

Geotrichum et levures de la cavité buccale du chimpanzé - *Pan troglodytes* (L.)

par H. SAEZ (*) et J. RINJARD (*)

RESUME

Dans la cavité buccale de douze chimpanzés morts en captivité, les levures sont bien plus fréquentes que les champignons arthrosporés du genre *Geotrichum*. La flore levuriforme proprement dite est représentée chez 83,3 p. 100 d'entre eux. Trois candidoses ont été enregistrées chez de jeunes sujets.

Au cours de l'autopsie de quelques chimpanzés — *Pan troglodytes* (L.) — morts en captivité, nous avons pratiqué des prélèvements en divers endroits de l'organisme animal afin d'identifier, en culture, les champignons hébergés à l'état parasitaire ou non parasitaire. Nous rapportons ici les résultats des investigations de la cavité buccale relatifs aux micromycètes appartenant au genre *Geotrichum* et au groupe des levures.

MATERIEL ET METHODE

Les chimpanzés examinés font partie de la collection du Parc zoologique de Paris. Ils sont au nombre de douze : un sujet mort-né; huit sujets nés en captivité au Parc et morts âgés de 19 jours à 17 mois et demi et trois sujets importés depuis 7 ans à 11 ans et 10 mois.

Le matériel pour primo-culture est prélevé à l'aide d'un écouvillon. Pour chaque sujet, nous ensemençons deux boîtes de Petri contenant du milieu de Sabouraud glucosé à 2 p. 100 : l'une des boîtes est laissée à la température du laboratoire et l'autre incubée à 37°.

Les caractéristiques enzymologiques des souches isolées sont étudiées selon la technique de GUERRA : en tube contenant de l'eau peptonée à 1 p. 100 plus le sucre à tester au taux de 2 p. 100, avec bouchon de paraffine à la surface du milieu liquide.

Une technique en tube est également utilisée pour l'assimilation des produits carbonés : le milieu gélosé est celui indiqué par LODDER et KREGER-VAN RIJ (6); chaque tube contient un produit à tester différent au taux de 2 p. 100. La lecture finale du zymogramme et de l'auxanogramme a lieu au bout de 1 mois d'étuve à 25°.

La croissance à 30°, 35° et 37°, et la température maximale de développement sont observées sur milieu de Sabouraud glucosé 2 p. 100 pendant une quinzaine de jours.

(*) Laboratoire d'Ethologie du Muséum. Parc zoologique de Paris, 53, avenue de Saint-Maurice, Paris 12°.

RESULTATS - DISCUSSION

Résultats globaux (cf. Tableau I)

| | |
|---|-------------------|
| — Nombre de sujets examinés | 12 |
| — Nombre de sujets hébergeant des champignons | 11 ou 91,7 p. 100 |
| dont : porteurs de <i>Geotrichum</i> | 3 ou 25 p. 100 |
| porteurs de levures | 11 ou 91,7 p. 100 |
| — Nombre de souches isolées | 25 |
| dont : à l'état parasitaire | 3 |

Des champignons, plus spécialement des levures, sont hébergés par tous les sujets âgés au plus de 17 mois et demi, et même par un mort-né; en revanche, un résultat positif n'a

été obtenu que chez 2 des 3 plus vieux sujets. Nous verrons plus loin quelle signification on peut accorder à la présence des diverses espèces fongiques identifiées dans la cavité buccale de ces Primates.

