

Koninklijke Academie voor Overzeese Wetenschappen  
Klasse voor Natuur- en Geneeskundige Wetenschappen, N.R., XVIII-4 Brussel, 1972

Les Phycomycètes pathogènes  
pour l'homme et les animaux  
en régions tropicales

PAR

J. COREMANS-PELSENEER

Assistante au Laboratoire  
de Parasitologie zoologique (U.L.B.)

250 F

Académie royale des Sciences d'Outre-Mer  
Classe des Sciences Naturelles et Médicales, N.S., XVIII-4 Bruxelles, 1972





Koninklijke Academie voor Overzeese Wetenschappen  
Klasse voor Natuur- en Geneeskundige Wetenschappen, N.R., XVIII-4 Brussel, 1972

Les Phycomycètes pathogènes  
pour l'homme et les animaux  
en régions tropicales

PAR

J. COREMANS-PELSENEER

Assistante au Laboratoire  
de Parasitologie zoologique (U.L.B.)

Académie royale des Sciences d'Outre-Mer  
Classe des Sciences Naturelles et Médicales, N.S., XVIII-4 Bruxelles, 1972

---

Mémoire présenté en réponse à la 4<sup>e</sup> question du Concours annuel 1970,  
à savoir: *On demande une étude sur les Phycomycètes pathogènes pour  
l'homme et les animaux en régions tropicales.* Il a été couronné par la  
Classe des Sciences naturelles et médicales en sa Séance du 23 juin 1970  
(Rapporteurs: MM. A. DUBOIS et J. VAN RIEL).

---

D/1972/0149/3

## RESUME

Nous avons tenté de rechercher les mécanismes de passage du saprophytisme au parasitisme pour quelques espèces de *Basidiobolus*. Nous avons isolé le champignon dans sa phase saprophytique à partir de déjections de grenouilles ainsi qu'à partir du sol.

Nous n'avons pu l'isoler ni de déjections de grenouilles maintenues à jeun ni de déjections de reptiles en captivité, ni chez les insectes d'élevage servant de nourriture à ces reptiles.

La culture du champignon est aisée et peut s'effectuer sur divers milieux de culture.

La température est un facteur important pour la spéciation; elle conditionne, au moins partiellement, le passage du saprophytisme au parasitisme. Elle est partiellement responsable de la répartition géographique des espèces.

Nous avons essayé de reproduire la maladie chez différents animaux de laboratoire et ce par diverses voies d'inoculation.

On produit, chez l'animal, un nodule sous cutané, tant avec *B. meristosporus* qu'avec *B. ranarum*.

Les résultats de cette inoculation sont très différents de ceux observés lors d'une basidiobolomycose spontanée.

Le hamster est un bon animal d'expérience.

L'évolution des lésions expérimentales a pu être suivie histologiquement.

## SAMENVATTING

Onze bedoeling was na te gaan hoe *Basidiobolus* van saprophytisme tot parasitisme overgaat. We hebben *Basidiobolus* geïsoleerd uit kikvorsendrek en uit de grond.

In drek van kikvorsen in nuchtere staat, van reptielen in gevangenschap en uit insecten gekweekt als voedsel voor reptielen, hebben we *Basidiobolus* niet kunnen vinden.

Deze schimmel wordt gemakkelijk op verschillende voedingsbodems gekweekt.

De temperatuur is een belangrijke factor voor het vaststellen der soort; voor een deel bepaalt zij mede de overgang tot parasitisme, en van haar hangt de aardrijkskundige verspreiding af.

*Basidiobolus* hebben wij experimentaal bij verschillende proefdieren en langs verscheiden inoculatiewegen ingeënt.

Experimentele inoculatie is mogelijk zowel met *B. ranarum* als met *B. meristosporus*. Een onderhuidse knobbel wordt aldus gevormd. Deze uitslagen verschillen zeer van wat men bij spontane basidiobolomycose waarneemt. Nooit bekomt men bij een proefdier een uitgebreid onderhuids letsel.

Als proefdier is de hamster goed geschikt.

Het verloop van het letsel wordt in deze studie histologisch gevolgd.

## SUMMARY

Our purpose was to study the passage from saprophytic to parasitic stage in *Basidiobolus*.

The fungi was isolated from frog dung and from the soil. We failed to isolate *Basidiobolus* from fasting frogs, from captive reptiles and from insects, bred as food for the reptiles.

Culture is easy and can be achieved on several media.

The temperature is an important factor for specific determination; it influences the passage to parasitism and the geographic distribution of the species.

Experimental inoculation was performed in different laboratory animals and by diverse routes.

*B. ranarum* and *B. meristosporus* are both pathogen; they produce a subcutaneous nodule in laboratory animals.

Results are quite dissimilar from those observed in subcutaneous basidiobolomycosis.

The hamster is a good experimental animal.

The evolution of the experimental nodules was histologically followed.

Je suis heureuse de pouvoir exprimer ma profonde gratitude à mon maître le Professeur R. VANBREUSEGHEM qui m'a initiée et m'a guidée dans l'étude de la Mycologie. Ses enseignements, ses critiques et ses conseils m'ont permis d'entamer et de poursuivre ce travail.

Mes remerciements vont au Professeur P.G. JANSSENS, Directeur de l'Institut de Médecine tropicale à Anvers, ainsi qu'au personnel de l'Institut. Mais ils sont tout particulièrement adressés aux membres du laboratoire de Mycologie sans l'aide et le dynamisme desquels, ce travail n'aurait pas été possible.

Je tiens à remercier Monsieur VAN DEN BERGHE, Directeur du Jardin zoologique d'Anvers; ainsi que tous ses collaborateurs scientifiques. Leur amabilité et leur coopération ne m'ont jamais fait défaut.

Ma gratitude envers le Docteur TRITSMAN, Directeur de l'Institut provincial d'Hygiène à Anvers, grâce à qui j'ai pu réaliser de nombreuses expériences.

Enfin, je remercie Madame DISERENS, photographe du Département de Zoologie A à l'Université Libre de Bruxelles, qui a développé et imprimé toutes mes photos.





## INTRODUCTION

Les champignons appartiennent au « Regnum fungorum » (cf. R. VANBREUSEGHEM, 1966); leur classification est néanmoins sujette à de multiples interprétations, mais généralement les cinq classes suivantes sont reconnues: Mycétozoaires, Phycomycètes, Ascomycètes, Basidiomycètes et Fungi Imperfecti.

Dans cette optique E.A. BESSEY, 1961, subdivise les Phycomycètes en 12 ordres, à savoir:

1. Chytridiales
2. Hyphochytriales
3. Blastocladales
4. Monoblépharidales
5. Lagenidiales
6. Saprologniales
7. Péronosporales
8. Protomycétales
9. Mucorales
10. Entomophthorales
11. Zoopagales
12. Ecrinales.

