance d'expectorations de malades suspects de tuberculose pulmonaire.
Ep. 272 b	
Ep. 828 a	
Ep. 909 b	

Saccharomyces chevalieri var. *atypica* nov. var. (n^o V 435). Isolée en 1940 d'expectorations d'asthme. Voir description.

Saccharomyces fragilis Jörgensen :

N ^{os}	
Ep. 821 c	Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire.
V 9	} Isolées respectivement en 1932, 1940, 1940 d'expectorations d'origine inconnue.
V 369 a	
V 461 b	
V 32	} Isolées en 1933 d'expectorations de bronchite.
V 43	
V 59 a	} Isolées respectivement en 1933, 1935 d'expectorations d'asthme.
V 247 b	
V 167	isolée en 1934 d'onychomycose.

Note. — Toutes les souches de *Saccharomyces fragilis* sont positives pour l'arbutine sauf n° V 32, qui a donné une réaction négative. Cf. Lodder et Kreger-van Rij, p. 183.

Saccharomyces marxianus Hansen (n° V 239). Isolée en 1935 d'expectorations d'asthme. Conforme à la souche type.

Saccharomyces rouxii Boutroux var. *polymorphus* (n° Ep. 503 a). Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire, révèle les caractères de la souche type.

Saccharomyces scandinavicus nov. spec. (n° Ep. 482 a). Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire. Temp. opt. 25-30° C. *Voir description.*

Saccharomyces verticillatus nov. spec. (n° V 366). Isolée en 1940 d'expectorations de bronchite. Temp. opt. \pm 37° C. *Voir description.*

Saccharomyces veronæ var. *osloensis* nov. var. (n° V 253). Isolée en 1936 d'expectorations d'asthme « de boulanger ». *Voir description.*

Saccharomyces vossii nov. spec. (n° V 536). Isolée en 1943 d'exanthème. Temp. opt. 25-37° C. *Voir description.*

Pichia dubia nov. spec. (n° V 64). Isolée en 1933 d'expectorations de bronchite. Temp. opt. 25-30° C. Pas de croissance à 37° C. *Voir description.*

Pichia farinosa (Lindner) Hansen (n° Ep. 689 b). Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire.

Note. — Réserve faite d'une divergence de type de pseudomycélium, cette souche est en bonne conformité avec la souche-type.

Hansenula anomala (Hansen) H. et P. Sydow :

N° Ep. 843 a. Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire.

N° V 323. Isolée en 1938 d'exanthème.

Note. — N° Ep. 843 a est en plein accord avec la souche-type. N° V 323 montre tous les caractères de la souche-type, seulement la fermentation du maltose est plus forte chez cette souche que chez Ep. 843 a.

Hansenula amylofaciens nov. spec. (n° Ep. 68). Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire. Temp. opt. 20-25° C. Pas de croissance à 37° C. *Voir description.*

Hansenula subpelliculosa Bedford (n° V 510 b). Isolée en 1941 d'onychomycose.

Note. — Une différence de temps et de température en extrait de malt explique peut-être la divergence de dimension des cellules.

Opposé à la description de la croissance en éthanol de la souche-type, le n° V 510 b a donné un voile en ce milieu.

Debaryomyces kloeckeri Guill. et Péju. (n° Ep. 952). Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire.

Note. — Cette souche est en conformité avec la description de *Debaryomyces kloeckeri*. La forme des cellules est assurément plus variée que pour la souche-type, mais les auteurs font compter avec plusieurs transitions dans la forme ronde ovale.

La souche norvégienne a donné un voile annulaire après un mois à 17°C : un voile retardé peut aussi paraître chez cette espèce.

Torulopsis glabrata (Anderson) Lodder et de Vries (n° Ep. 292 b). Isolée en 1937 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire.

Note. — Les résultats des examens montrent bien les caractères de la souche-type sauf pour l'assimilation du galactose, qui est faiblement positive. On a remarqué qu'il y a des souches de cette espèce qui font assimiler le galactose. (Communication de la *Division des Levures à Delft*).