TABLEAU N° I

Champignons isolés de la cavité buccale de 12 chimpanzés

| Référence | Sexe | Age | Importation | Isollements | Mycose |
|-----------|------|-------------|----------------|--------------------------|-----------|
| A 1117 | F | mort-né | | <i>D. nicotianae</i> | |
| A 2162 | M | 19 jours | | <i>G. pseudocandidum</i> | |
| | | | | <i>C. albicans</i> | |
| | | | | <i>C. krusei</i> | |
| A 2350 | M | 6 mois 1/2 | | <i>C. albicans</i> | |
| | | | | <i>C. krusei</i> | |
| | | | | <i>C. brumptii</i> | |
| A 1576 | M | 7 mois | | <i>D. nicotianae</i> | |
| | | | | <i>C. brumptii</i> | |
| | | | | <i>G. candidum</i> | |
| A 2037 | F | 9 mois 1/2 | | <i>G. candidum</i> | Candidose |
| | | | | <i>C. albicans</i> | Candidose |
| A 1901 | M | 13 mois | | <i>C. albicans</i> | |
| A 2701 | F | 13 mois 1/2 | | <i>C. albicans</i> | |
| | | | | <i>C. tropicalis</i> | |
| A 2757 | M | 14 mois | | <i>H. anomala</i> | Candidose |
| | | | | <i>C. albicans</i> | |
| | | | | <i>C. krusei</i> | |
| | | | | <i>C. tropicalis</i> | |
| A 2417 | F | 17 mois 1/2 | | <i>T. candida</i> | |
| | | | | <i>C. krusei</i> | |
| | | | | <i>C. tropicalis</i> | |
| A 2030 | F | | 7 ans | 0 | |
| A 2622 | F | | 8 ans 5 mois | <i>C. tropicalis</i> | |
| A 2446 | M | | 11 ans 10 mois | <i>H. anomala</i> | |
| | | | | <i>C. krusei</i> | |

Les *Geotrichum*

(cf. Photos 1 à 5 et Tableau II)

Les *Geotrichum* sont des champignons à thalle hyalin, septé, dont les hyphes peuvent se fragmenter totalement ou partiellement en arthrospores; ils n'ont pas de reproduction sexuée, ce qui les distingue des *Endomyces*; mais ils forment parfois des endospores, comme nous avons pu le constater chez quelques espèces de ce genre (12).

Si les éléments morphologiques sont en petit

nombre, leur plasticité, notablement influencée d'ailleurs par le milieu de culture et la température, est grande, d'où un foisonnement d'espèces dans la littérature, presque toutes décrites uniquement morphologiquement, actuellement mises pour la plupart en synonymie avec l'espèce, nommée par LINK, *G. candidum*.

Dans une publication sur le *G. candidum*, CARMICHAEL (3) qualifie de dichotomique la ramification de certaines hyphes végétatives, larges; il fait bien remarquer que cette caracté-

TABLEAU N° II
Propriétés physiologiques des espèces identifiées.

| | <i>Geotrichum candidum</i> | <i>Geotrichum pseudocandidum</i> | <i>Debaryomyces hansenii</i> | <i>Hansenula anomala</i> | <i>Torulopsis candida</i> | <i>Candida albicans</i> | <i>Candida brumptii</i> | <i>Candida krusei</i> | <i>Candida tropicalis</i> |
|-----------------------|----------------------------|----------------------------------|------------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------|---------------------------|
| Fermentation : | | | | | | | | | |
| Glucose | -/B | -/B | - | + | - | + | +f/- | + | + |
| Galactose | -/B | - | - | +/+f | - | +/- | - | - | + |
| Saccharose | - | - | - | + | - | - | - | - | + |
| Maltose | - | - | - | +/+f | - | + | - | - | + |
| Lactose | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Raffinose | - | - | - | + | - | - | - | - | +f/- |
| Inuline | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Assimilation : | | | | | | | | | |
| Glucose | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Galactose | + | + | + | + | + | + | + | - | + |
| Saccharose | - | - | + | + | + | + | - | - | + |
| Maltose | - | - | + | + | + | + | + | - | + |
| Lactose | - | - | - | - | + | - | - | - | - |
| Raffinose | - | - | + | + | + | - | - | - | +/+f/- |
| Inuline | - | - | +/- | -/+f | +/- | - | - | - | - |
| D Xylose | + | + | + | + | + | + | + | - | + |
| L Arabinose | - | - | + | +/- | + | + | - | - | + |
| D Ribose | +f/- | +f/- | +/+f | +/+f | + | - | - | - | +f/- |
| L Rhamnose | - | - | +/- | - | +/- | - | - | - | - |
| Ethanol | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Erythritol | - | - | + | + | +/- | - | - | - | - |
| Adonitol | +f/- | +f/- | + | + | + | + | + | - | + |
| Dulcitol | - | - | +/- | +f/- | +/- | - | - | - | - |
| D Mannitol | + | - | + | + | + | + | + | - | + |
| D Sorbitol | + | + | + | + | + | + | + | - | + |
| Inositol | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| NO ₃ K | - | - | - | + | - | - | - | - | - |