E.A. GAUMANN, 1952, M. LANGERON et R. VANBREUSEGHEM, 1952, ajoutent à ces ordres une classe qu'ils dénomment Archimycètes qui groupe les champignons les plus primitifs.

Pour GAUMANN les Phycomycètes se subdiviseraient en 5 ordres:

1. O. Chytridiales
2. O. Blastocladales
3. O. Monoblépharidales
4. O. Oomycétales
5. O. Zygomycétales.

Pour LANGERON et VANBREUSEGHEM, 1952, les Phycomycètes se divisent en deux sous-classes

- |                        |                         |
|------------------------|-------------------------|
| 1° S. Cl. Oomycètes:   | 1. O. Monoblépharidales |
|                        | 2. O. Saprologniales    |
|                        | 3. O. Leptomitales      |
|                        | 4. O. Péronosporales    |
| 2° S. Cl. Zygomycètes: | 1. O. Mucorales         |
|                        | 2. O. Entomophthorales. |

Pour T.A. VON ARX (1967), ces classifications ne correspondraient pas à une classification ni naturelle, ni phylogénétique.

Le terme de Phycomycètes devrait être supprimé parce que tous les champignons compris dans cette classe ne répondent pas à la définition du thalle coenocytique. Les champignons les plus évolués n'y sont pas compris; de plus, toujours selon VON ARX, et cela semble être le meilleur argument, cette classe est artificielle en ce qu'elle contient des organismes très éloignés les uns des autres.

VON ARX considère que les Eumycètes se caractérisent par l'absence de spores mobiles; la première classe de champignons vrais serait donc les Zygomycètes et dès lors la classification proposée correspondrait aux hypothèses phylogénétiques. La classification des champignons se présenterait comme suit:

- |   |                           |
|---|---------------------------|
| 1. Myxomycètes dérivant des Rhizopodes,     |                           |
| 2. Chytridiomycètes dérivant des Monadinae, |                           |
| 3. Oomycètes dérivant des Chysomonadae,     |                           |
| 4. Zygomycètes                              | } phylogénèse<br>inconnue |
| 5. Ascomycètes                              |                           |
| 6. Basidiomycètes                           |                           |
| 7. Endomycètes                              |                           |
| 8. Adélomycètes                             | ancêtre inconnu           |

#### 1. PARASITISME

Quelle que soit la classification envisagée, le terme de Phycomycose, tel qu'il est habituellement utilisé dans le vocabulaire médical et vétérinaire, désigne les mycoses par Zygomycètes ou Zygomycoses, selon SCHÖLER (1968) \*.

(\*) Les mycoses de poissons causées par des Oomycètes, de la famille des Saprologniaceae sont désignées comme des Saprolognioses ou mousses.

Deux genres de champignons en sont généralement les agents: *Achlya* et *Saprolegnia*.

Il nous semble utile dans cette introduction de définir quelques particularités du parasitisme chez les Zygomycètes et chez les champignons pathogènes en général, il existe de nombreux champignons parasites vis-à-vis des organismes vivants (animaux, végétaux). Les champignons parasites d'animaux vertébrés ont en commun le fait d'être des saprophytes ou saprobiontes; ils peuvent accidentellement passer de l'état saprophytique à l'état parasitaire (comme nous le verrons par la suite).

On ne peut dès lors parler de parasitisme au sens strict du mot. Il n'y a pas de vrai cycle parasitaire. L'étape parasitaire est un aléa qui a toutes les chances de ne pas se produire; elle constitue en général un cul de sac pour le développement du champignon.

L'épidémiologie des zygomycoses est mal connue. Pour certains champignons on peut mettre en évidence les facteurs prédisposants au passage vers le parasitisme, même si le mécanisme du passage n'est pas connu.

Les Zygomycètes se divisent en deux ordres, les Mucorales et les Entomophthorales qui comprennent chacun des genres susceptibles de parasiter les mammifères.

1. Les mycoses à Mucorales encore appelées mucormycoses, ont pour agent, des champignons appartenant aux genres: *Mucor*, *Absidia*, *Rhizopus*, et *Mortierella*.

2. *Basidiobolus meristoporus* et *Entomophthora coronata* sont les deux agents connus de mycoses par Entomophthorales.

## 2. CARACTÈRE DIFFÉRENTIEL DES ZYGOMYCOSES

1. Les *Mucormycoses* humaines ont une localisation naso-orbito cérébrale, gastro-intestinale, pulmonaire ou généralisée, sous-cutanée ou auditive. La répartition géographique est limitée à l'Europe, l'Afrique, l'Amérique; il n'y aurait pas de cas asiatique.

Le diagnostic se fait, non seulement par la culture, mais aussi par l'histologie. On observe une nécrose des tissus en contact avec le champignon. Le mycélium envahit fréquemment la lumière des vaisseaux sanguins y produisant des thrombi, il peut se dichotomiser en hyphes perpendiculaires. L'examen histologi-

que révèle une convergence totale entre les divers genres de champignons responsables de mucormycoses: on trouve de nombreux hyphes de 4 à 10  $\mu$  et d'avantage. L'épidémiologie est inconnue, mais on peut noter que la localisation coïncide avec la porte d'entrée.

Des facteurs prédisposants semblent indispensables à l'installation de la maladie. A savoir, par ordre de fréquence: les diabètes, les cancers, la malnutrition, l'antibiothérapie et des états pathologiques divers.

Le pronostic de cette maladie est généralement défavorable. La mucormycose existe chez les mammifères et a été principalement étudiée chez les animaux domestiques. Les localisations sont les mêmes que chez l'homme, mais les manifestations peuvent être aiguës ou chroniques.

Certaines Mucorales peuvent être des agents d'avortement mycotique des bovidés. Les facteurs épidémiologiques de cette mycose ont été particulièrement bien étudiés en Grande-Bretagne (P.K.C. AUSTWICK, 1960).

2. La *Basidiobolomycose* est décrite pour la première fois en 1956 par L.K. JOE, N.I.T. ENG, A. POHAN, H. VANDERMEULEN et C.W. EMMONS. Le champignon attaque les tissus sous-cutanés, il y a envahissement au niveau du thorax, du bassin, des membres dans leur partie proximale et parfois de la face.

Les cas actuellement décrits le sont aux Indes, dans le S.E. asiatique et en Afrique.

Le diagnostic se pose d'après la culture. L'examen histologique montre des hyphes rares, larges, elles sont entourées d'une zone de diffusion éosinophile; elles sont circonscrites par des polynucléaires éosinophiles. L'épidémiologie de cette mycose est inconnue, on n'a pas observé de facteurs prédisposants; les enfants en sont le plus souvent les victimes. Le pronostic de la maladie est meilleur que dans le cas de la mucormycose. L'agent responsable est *Basidiobolus meristosporus*.