La même observation est valable pour les numéros suivants :

N°s	
Ep. 821 d	} Isolées en 1935 d'expectorations de malades suspects de tuberculose pulmonaire.
Ep. 996 b	
G 5.391 b	} Isolée en 1933 d'expectorations de tuberculose pulmonaire.
V 213	} Isolées respectivement en 1935, 1935, 1938 d'expectorations d'asthme.
V 230 b	
V 311 b	

Il faut remarquer que toutes les dix souches de *Torulopsis glabrata* étudiées par Lodder et Kreger-van Rij sont d'origine humaine.

Torulopsis inconspicua Lodder et Kreger-van Rij :

N°s	
Ep. 752 b	} Isolées en 1935 d'expectorations de malades suspects de tuberculose pulmonaire.
Ep. 894 a	

Note. — Les deux numéros mentionnés plus haut sont bien caractérisés comme la souche-type ; mais ils se distinguent entre eux par leurs températures optimum : n° Ep. 752 b \pm 30°C. et n° Ep. 894 a \pm 37°C.

Torulopsis inconspicua var. *filiforme* nov. var. (n° Ep. 468 a). Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire. Temp. opt. $\pm 25^{\circ}$ C. Voir description.

Torulopsis osloensis nov. spec. (n° Ep. 934 b). Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire. Temp. opt. $20-25^{\circ}$ C. Voir description.

Torulopsis sphaerica (Hammer et Cordes) Lodder :

N° Ep. 542 a. Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire.

N° V 547 a. Isolée en 1944 d'expectorations de fibrose remarquable des poumons.

Note. — Pour les deux numéros mentionnés plus haut, on distingue un voile retardé ou précoce, respectivement chez ces deux souches et la souche-type. On fait remarquer un voile variable chez leur forme sporulante *Saccharomyces lactis* Dombrowski.

Candida aaseri nov. spec. (n° V 15). Isolée en 1931 d'expectorations d'asthme. Temp. opt. $\pm 30^{\circ}$ C. Voir description.

Candida guilliermondi (Cast.) Lang. et Guerra. (n° Ep. 881 a). Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire.

Note. — Pellicule annulaire très fine mate en extrait de malt après trois jours à 25° C.

Candida krusei (Cast.) Berkhout :

N°s

Ep. 491 b } Isolées en 1935 d'expectorations de malades suspects
Ep. 701 b } de tuberculose pulmonaire.

V 399 } Isolée en 1940 d'expectorations d'asthme.

Note. — Les trois numéros mentionnés sont en bon accord avec la souche-type.

Candida langeroni nov. spec. (n° Ep. 836 b). Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire. Temp. opt. $\pm 37^{\circ}$ C. Voir description.

Candida melibiosi Lodder et Kreger-van Rij (n° V 895). Isolée en 1952 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire.

Candida mycoderma (Reess) Lodder et Kreger-van Rij :

N°s

Ep. 734 b Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire.

V 342 a } Isolées respectivement en 1939, 1940 d'expectorations
V 474 } d'asthme.

Note. — Les trois numéros mentionnés ci-dessus sont d'accord avec la souche-type.

Candida mycoderma var. annulata nov. var. (n° V 310 b). Isolée en 1938 d'expectorations d'asthme. *Voir description.*

Candida parapsilosis (Ashf.) Lang. et Talice :

N°s

Ep. 371 a } Isolées en 1935 d'expectorations de malades suspects
Ep. 542 c } de tuberculose pulmonaire.
Ep. 969 a }

V 476 Isolée en 1940 d'expectorations d'asthme.

V 621 b Isolée en 1949 d'expectorations de poumons infiltrés.

Note. — Tous les numéros nommés ci-dessus sont positifs pour l'arbutine, sauf le n° V 476, qui est négatif.

On fait remarquer que plusieurs souches de *Candida parapsilosis* (Ashf.) Lang. et Talice sont positives pour l'arbutine et qui ne sont pas *var. intermedia*. (Communication de la *Division de Levures à Delft*).