B = bulle; f = réaction faiblement positive.

ristique est atténuée ou absente dans quelques milieux. Enfin, dans sa discussion, il écrit « showing dichotomous branching at the margin ».

Il s'agit des images de bifurcation du sommet des filaments mycéliens, parfois de leurs collatérales les plus apicales, divisions en deux branches bien connues chez *G. candidum* parce que fréquentes dans la zone d'accroissement de la colonie. Reconnaisant l'intérêt du travail de CARMICHAEL nous ne nous arrêterions pas sur l'emploi du terme dichotomie, encore que nous trouvons plus judicieux

celui de pseudodichotomie utilisé par CARET-TA (2) si, bien souvent à présent, le développement dichotomique, et lui seul quelquefois, n'avait pris valeur de critère distinctif de *G. candidum*.

Sur plusieurs dizaines de souches, tant de collection que d'isolement récent, répondant aux mêmes caractéristiques enzymologiques et auxanographiques, nous avons noté, quant à la morphologie, que :

— En milieux riches, gélosés ou liquides, pendant les premiers jours de culture à une température de 18° à 30°, dans bien des souches



Photo 1. — Terminaisons des sommets des filaments mycéliens; nombreuses ébauches de collatérales près de l'apex. Culture de 24 heures, à 30°, sur milieu de Sabouraud glucosé. *G. candidum*, souche « *matalense* » originale du Pr Castellani.

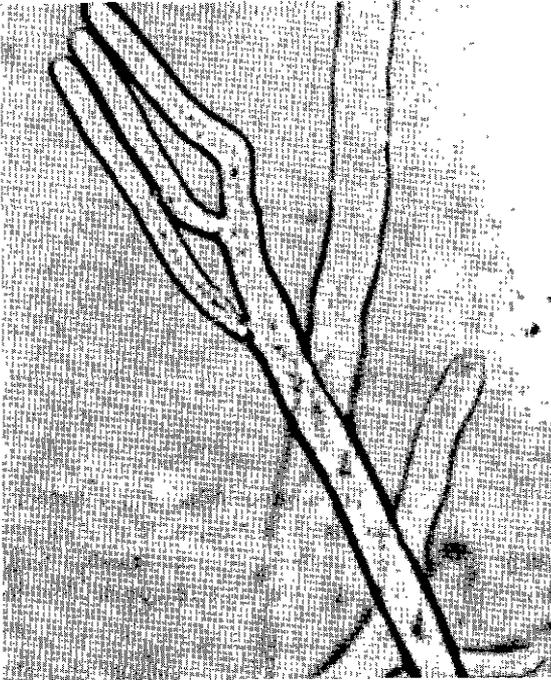


Photo 2. — Image de pseudo-bifurcation apicale due au développement d'une collatérale née près du sommet. Culture de 24 heures, à température du laboratoire, sur milieu de Sabouraud glucosé. *G. candidum*, souche « *matalense* » originale du Pr Castellani.