Une basidiobolomycose spontanée n'a jamais pu être observée chez l'animal. Seul VAN OVEREEM, 1925, rapporte un cas suspect de basidiobolomycose chez le cheval. Nous développerons plus loin divers aspects de cette maladie.

3. *Rhinophycomycose entomophthorae*, décrite récemment elle a été confondue et l'est encore parfois avec la précédente; seule la culture du champignon permet une identification certaine. Elle est localisée au nez, aux tissus sous-cutanés et aux muqueuses de la face.

Elle a été décrite en Afrique et en Amérique du Sud.

Le diagnostic se fait par la culture. L'image histologique est superposable à celle de la basidiobolomycose. L'épidémiologie de la rhinophycomycose est inconnue; la porte d'entrée semble bien être nasale il y aurait inhalation de conidies de l'agent responsable: *Entomophthora coronata*. Cette mycose a un pronostic moins favorable que la précédente étant donné sa localisation.

Elle a été initialement observée chez le cheval aux U.S.A. et en Amérique du Sud. La localisation et l'évolution de la maladie chez l'animal sont comparables à celles de la mycose humaine.\*

Il nous est apparu que la biologie de ces champignons saprophytes ainsi que les modalités de leur passage au parasitisme étaient mal connues. La biologie du genre *Basidiobolus* EIDAM 1886 nous a particulièrement intéressé. Nous étudierons successivement la phase saprophytique de ce champignon, sa morphologie, son isolement à partir de fientes de Batraciens et de Reptiles, et à partir du sol, ses besoins en culture et les implications de cette vie saprophytique sur le passage à l'état parasitaire. Le parasitisme a été réalisé par des inoculations à l'animal de laboratoire.

---

(\*) *Hyphomyces destruens*: ce champignon serait responsable d'une rhinophycomycose du cheval; cette mycose est décrite comme comparable à la maladie causée par *Entomophthora*. Le champignon isolé est toujours pléomorphe et de ce fait n'a pas pu être identifié.

## MORPHOLOGIE

### 1. ESSAI DE DESCRIPTION DU GENRE *BASIDIOBOLUS*

Macroscopiquement la colonie est glabre à duveteuse, crème à brunâtre, souvent plissée. Un pigment jaune verdâtre peut diffuser dans le milieu chez certaines espèces (*B. ranarum*).

Une odeur d'hexachlorure de benzène peut exister dans certains isolements (*B. ranarum* *B. magnus*).

Microscopiquement on observe un mycélium coenocytique, de 3 à 20  $\mu$ , du moins dans les colonies jeunes. Ce mycélium se segmente secondairement formant des segments ou corps hyphaux, « hyphal bodies », de 30 à 250  $\mu$  de long sur 10 à 35  $\mu$  de large (*Fig. 2 et 3*).

Le mycélium peut former des chlamydospores à parois épaisses, rondes à ovales, de 25 à 80  $\mu \times 25$  à 40  $\mu$ , les parois ont 2 à 5  $\mu$  (chlamydospores pour C. DRECHSLER, 1956, cellules à parois épaisses pour E. EIDAM, 1886 et M. RACIBORSKI, 1896, cellules de repos pour I. LEVISOHN, 1927). Ces chlamydospores pourraient se résoudre en de nombreuses cellules à parois fines capables de germer en un mycélium (I. LEVISOHN, 1927).

La reproduction asexuée s'effectue par des conidies présentant deux aspects: les conidies sphériques prennent naissance sur un conidiophore érigé et de phototropisme positif de 60 à 300  $\mu \times 10$  à 15  $\mu$ . Le matériel cytoplasmique et nucléaire migre vers l'extrémité distale du conidiophore (*Fig. 5*), cette extrémité s'enfle sur 40 à 50  $\mu \times 20$  à 30  $\mu$  et produit une conidie sphérique de 20 à 45  $\mu$  (*Fig. 6, 7, 8*). La conidie est déchargée à distance (C.T. INGOLD, 1934); elle peut emporter une partie de la membrane du conidiophore. Cette conidie dite primaire peut germer en donnant soit un conidiophore surmonté d'une nouvelle conidie sphérique, en général plus petite que la conidie primaire et appelée conidie secondaire, soit un ou plusieurs conidiophores minces (deux à trois  $\mu$ ) surmontés d'une conidie al-

longée 20 à 75  $\mu$   $\times$  10 à 20  $\mu$ . Cette conidie allongée est surmontée d'un appendice adhésif de 3 à 10  $\mu$  (Fig. 9 et 10).

Les conidies sphériques ou ovales adhésives peuvent se résoudre en de nombreuses cellules ce qui justifierait le terme de sporange utilisé par certains auteurs. Ce terme nous semble ambigu; le sporange se forme classiquement au sommet du sporangiophore, la déhiscence suit. Dans ce cas nous n'avons jamais trouvé de conidie segmentée encore supportée par un conidiophore mais la segmentation suit l'émission de la conidie. La conidie adhésive ne paraît pas être déchargée violemment. Elle germe en donnant naissance à une nouvelle conidie adhésive (Fig. 11.)

La conidie sphérique et la conidie allongée adhésive peuvent chacune germer végétativement et donner naissance à une nouvelle colonie de *Basidiobolus*. (Fig. 12.)

Bien que le mécanisme de décharge de la conidie sphérique ne soit pas le même chez toutes les Entomophthoraceae, il est donné comme habituelle dans cette famille (Entomophthora, Conidiobolus...).

La reproduction sexuée s'effectue par la formation d'une zygospore; comme c'est le cas pour l'ordre des Zygomycétales (ou classe des Zygomycètes) en général. Cependant les modalités de la fusion isogamétangiale sont particulières au genre *Basidiobolus* et méritent, dès lors qu'on s'y attache. Deux hyphes uninuclées, adjacentes ou voisines développent des becs à leur point de contact (Fig. 13). Le noyau de chaque hyphe subit une mitose (E.W. OLIVE, 1907). Un noyau migre dans le bec de conjugaison et y dégénère; la paroi séparant les deux hyphes s'efface, l'un des noyaux migre dans le segment voisin, l'hyphe s'élargit, s'entoure d'une membrane épaisse les noyaux fusionnent, la zygospore est formée (Fig. 14). Cette description de la formation de la zygospore est reprise dans de nombreux manuels de mycologie, elle présente un intérêt certain au point de vue didactique car le noyau de *Basidiobolus* est très grand et peut être observé *in vivo* (Fig. 13-14). La zygospore a une taille de 20 à 45  $\mu$  (60  $\mu$  chez *B. magnus* DRECHSLER 1964) la paroi est épaisse (3 à 5  $\mu$ ) lisse ou ondulée. Les becs de conjugaison se maintiennent, surmontant la zygospore. La taille du mycélium,



des conidies, des zygosporos doit être considérée comme moyenne. En effet selon le milieu de culture, nous avons obtenu des spores de tailles différentes. Les mesures que nous donnons se rapportent à 30 mesures faites par souches sur milieux de Sabouraud et sur Corn Meal.