Candida parapsilosis var. obtusa nov. var. (n° Ep. 887 a). Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire. Temp. opt. 25-37° C. *Voir description.*

Candida rugosa (Anderson) Diddens et Lodder :

N° V 44 a. Isolée en 1933 d'expectorations de bronchite.

N° V 808. Isolée en 1951 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire.

Note. — N° V 44 a est une des souches qui ne donne pas un voile précoce.

N° V 808 est en conformité avec la souche-type.

Candida rugosa var. elegans nov. var. (n° V 823). Isolée en 1951 d'expectorations de poumons infiltrés. *Voir description.*

Candida trigonopsoides nov. spec. (n° V 352 a). Isolée en 1939 d'expectorations d'asthme. Temp. opt. 30-37° C. *Voir description.*

Candida zeylanoides var. *norvegensis* nov. var. (n° Ep. 317 c). Isolée en 1938 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire. Voir description.

Trichosporon capitatum Diddens et Lodder :

- N°s
 V 39 b } Isolée en 1933 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire.
 V 195 }
 V 277 a } Isolées respectivement en 1934, 1937, 1952 d'expectorations de bronchite.
 V 893 }

Note. — N° V 893 : bronchite récidivant pendant une vingtaine d'années.

- N°s
 V 281 b } Isolées respectivement en 1937, 1940 d'expectorations
 V 417 a } d'asthme.
 V 695 } Isolées respectivement en 1950, 1951 d'expectorations
 V 786 } de poumons infiltrés.

Note. — N° V 695, déterminée par la Division de Levures à Delft.

- N°
 V 822 a } Isolée en 1951 d'expectorations de mycose pulmonaire.

Trichosporon cutaneum (de Beurm., Gougerot et Vaucher) Ota :

- N°s
 V 601 } Isolées respectivement en 1949, 1950, 1950 d'épiderme
 V 684 } d'exanthème.
 V 698 }
 V 630 } Isolée en 1949. Sang. Exanthème.
 V 602 } Isolée en 1949. Sang de dysurie.
 V 610 } Isolée en 1949. Sang de septicémie.

Note. — La souche est positive pour l'arbutine. C'est normal. Sauf une réaction divergente de formation de voile montant en éthanol, V 610 est d'accord avec la souche-type.

- N°
 V 897 b } Isolée en 1952 d'expectorations d'asthme.

Note. — La réaction de l'arbutine est positive. C'est normal. Il y a bonne concordance avec l'espèce-type, sauf un voile montant en éthanol.

Pour les espèces déterminées d'après Lodder et Kreger-van Rij, nous nous référons à la bibliographie présentée dans leur ouvrage : *The Yeasts. A taxonomic study*.

2. Les moisissures

Sporotrichum carougeai Langeron :

N^{os}

Ep. 4.097 b, isolée en 1934.

Ep. 628, isolée en 1935.

Ep. 637, isolée en 1949.

Ep. 858 b, isolée en 1952.

Les souches nommées sont isolées d'expectorations de malades suspects de tuberculose pulmonaire.

Note. — La souche Ep. 858 b a été déterminée au *Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn*.

Pour *Sporotrichum carougeai* Langeron, nous nous référons à :

Langeron M. : Un nouveau *Sporotrichum* malgache : *Sporotrichum carougeai* Langeron, 1913, et remarques sur les Sporotrichés (Extrait du *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, tome XV. Séance du 14 juin 1922. N^o 6, Paris, p. 453),

et à :

Fontoynt et Carougeau (*Bull. Soc. Path. Exot.*, t. XV, 1922, p. 444).

Geotrichum candidum Link :

Les numéros suivants sont isolés d'expectorations de malades suspects de tuberculose pulmonaire :

Ep. : 4.069, 4.082, 4.139, 4.157, 4.174 b, 4.205, isolés en 1934.

Ep. : 148 b, 203, 206 c, 211 c, 430 c, 431 a, 510 b, isolés en 1935.

N^{os} : V 199, V 209, V 210, isolés en 1934 d'expectorations d'origine inconnue.

N^o V 330 b, isolé en 1938 d'expectorations d'asthme.

N^o V 493 b, isolé en 1940 d'expectorations de bronchite.

(à suivre).