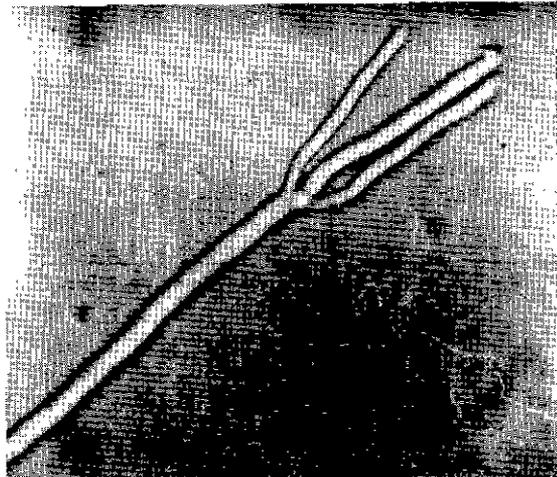


Photo 3. — Image de trident. Culture de 24 heures, à température du laboratoire, sur milieu de Sabouraud glucosé. *G. candidum*, souche « *matalense* » originale du Pr Castellani.



Photo 4. — Image pénicillée.
Culture de 10 jours, à 25°, sur milieu de Sabouraud glucosé
G. candidum, souche A 2037, isolée de la cavité buccale d'un chimpanzé.

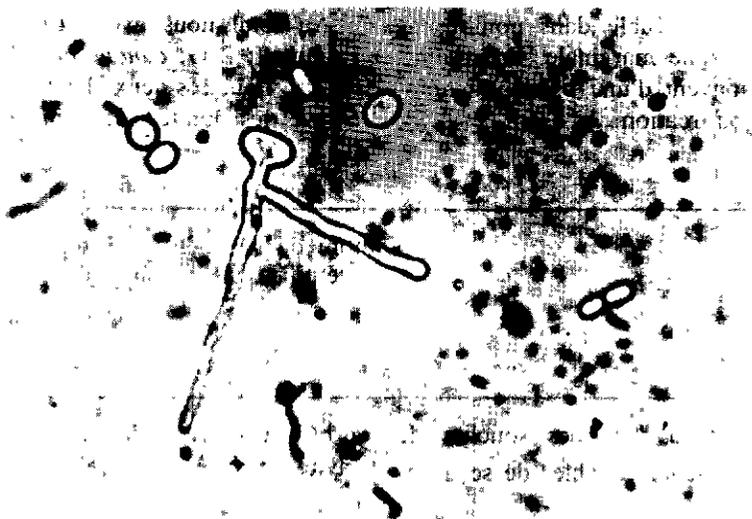


Photo 5. — Ramification du tube germinatif d'une arthrospore débutant loin de la région apicale. Culture de 27 heures, à 25°, en milieu liquide: eau peptonée-glucosée.
G. candidum, souche C.B.S. 178.30 (*O. lactis* v. *exuberans*).

la fragmentation est si intense que le tube germinatif se désarticule avant même d'avoir eu le temps de se ramifier. L'élévation de la température d'incubation freine la sporulation. Ainsi sur le milieu de Sabouraud glucosé où nous avons étudié les effets des températures infra-maximales, la croissance linéaire est lente, les colonies, à section plus convexe et à surface plus tourmentée, sont pauvres en arthrospores et constituées principalement de filaments mycéliens tortueux;

— Pendant les premiers stades de la germination des arthrospores, il est possible de voir des images diverses (tubes germinatifs émettant une ou plusieurs ramifications étagées), et parmi celles-ci des images de dichotomie qui se ramènent à la bifurcation du sommet du tube germinatif, puis à une nouvelle bifurcation des deux branches de la fourche. Mais pour autant que l'on puisse suivre les stades ultérieurs du développement, on voit des ramifications latérales apparaître presque toujours;

— C'est dans la zone périphérique d'accroissement de la colonie, où l'on ne peut examiner que les extrémités des filaments mycéliens, qu'il est aisé de noter dans toutes les souches, en nombre variable cependant, des bifurcations. Un examen attentif permettrait également de déceler des divisions du sommet en trois branches et même en quatre. Dans la plupart des cas où nous avons observé la formation de ces bifurcations, nous avons constaté qu'elles ne sont que le résultat du développement rapide d'une collatérale à partir d'un bourgeon situé près de l'apex, visible dans nombre de filaments de cette zone marginale. En somme, il s'agit le plus souvent d'une pseudo-dichotomie par pseudo-bifurcation.