## 2. LES ESPÈCES DE *BASIDIOPOLUS*

*B. ranarum* EIDAM, 1886

*B. lacertae* EIDAM, 1886

*B. myxophilus* FRIES, 1899

*B. haptosporus* DRECHSLER (1947) 1956

*B. meristosporus* DRECHSLER, 1955

*B. microsporus* BENJAMIN, 1962

*B. magnus* DRECHSLER, 1964

*B. heterosporus* SRINIVASAN et THIRUMALACHAR, 1967.

Une clef dichotomique des différentes espèces pourrait s'exprimer comme suit:

- Présence de microspores
  - B. microsporus*
- Absence de microspore
  - zygosporos ondulées
    - plus de 50  $\mu$ 
      - B. magnus*
    - moins de 50  $\mu$ 
      - B. ranarum*
  - présence en plus de zygosporos lisses
    - B. heterosporus*
  - zygosporos lisses
    - croissance à 37° C
      - B. meristosporus*
    - pas de croissance à 37° C
      - B. haptosporus*

L'espèce *B. microsporus* n'est pas contestée, elle est considérée comme une bonne espèce, nous n'avons malheureusement pas étudié de souche de cette espèce.

De même *B. magnus* est bien différenciée des autres espèces par ses zygospores de grande taille.

*B. ranarum* a longtemps été considérée comme la seule espèce du genre, pour LEVISOHN par exemple, *B. lacertae* devrait tomber en synonymie avec *B. ranarum*. Dans leurs conclusions, D.L. GREER et L. FRIEDMAN, 1966, affirment que *B. ranarum* n'a pas de croissance à 37° C et c'est bien ce que nous avons observé chez les souches de *Basidiobolus* que nous avons isolées soit du sol, soit de déjections de grenouilles. Cependant chez trois souches (R.V. 22.388, R.V. 22.389, et R.V. 22.390) nous avons observé une croissance à 37° C. Ces souches nous ont été envoyées par B. CLARK, elles sont isolées respectivement d'un caméléon, d'un crapaud et du sol et présentent des zygospores ondulées caractéristiques de l'espèce. Ces trois souches ont été isolées au Nigéria et on pourrait dès lors se demander si on n'a pas affaire à une adaptation à des températures plus élevées. Nous n'avons jamais observé de zygospores ondulées dans les souches isolées de cas humains de basidiobolomycose. Jusqu'à présent *B. ranarum* n'a été isolé que comme saprophyte.

L'espèce *B. heterosporus* nous semble sujette à interprétations. En effet, en 1956, C. DRECHSLER signale qu'on peut trouver des zygospores lisses dans des cultures de *B. ranarum*; ce sont les zygospores mures, prêtes à germer. Leurs parois externes sont plus minces et ne présentent pas les trois épaisseurs caractéristiques.

Les dessins de SRINIVASAN et THIRUMALACHAR, 1967 (p. 59, fig. 1 (i)) et de DRECHSLER, 1956 (p. 666, fig. 3 G, H, I) seraient deux interprétations d'un même aspect morphologique. Seul le nombre des noyaux est différent d'un dessin à l'autre. La zygospore dessinée par SRINIVASAN et THIRUMALACHAR présente un noyau zygote tandis que la zygospore prête à germer a subi une division nucléaire (DRECHSLER, 1956). Nous avons observé des cultures présentant les deux types de zygospores. Vu le manque de constance à la production de zygospores lisses selon l'âge de la culture et selon les milieux utilisés nous avons classé de telles souches dans l'espèce *B. ranarum*.

*B. haptosporus* est indubitablement une bonne espèce et les zygospores lisses sont produites dans tous les cas. Contrairement

à ce que pensait LEVISOHN nous pensons comme DRECHSLER que *B. lacertae* de EIDAM doit tomber en synonyme avec *B. haptosporus*. D'après la nomenclature, *B. lacertae*, étant antérieurement décrit, devrait imposer son nom; cependant cette espèce a été très imparfaitement étudiée par EIDAM, elle a été décrite à partir de matériel fixé; nous conserverons donc l'espèce *B. haptosporus* décrite par DRECHSLER.

Enfin l'espèce *B. meristosporus*, qui se différencie de la précédente par une croissance à 37° C, a été décrite par DRECHSLER en 1956, année dans laquelle L.K. JOE, N.I.T. ENG, A. POHAN, H. VANDER MEULEN et C.W. EMMONS mettaient en évidence le premier cas humain de basidiobolomycose. Les souches isolées de cas humains appartiennent à l'espèce *B. meristosporus* comme il a été établi par D.L. GREER et L. FRIEDMAN, 1966, J. COREMANS-PELSENEER, 1966. Pour SRINIVASAN et THIRUMALACHAR, 1967, la croissance ou l'absence de croissance à 37° C ne serait pas un caractère suffisant pour justifier la création d'une espèce et dans ce cas *B. meristosporus* devrait être compris comme une variété de *B. haptosporus* et s'écrirait *B. haptosporus* var. *meristosporus*. Nous devons enfin signaler que, en ce qui nous concerne, nous n'avons pas pu mettre en évidence de différence significative entre les espèces du point de vue de leur reproduction asexuée; les variations en quantité de spores étaient aussi grandes entre les souches d'une même espèce qu'entre les souches d'espèces différentes.\*

---

(\*) Dans l'énumération des espèces de *Basidiobolus* nous n'avons pas repris *B. myxophilus* décrit par Fries 1899; cette espèce est considérée par tous les auteurs comme un synonyme de *B. ranarum* (R.K. Benjamin 1962).

## VIE SAPROPHYTIQUE

*Basidiobolus ranarum* a été isolé pour la première fois du contenu intestinal de grenouille par EIDAM en 1886. Ce même auteur décrit une autre espèce *B. lacertae* isolée de déjections de lézards.

De nombreux auteurs, après lui, isolèrent *B. ranarum* de déjections de grenouilles et de crapauds; tant en Europe: D.G. FAIRCHILD, 1896, W. LOWENTHAL, 1903, qu'aux U.S.A.: R. THAXTER, 1888, E.W. OLIVE, 1907... Ces différents auteurs émettaient l'hypothèse que *Basidiobolus* était un parasite voire un saprophyte de l'intestin de la grenouille, ainsi que d'autres Batraciens et Reptiles.

VANBREUSEGHEM, 1952, en parlant de la vie saprophytique des Dermatophytes dit

(...) que la terre constitue pour les Dermatophytes, et vraisemblablement pour les autres champignons pathogènes le milieu naturel par excellence, où ils vivent leur vie propre jusqu'au jour où le hasard les mettant en contact avec l'homme ou les animaux leur permet de manifester leur pouvoir pathogène.

A la lumière de cette théorie moderne du saprophytisme on peut se demander si on ne peut pas isoler des champignons partout où on les cherche. C'est ce qui se passe pour *Basidiobolus* qui, comme nous le verrons, peut être isolé de détritux végétaux et du sol. Dans cette optique *Basidiobolus* ne serait pas un parasite de la grenouille ni un saprophyte mais il se trouverait là comme ailleurs, pénétrant dans le tube digestif avec la nourriture (vers, insectes) et se retrouverait normalement dans les déjections. \*

---

(\*) Comme nous le verrons nous avons nourri des grenouilles avec des cultures de *Basidiobolus* et nous avons effectué quelques coupes histologiques dans l'intestin des grenouilles sans jamais pouvoir mettre en évidence de lésions dues aux champignons. Nous n'avons aucune donnée nous permettant de dire que *Basidiobolus* puisse être un symbiote ou un commensal du tube digestif.

Si cette hypothèse s'avérait exacte il suffirait de trouver un bon appât pour isoler *Basidiobolus*, là où il se trouve. Nous imiterions alors la technique de VANBREUSEGHEM, 1952, qui isole des Dermatophytes du sol en y plaçant un appât de kératine. Les méthodes d'isolement de *Basidiobolus* sont diverses mais toutes tirent avantage de la projection des conidies du champignon. On place l'échantillon à tester à proximité d'un milieu de culture, le champignon se développe sur l'échantillon, les conidies sont projetées et germent sur le milieu de culture. On obtient ainsi une culture pure du champignon. Si l'échantillon est liquide on peut le filtrer sur papier et placer le papier filtre à proximité d'un milieu de culture. Nous avons utilisé ces deux techniques.

#### 1. ISOLEMENTS DE CULTURES A PARTIR DE DÉJECTIONS DE GRENOUILLES (*Rana esculenta*) CAPTURÉES DANS LA NATURE OU PROVENANT DU JARDIN ZOOLOGIQUE D'ANVERS

Sur 20 grenouilles nous en avons trouvé 13 positives pour *Basidiobolus*: *B. ranarum*.

Chaque grenouille a été maintenue 24 heures dans un bocal stérile contenant 10 ml d'eau distillée et deux papiers filtre stériles. Après 24 heures l'eau et les déjections sont réparties sur 3 filtres stériles. Les deux filtres ayant séjournés avec la grenouille et les 3 filtres de répartition sont insérés dans les couvercles de boîtes de Pétri.

Nous avons considérée que toutes les colonies de *Basidiobolus* provenant d'une même grenouille appartenaient à la même souche, quel que soit le nombre de colonies obtenu, et pour autant, bien entendu, qu'elles appartiennent à la même espèce.

En effet sur les 13 souches nous avons compté 6 × de 1 à 5 colonies, 1 × de 5 à 10 colonies, 1 × de 10 à 15 colonies et 5 × plus de 30 colonies pour les 5 boîtes de Petri en incubation. Sur les 20 grenouilles 5 ont été disséquées; la partie supérieure du tube digestif et l'estomac, et l'intestin ont été broyés stérilement, nous y avons additionné 2 ml d'eau physiologique; puis nous les avons ensemencés sur 5 tubes de milieu de Sabouraud glucosé à 2 %. Trois des ensemencements provenant de l'intestin ont été positifs (*B. ranarum*).

## 2. ESSAI D'ISOLEMENT DE *BASIDIOBOLUS* A PARTIR DE GRENOUILLES MAINTENUES À JEUN DEPUIS 1 MOIS OU DAVANTAGE

Ces essais ont été effectués sur des *Rana esculenta* mâles maintenus en captivité\*. Nous avons tenté d'isoler *Basidiobolus* à deux reprises à partir de 30 grenouilles maintenues 24 heures dans les mêmes conditions que décrites précédemment. Nous n'avons jamais pu isoler de *Basidiobolus*. Déjà en 1927 I. LEVISOHN signale, dans sa thèse, que les grenouilles en hibernation n'hébergeaient pas de *Basidiobolus* dans leur tube digestif. Notre expérience confirme donc ce fait.

Nous avons tenté d'améliorer la technique de prélèvement chez la grenouille par l'emploi d'écouvillons placés dans la cavité buccale ou chloacale. Chaque écouvillon estensemencé sur milieu de Sabouraud glucosé à 2 % et sur milieu de corn meal (Difco). Dans un premier temps 50 écouvillons buccaux et 50 écouvillons chloacaux sont restés négatifs pour *Basidiobolus*.

Nous avons recommencé l'opération sur 55 *Rana esculenta* (35 femelles et 20 mâles). Nous n'avons pu obtenir qu'une seule souche *B. ranarum*. Nous avons déduit, à ce moment, que la technique était mauvaise. Les prélèvements ont été effectués en novembre et décembre. Nous devrions reprendre cette technique en période printanière ou estivale, c'est-à-dire en période de nutrition régulière pour la grenouille.

## 3. ESSAI D'ISOLEMENT DE *BASIDIOBOLUS* A PARTIR DE DÉJECTIONS DE DIVERS REPTILES MAINTENUS EN CAPTIVITÉ AU JARDIN ZOOLOGIQUE D'ANVERS

Nous avons prélevé 105 déjections soit 3 prélèvements par individu, 2 prélèvements pour certains animaux (2), les reptiles appartenaient aux espèces suivantes:

*Agkistrodon bilineatus* GUNTHER, serpent Mocassin mexicain,  
*Aspiditis melanocephalus* KREFFT, python à tête noire,  
*Atheris chloroechis* (SCHLEGEL), vipère arboricole d'Afrique,  
*Bitis gabonica* (DUMERIL et BIBRON), vipère du Gabon,

---

(\*) Pour le test de grossesse, à l'Institut Provincial d'Hygiène d'Anvers.