Nous avons retrouvé de semblables images de pseudo-dichotomie, en moindre abondance il est vrai que chez *G. candidum*, chez *G. loubieri* Morenz et *G. Klebahnii* (Stautz) Morenz (9); et également chez maints champignons filamenteux, appartenant en particulier aux genres *Aspergillus* et *Penicillium*.

La morphologie des *Geotrichum* étant sujette à des variations, parfois profondes, en fonction de la souche, du milieu de culture et de la température d'incubation, on a cherché à s'appuyer sur des propriétés physiologiques, plus stables, pour la diagnose spécifique. Pour les anciennes souches de collection, comme pour les espèces décrites ces dernières années (2, 9, 10, 14), on connaît les caractéristiques de fermentation et d'assimilation d'un certain nombre de produits carbonés et azotés. C'est principalement par les tests d'assimilation que *G. pseudocandidum* se distingue de *G. candidum*. A l'avenir, il est possible que d'autres souches isolées soient élevées au rang d'espèce; ou bien que des espèces mises en synonymie avec *G. candidum* soient revalidées sur la base d'autres critères. Enfin, si l'on admet les caractéristiques physiologiques dans la taxonomie des *Geotrichum*, il devient inopportun d'ajouter, à la liste des synonymes de *G. candidum*, des noms d'espèces décrites uniquement morphologiquement et dont plus un seul exemplaire n'existe actuellement dans aucune mycothèque.

Au total nous avons isolé, chez les douze Primates : 2 *G. candidum* et 1 *G. pseudocandidum*. Pour ces deux champignons, nous avons trouvé les limites de températures ci-après :

| | Nombre de souches étudiées | Température maximale de développement |
|------------------------------------|----------------------------|---------------------------------------|
| <i>G. candidum</i> | 40 | 34° - 39° |
| <i>G. pseudocandidum</i> | 7 | 33° - 34° |

A 38° - 39°, 27,5 p. 100 des souches de *G. candidum* sont encore capables de se développer faiblement.

G. pseudocandidum et la majorité des souches de *G. candidum* sont incapables de contribuer

à la constitution de la flore fongique de la cavité buccale du chimpanzé.

Les levures (cf. Tableau II)

Les 22 levures identifiées se répartissent ainsi :

| | Chez 1 sujet mort-né | Chez 8 sujets âgés de moins de 2 ans | Chez 3 sujets âgés de plus de 7 ans |
|--------------------------------|-------------------------|--|---|
| <i>Debaryomyces</i> | 1 | 1 | |
| <i>D. nicotianae</i> | 1 | 1 | |
| <i>Hansenula</i> | | 1 | 1 |
| <i>H. anomala</i> | | 1 | 1 |
| <i>Torulopsis</i> | | 1 | |
| <i>T. candida</i> | | 1 | |
| <i>Candida</i> | | 15 | 2 |
| <i>C. albicans</i> | | 6 | |
| <i>C. krusei</i> | | 4 | 1 |
| <i>C. tropicalis</i> | | 3 | 1 |
| <i>C. brumptii</i> | | 2 | |
| Nombre total de souches : | 1 | 18 | 3 |

Debaryomyces nicotianae a été mis en synonymie avec *Debaryomyces hansenii* par KREGER-VAN RIJ (7). Les souches que nous avons identifiées à *Candida brumptii* correspondent à *Candida ravautii* selon la nouvelle monographie des levures (7); VAN UDEN et BUCKLEY distinguent à présent celui-ci de celui-là par quelques différences auxanographiques, la température maximale et les besoins vitaminiques. S'agissant de *Candida tropicalis*, et pour les tests d'assimilation des composés carbonés qui nous sont communs, nos résultats concordent avec ceux de KOCKOVA-KRATOCHVILOVA et collab. (4) et de VAN UDEN et BUCKLEY (7), sauf en ce qui concerne l'utilisation du raffinose : de plus en

plus nous rencontrons des souches qui utilisent, fort bien parfois mais souvent tardivement, ce sucre. MONTROCHER (8) indique pour *C. tropicalis* une réaction faiblement positive avec le raffinose.