*Boiga dendrophila* (BOIE), boa arboricole noir et jaune (2),  
*Chalcides ocellatus* (FORSKÅLL), scinque ocellé,  
*Chameleon dilepis* LEACH, caméléon à deux lobes,  
*Constrictor constrictor* (L.), boa ordinaire ou boa commun,  
*Constrictor occidentalis* (PHILIPPI), boa occidental,  
*Cordylus giganteus* (SMITH), cordylus géant,  
*Cordylus niger*, cordylus noir,  
*Coronella austriaca* LAURENTI, couleuvre lisse,  
*Chondriopython chondriopython viridis* (SCHLEGEL), python  
arboricole d'Australie (2),  
*Egernia whitii* (LACÉPÈDE), scinque de White,  
*Elaphe vulpina* (BAIRD et GIRARD), serpent renard,  
*Epicrates sp.*,  
*Eryx johnii* (RUSSEL), javelot,  
*Eunectes murinus* (L.), anaconda, (2)  
*Heloderma suspectum* COPE, héloderme,  
*Lacerta lepida* DAUDIN, lézard ocellé,  
*Lacerta viridis* (LAURENTI), lézard vert,  
*Lampropeltis getulus getulus* (L.), serpent roi de Floride,  
*Lampropeltis getulus triangulum* (LACÉPÈDE), serpent lacté,  
*Natrix natrix* (L.), couleuvre à collier,  
*Natrix viperina* (LATREILLE), couleuvre vipérine,  
*Pseudoboia trigemina* (DUMÉRIL et BIBRON), vipère corail à 3  
bandes,  
*Python molurus* (L.), python de l'Inde,  
*Python regius* (SHAW), python royal,  
*Python sebae* (GMELIN), python de Seba,  
*Tarentola sp.*, gecko des maisons,  
*Tarentola mauritanica* (L.), gecko du désert,  
*Tiliqua gigas* (SCHNEIDER), scinque papou,  
*Chameleo jacksoni* (BOULENGER), caméléon de Jackson,  
*Tupinambis nigropunctatus* SPIX, téjus à taches noires,  
*Tupinambis teguixin* (L.), sauvegarde,  
*Vipera ammodytes* (L.), vipère ammodyte.

Tous les prélèvements sont restés négatifs pour *Basidiobolus*. Nous signalons en 1966 que cet échec pouvait être attribué, soit à l'insuffisance des techniques utilisées, soit au régime alimentai-

re particulier des reptiles en captivité. Les techniques utilisées, peuvent, en outre, se révéler insuffisantes à deux points de vue:

D'une part au niveau du prélèvement de fientes; contrairement à ce qui se passait dans les deux premières expériences nous n'avons jamais pu isoler l'animal dans un enclos stérile et prélever les fientes de 24 heures. Les fientes étaient récoltées dans les cages ce qui permettait à de nombreux contaminants de se développer dans nos boîtes de Pétri. Cette compétition entre espèces a pu masquer le développement de *Basidiobolus*. D'autre part les déjections ont été réhydratées et broyées. Il est probable, et nous tenterons de le démontrer plus loin, qu'une dessiccation plus ou moins prolongée, peut tuer une culture de *Basidiobolus* et à plus forte raison, le champignon lorsqu'il se trouve en petite quantité dans le prélèvement.

#### 4. ESSAI D'ISOLEMENT DE *BASIDIOBOLUS* À PARTIR D'INSECTES

Il s'agit d'insectes élevés au Jardin Zoologique d'Anvers pour servir de nourriture aux petits reptiles carnassiers. Cette expérience avait pour but de rechercher si les insectes n'étaient pas porteurs de *Basidiobolus*. Dans ce cas nous aurions dû le retrouver dans les déjections de reptiles.

Les prélèvements ont été effectués à 6 semaines d'intervalle, ils ont été répétés 6 fois. Les insectes ou leurs déjections ont été prélevés dans des flacons stériles puis broyés stérilement et disposés dans le couvercle de 3 boîtes de Petri retournées. Les milieux utilisés sont les suivants: synthetic mucor agar, Sabouraud glucosé à 2 %, Yp Ss. \*.

Les insectes sur lesquels nos observations ont porté sont les suivants:

(\*)

S.M.A. glucose	20	g	Yp Ss.	yeast extract	1	g
nitrate d'ammonium	0,5	g		Casamino acid	4	g
phosphate acide de K.	0,5	g		amidon soluble	8	g
sulfate de Mg. 7H <sub>2</sub> O	0,25	g		K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5	g
chlorure de thiamine	5	µg		Mg SO <sub>4</sub> ·7 H <sub>2</sub> O	20	g
Bacto agar	15	g		Bacto agar	15	g
Eau distillée q.s.	1 000	ml		Eau distillée q.s.	1 000	ml



<i>Insectes</i>	<i>Prélèvements</i>
phasmes: <i>Clitumnus extradentatus</i>	déjections
<i>Carausus morosus</i> (Brunnick)	déjections
<i>Sipylus</i> sp.	déjections
Ténébrion: <i>Tenebrio molitor</i>	3x larves
	3x litière de cages différen-
	tes
Grillon: <i>Acheta domestica</i> (L)	3x litière de cages différen-
	tes
Criquet: <i>Locusta migratoria</i>	3x litière de cages différen-
<i>migratoroïdes</i>	tes
Reiche et Fairmaire	
	3x litière de cages différen-
	tes
Fausse teigne: <i>Galleria mellonella</i>	3x larves
(L)	3x cire
	3x adultes

Nous n'avons jamais pu, ni dans les insectes, ni dans leurs déjections mettre en évidence de *Basidiobolus*; mais, comme pour les déjections de reptiles nous avons trouvé de nombreux contaminants habituels du sol, de l'air, ou du tube digestif.

Les mêmes expériences devraient être tentées avec des animaux capturés dans la nature et pouvant servir de proie à des batraciens ou à des reptiles. Nous pensons réaliser ces essais dans les prochains mois.

Remarque: les grands reptiles carnivores sont nourris de petits rongeurs d'élevage: souris ou cobaye. Dans un petit nombre de cas nous avons mis en culture des prélèvements effectués en passant un écouvillon dans la fourrure des petits rongeurs, mais jamais nous n'avons isolé de *Basidiobolus*. Il en a été de même pour les broyats de crottes.

#### *BASIDIOBOLUS* À PARTIR DE DÉTRITUS DE FEUILLES OU DE TERRE

C. DRECHSLER (1952, 1955), SRINIVASAN et THIRUMALACHAR, 1967, mettent en évidence un *Basidiobolus* isolé de détritrus de feuilles.

Ce fait prouverait qu'on peut trouver *Basidiobolus* non seulement dans l'intestin de la grenouille ou chez les insectes (LEVI-SOHN, 1927, D.L. GREER et L. FRIEDMAN, 1966) mais aussi dans les litières. Dès lors l'interprétation de la vie saprophytique de *Basidiobolus* serait plus aisée à comprendre: il n'y aurait pas de cycle ni de passage obligatoire par l'intestin de la grenouille (multiplication asexuée comme le pensait LEVI-SOHN). Peut-être *Basidiobolus* ne pourrait-il être considéré comme faisant partie de la flore intestinale normale des batraciens, comme tendrait à le démontrer notre essai d'isolement à partir des grenouilles non alimentées. De la même façon dans la nature, et ce fait reste à confirmer, les insectes, comme la grenouille, ne serviraient que de transporteurs mécaniques.

Ceci nous a conduit à rechercher *Basidiobolus* dans le milieu extérieur. Nous avons prélevé des échantillons de terre et des détritux végétaux d'une part dans des endroits fréquentés par des grenouilles, d'autre part dans des endroits où nous n'avions aucune raison de penser qu'ils étaient fréquentés par des grenouilles. Les échantillons ont été prélevés d'une part au Jardin Zoologique d'Anvers, d'autre part en forêt de Soignes à Bruxelles. Au Zoo nous prélevions les échantillons de terre et de feuilles dans l'enclos à grenouilles et à l'extérieur de l'enclos. En forêt de Soignes, à côté de l'étang dit « du pont des Chats » \* et sur la hauteur dominant cet étang.

Sur 10 prélèvements de feuilles et de détritux végétaux prélevés à côté des étangs en forêt de Soignes, deux ont été positifs pour *B. ranarum* (R.V. 16.940, R.V. 17.020). Les deux prélèvements positifs provenaient respectivement de détritux de roseaux et de feuilles de chêne.

Les 10 prélèvements de feuilles effectués en forêt de Soignes, en dehors de la zone fréquentée par les grenouilles, sont restés négatifs. Les prélèvements effectués au Zoo ont donné les résultats suivants: sur 30 prélèvements de terre ou de feuilles provenant de l'enclos à grenouilles 6 sont positifs pour *B. ranarum*

---

(\*) Parmi les grenouilles capturées dans la nature et positives pour *Basidiobolus*, certaines provenaient de l'enclos du Jardin Zoologique, d'autres de l'étang du « pont des Chats ».

(R.V. 21.477, R.V. 21.478, R.V. 21.508, R.V. 21.509, R.V. 24.346, R.V. 22.957).

Sur 20 prélèvements effectués en dehors de l'enclos 2 sont positifs pour *B. ranarum* (R.V. 24.725, R.V. 24.726).

Nous avons relevé les températures et les pH des différents sols et litières, au moment des prélèvements, dans l'espoir de mettre en évidence une température et un pH optima pour l'isolement de *Basidiobolus*. Les échantillons positifs étaient trop dissemblables pour que nous puissions en tirer une quelconque interprétation.

En conclusion nous avons obtenu des cultures de *Basidiobolus* même en l'absence de grenouilles.

#### 6. CROISSANCE ET MULTIPLICATION VÉGÉTATIVE ASEXUÉE ET SEXUÉE DE DIFFÉRENTES ESPÈCES DE *BASIDIOBOLUS* PAR DES CULTURES EN MILIEU SOLIDE OU LIQUIDE

La morphologie microscopique est observée soit par des examens directs, soit par des cultures sur lame.

Les souches de *Basidiobolus* utilisées sont les suivantes:

Numérotation	Espèces	Site d'isolement	Sources
R.V.14.188	<i>B. meristosporus</i>	340 mycose sous-cut.	Emmons
R.V.14.273	<i>B. ranarum</i>	grenouille? Eidam	1234 I.M.U.R.
R.V.14.515	<i>B. meristosporus</i>	mycose sous-cut.	Ram Dev
R.V.15.048	<i>B. meristosporus</i>	mycose sous-cut. M 5	Scholer
R.V.15.049	<i>B. meristosporus</i>	mycose sous-cut. M 50	Scholer
R.V.15.050	<i>B. meristosporus</i>	mycose sous-cut.	Scholer
R.V.15.363	<i>B. ranarum</i>	feuilles?	Apinies
R.V.15.624	<i>B. meristosporus</i>	mycose sous-cut.	E.A. 93 Clayton
R.V.15.728	<i>B. meristosporus</i>	mycose sous-cut.	Stockdale
R.V.15.729	<i>B. meristosporus</i>	mycose sous-cut. Ram Dev	Stockdale
R.V.15.730	<i>B. meristosporus</i>	mycose sous-cut.	Stockdale
R.V.15.731	<i>B. meristosporus</i>	mycose sous-cut.	Stockdale
R.V.16.072	<i>B. baptosporus</i>	feuilles?	Emmons
R.V.16.940	<i>B. ranarum</i>	détritus roseaux	J. Coremans-Pelseeneer
R.V.17.020	<i>B. ranarum</i>	feuilles chêne	J. Coremans-Pelseeneer
R.V.17.323	<i>B. meristosporus</i>	mycose sous-cut.	Murray
R.V.17.324	<i>B. meristosporus</i>	mycose sous-cut.	Murray
R.V.17.325	<i>B. meristosporus</i>	mycose sous-cut.	Murray
R.V.17.327	<i>B. meristosporus</i>	mycose sous-cut.	Murray
R.V.17.328	<i>B. meristosporus</i>	mycose sous-cut.	Murray
R.V.17.329	<i>B. meristosporus</i>	mycose sous-cut.	Murray
R.V.17.330	<i>B. meristosporus</i>	mycose sous-cut.	Murray
R.V.18.251	<i>B. ranarum</i>	pleurodèle	J. Coremans-Pelseeneer
R.V.21.477	<i>B. ranarum</i>	terre enclos grenouilles	J. Coremans-Pelseeneer

Numérotation	Espèces	Site d'isolement	Sources
R.V.21.478	<i>B. ranarum</i>	feuilles enclos grenouilles	J. Coremans-Pelseeneer
R.V.21.508	<i>B. ranarum</i>	terre enclos grenouilles	J. Coremans-Pelseeneer
R.V.21.509	<i>B. ranarum</i>	terre enclos grenouilles	J. Coremans-Pelseeneer
R.V.22.388	<i>B. ranarum</i>	caméleon	B. Clark
R.V.22.389	<i>B. ranarum</i>	crapaud	B. Clark
R.V.22.390	<i>B. ranarum</i>	sol	B. Clark
R.V.22.391	<i>B. sp.</i>	feuilles	B. Clark
R.V.22.392	<i>B. meristosporus</i>	sol	B. Clark
R.V.22.393	<i>B. meristosporus</i>	lézard	B. Clark
R.V.22.394	<i>B. meristosporus</i>	mycose sous-cut.	B. Clark
R.V.22.395	<i>B. meristosporus</i>	mycose sous-cut.	B. Clark
R.V.22.396	<i>B. meristosporus</i>	mycose sous-cut.	B. Clark
R.V.22.397	<i>B. meristosporus</i>	mycose sous-cut.	B. Clark
R.V.22.398	<i>B. meristosporus</i>	mycose sous-cut.	B. Clark
R.V.22.399	<i>B. meristosporus</i>	mycose sous-cut.	B. Clark
R.V.22.400	<i>B. meristosporus</i>	mycose sous-cut.	B. Clark
R.V.22.957	<i>B. ranarum</i>	feuilles enclos grenouilles	J. Coremans-Pelseeneer
R.V.24.272	<i>B. meristosporus</i>	Mycose sous-cut.	Gatti
R.V.24.346	<i>B. ranarum</i>	feuilles enclos grenouilles	J. Coremans-Pelseeneer
R.V.24.725	<i>B. ranarum</i>	feuilles ext. enclos grenouilles	J. Coremans-Pelseeneer
R.V.24.726	<i>B. ranarum</i>	feuilles ext. enclos grenouilles	J. Coremans-Pelseeneer
R.V.25.275	<i>B. ranarum</i>	grenouilles	J. Coremans-Pelseeneer
R.V.25.276	<i>B. ranarum</i>	grenouilles	J. Coremans-Pelseeneer
R.V.25.277	<i>B. ranarum</i>	grenouilles	J. Coremans-Pelseeneer
R.V.25.278	<i>B. ranarum</i>	grenouilles	J. Coremans-Pelseeneer
R.V.25.279	<i>B. ranarum</i>	grenouilles	J. Coremans-Pelseeneer
R.V.25.280	<i>B. ranarum</i>	grenouilles	J. Coremans-Pelseeneer
R.V.25.281	<i>B. ranarum</i>	grenouilles	J. Coremans-Pelseeneer
R.V.25.282	<i>B. ranarum</i>	grenouilles	J. Coremans-Pelseeneer
R.V.25.283	<i>B. ranarum</i>	grenouilles	J. Coremans-Pelseeneer
R.V.25.284	<i>B. ranarum</i>	grenouilles	J. Coremans-Pelseeneer
R.V.25.285	<i>B. ranarum</i>	grenouilles	J. Coremans-Pelseeneer
R.V.25.286	<i>B. ranarum</i>	grenouilles	J. Coremans-Pelseeneer
R.V.25.287	<i>B. ranarum</i>	grenouilles	J. Coremans-Pelseeneer