Des 7 espèces hébergées par les chimpanzés, *C. brumptii* est la seule pour laquelle nous n'ayons pas encore recherché la température maximale de développement. Par les observations systématiques à 30°, 35° et 37°, nous savons que ce *Candida* cultive bien à 37°, et VAN UDEN et BUCKLEY attribuent à *C. ravautii* une croissance jusqu'à 36°-40°. Pour les 6 autres espèces, les limites thermiques supérieures sont les suivantes :

| | Nombre de souches étudiées | Température maximale de développement |
|--|-------------------------------|--|
| <i>Candida albicans</i> | 30 | 45° - 47° |
| <i>Candida krusei</i> | 8 | 44° - 46° |
| <i>Candida tropicalis</i> | 12 | 42° - 45° |
| <i>Hansenula anomala</i> | 15 | 37° - 40° |
| <i>Debaryomyces nicotianae</i> | 8 | 32° - 38° |
| <i>Torulopsis candida</i> | 17 | 31° - 37° |

Les caractéristiques thermiques de *Torulopsis candida* et *Debaryomyces nicotianae*, ainsi que plusieurs souches de *Hansenula anomala* cultivant mal à 37°, les rendent inaptes à se multiplier chez les animaux étudiés. La souche de *D. nicotianae*, décelée chez un mort-né, doit être considérée comme une contamination post-partum, sinon même post-mortem (conta-

mination active par des mouches ou autres insectes).

La flore levuriforme de la cavité buccale du chimpanzé, d'après notre échantillon de 12 sujets, est représentée par : *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis* et certaines souches de *H. anomala* et *C. brumptii*. Elle est présente chez 10 sujets, soit un pourcentage de positivité

de 83,3 p. 100, un des taux les plus élevés que nous ayons trouvé jusqu'à présent chez des Mammifères. Le pourcentage atteint même 100 p. 100 chez les sujets âgés de moins de 2 ans et, curieusement, s'abaisse à 66,7 p. 100 chez les plus vieux animaux (les trois importés). A remarquer également que *C. albicans* n'a été rencontré que chez les jeunes sujets.

Les Candidoses

Par trois fois, *Candida albicans* est passé au parasitisme. Il est à l'origine de :

— deux glossites intéressant principalement la base de la langue;

— et d'une mycose de toute la région pharyngée.

Les trois candidoses ont été enregistrées chez des animaux ayant des lésions pulmonaires :

— les glossites : l'une chez un sujet souffrant de bronchopneumonie et l'autre chez un sujet présentant une congestion pulmonaire;

— le muguet pharyngé chez un chimpanzé parasité massivement par des helminthes (Strongyloïdose pulmonaire et intestinale).

Enfin, les trois candidoses à *C. albicans* ont été observées chez de jeunes animaux.

La candidose bucco-pharyngée du chimpanzé a donc été constatée à l'autopsie de 25 p. 100 des sujets examinés, avec une prédilection pour les jeunes âgés de moins de deux ans, où le pourcentage s'élève à 37,5 p. 100.

SUMMARY

Geotrichum and yeasts of oral cavity of chimpanzee *Pan troglodytes* (L.)

An investigation has been gone for the fungi of the yeast genera and *Geotrichum* of the oral cavity of twelve Chimpanzees dead in captivity at the Paris's zoological Park. Three arthrosporous fungi has been identified to *G. candidum* and *G. pseudo-candidum*. Most of the strains of the first species and all that of the second cannot grow at the host's temperature. The development of *G. candidum* is that of a pseudo-dichotomous fungus. Yeasts has been found in 91,7 p. 100 of the animals, but the very yeastlike-flore in only 83,3 p. 100 of the subjects, which is a good score in the Mammals. The yeastlike-flore of the animal-population investigated was compound of: *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, and of some strains of *H. anomala* and *C. brumptii*. Three young Chimpanzees suffered of candidiasis due to *C. albicans*.

RESUMEN

Geotrichum y levaduras de la cavidad bucal del chimpancé *Pan troglodytes* (L.)

Hanse buscado, en la cavidad oral de doce Chimpances muertos en cautividad en el Parque zoológico de Paris, los hongos perteneciendo al grupo de las levaduras y al género *Geotrichum*. En cuanto a estos últimos, se identificaron a las dos especies: *G. candidum* y *G. pseudocandidum*; la mayoría de los estirpes de la primera especie y todos los de la segunda son termicamente incapaces de crecer a la temperatura del organismo animal. Se desarrolla el *G. candidum* de manera pseudodicotómica. Unos 91,7 p. 100 de los animales albergan levaduras, pero sólo 83,3 p. 100 de ellos poseen una verdadera flora fúngica, aunque este porcentaje es uno de los más altos que se ha visto en los Mamíferos. En la población animal ocasión de esta búsqueda, la flora fúngica estaba compuesta de *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, y de algunos estirpes de *H. anomala* y *C. brumptii*. Las tres candidosis a *C. albicans* han sido encontradas en tres jóvenes Chimpances.

BIBLIOGRAPHIE

1. BUTLER (E. E.), Pathogenicity and taxonomy of *Geotrichum candidum*, *Phytopathology*, 1960, **50** (9) : 665-72.
2. CARETTA (G.), Caratteristiche morfo-biologiche di ceppi fungini del genere *Geotrichum* isolati da materiale umano, *Mycopath. mycol. appl.*, 1959, **11** (3) : 217-37.

3. CARMICHAEL (J. W.), *Geotrichum candidum*, *Mycologia*, 1957, **49** (6) : 820-30.
4. KOCKOVA-KRATOCHVILOVA (A.), SANDULA (J.), VOJTKOVA (A.), POKORNA (M.), STUHLIK (V.), The genus *Candida* Berkhout. VIII. Fermentation type II species, *Folia microbiol.*, 1967, **12** : 327-44.
5. KREGER-VAN RIJ (N. J. W.), A taxonomic study of the yeast genera *Endomycopsis*, *Pichia* and *Debaryomyces*. Thèse Doctorat Université de Leyde, Pays-Bas, 1964.
6. LODDER (J.), KREGER-VAN RIJ (N. J. W.), The yeasts. A taxonomic study, 1 vol. Amsterdam, North Holland publ. Co., 1952.
7. LODDER (J.), éd. The yeasts. A taxonomic study, 1 vol. Amsterdam, North Holland publ. Co., 1970.
8. MONTROCHER (R.), Les *Candida* à pouvoir fermentaire et n'assimilant pas les nitrates. *Bull. Soc. mycol. Fr.*, 1967, **83** (3) : 641-730.
9. MORENZ (J.), Taxonomische Untersuchungen zur Gattung *Geotrichum* Link, *Mykol. Schriftenreihe*, 1964, **2** : 33-64.
10. SAEZ (H.), *Geotrichum pseudocandidum* n. sp. isolé chez un cerf d'Eld - *Rucervus eldi* (Guthrie), *Mycopath. mycol. appl.*, 1968, **34** (3-4) : 359-63.
11. SAEZ (H.), Levures isolées du tube digestif de Mammifères examinés de 1959 à 1963. Résultats en fonction de l'âge, *Ann. Inst. Pasteur*, 1969, **116** (2) : 218-36.
12. SAEZ (H.), Formation d'endospores chez *Geotrichum candidum*, *Ann. Parasit. hum. comp.*, 1969, **44** (2) : 197-204.
13. SAEZ (H.) et RINIARD (J.), Levures isolées du tube digestif de mammifères sauvages, en captivité, à régime alimentaire omnivore, *Revta Biol.*, 1969, **7** (1-2) : 13-33.
14. UDEN (N. Van), Do CARMO-SOUSA (L.) Some physiological properties of *Geotrichum candidum*, *Mycologia*, 1959, **51** (4) : 595-98.