Nous avons utilisé des milieux usuels en mycologie et en bactériologie, à savoir, des milieux à base de peptones, de sucres, additionnés ou non de bacto-agar, des milieux de conservation: pauvres en ces divers éléments, ou à base de terre (VANBREUSEGHEM, 1967), des milieux à base de graines et des milieux spéciaux destinés à une recherche précise: milieu de fermentation, milieu à l'urée, rice cream... Nous pouvons tirer les conclusions suivantes:

1. Les milieux liquides conviennent mal à la production de spores. La reproduction asexuée est particulièrement réduite; les conidies ne peuvent être projetées à distance, elles restent attachées au mycélium.

2. Les milieux à base de graines, en général, conviennent bien au développement des *Basidiobolus*. Les formes de reproduction sexuées et asexuées y sont abondantes. Ces milieux, tels le corn meal (Difco) et farine de maïs, conviennent bien à l'identification du genre.

3. Les milieux riches, comme c'est le cas pour beaucoup de champignons, permettent surtout une croissance rapide et végétative. Le développement de mycélium seul: pléomorphisme, n'apparaît pas directement, mais le nombre de conidies et de zygospores diminue au cours des repiquages successifs. La différence entre les milieux est quantitative.

4. Le genre *Basidiobolus* est autotrophe au sens microbiologique du terme; c'est-à-dire que la croissance à lieu dans un milieu de base non additionné de vitamines, ni d'acides aminés. Nous pensons pouvoir interpréter ce fait comme une bonne adaptation à la vie saprophytique.

5. Un phénomène particulier, si non à *Basidiobolus*, du moins aux Oomycètes et Zygomycètes, est la variabilité très grande de la taille des spores selon le milieu de culture. DRECHSLER en 1956 signale également ce phénomène. Ce fait pourrait expliquer les discordances existantes entre les tailles de spores données par les différents auteurs.

6. Nous n'avons pas pu mettre en évidence de réaction macroscopique spécifiques dans le genre *Basidiobolus*. Par exemple le milieu à la tyrosine, préconisé par J.E. CUTLER et F.E. SWATEK, 1969, pour différencier les souches « humaines » (productrices de pigments noirs), des souches saprophytiques (non productrices de pigments), ne nous a pas donné de résultats nets.

## 7. TEMPÉRATURES DE CROISSANCE DU *BASIDIOBOLUS*

Nous signalions en 1966 que seules les souches « humaines » de *Basidiobolus* ainsi que les souches de *B. meristosporus* sont capables de pousser à 37° C. Ce caractère ainsi que la production de zygospores lisses permettait d'identifier les souches isolées de mycoses sous-cutanées à l'espèce *B. meristosporus*.

Nous avons poursuivi ces expériences en les étendant aux souches récemment isolées. A 37° C. toutes les souches testées, et pro-

venant de cas humains de zygomycose poussent (25 souches); ainsi que toutes les souches identifiées comme *B. meristosporus* et provenant d'isolements saprophytiques (2 souches).

La souche de *B. haptosporus* que nous possédons ne présente pas de croissance à 37° C.

Parmi les 16 souches de *B. ranarum* placées à 37° C, 10 souches ne poussent pas mais 6 souches présentent une faible croissance à cette température. 3 de ces 6 souches nous ont été fournies par B. CLARK, nous avons isolé les 3 autres du sol ou de litières.

Si nous plaçons les différentes souches de *Basidiobolus* à 7° C, nous pouvons observer qu'aucune souche isolée de basidiobolomycose ne pousse à cette température [25 souches (—)]. Il en est de même pour les deux souches de *B. meristosporus* isolées du sol.

Sur 29 souches de *B. ranarum* testées, 26 cultures ont présenté une croissance; 3 sont restées négatives: elles provenaient toutes 3 d'isolements effectués au Nigeria\*.

En conclusion nous pensons que, comme tous les êtres vivants, les différentes espèces de *Basidiobolus* ont des températures optimales de croissance au delà et en deçà desquelles la croissance est de plus en plus difficile. Pour les *Basidiobolus* les limites extrêmes de croissance se situeraient à 30° C d'écart.

Nous nous proposons dans une expérience ultérieure de définir plus précisément les limites de croissance pour chaque espèce.

Jusqu'à présent, dans les limites de notre expérience, nous remarquerons que les températures basses (7° C) permettent plus sûrement de définir si on a affaire à *B. meristosporus* que les températures élevées (37° C).

En 1966, nous signalions que des zones successives de croissance apparaissent, à l'examen macroscopique, dans les cultures de *Basidiobolus*. Nous pensions à ce moment pouvoir attribuer ce phénomène à un biorythme. Ces zones de croissance sont indépendantes de l'éclaircissement mais sont fonction de la température, comme nous le montrerons ultérieurement.

---

(\*) Tout se passe comme si *B. ranarum* avait subi une mutation lui permettant de s'adapter à des températures plus élevées.

## VIE PARASITAIRE

Comme nous l'avons dit *B. meristosporus* est connu comme agent pathogène pour l'homme depuis 1956, c'est à cette date que L.K. JOE, N.I.T. ENG, A. POHAN, H. VANDER MEULEN et C.W. EMMONS l'ont isolé d'une mycose sous-cutanée de l'homme, en Indonésie. VANBREUSEGHEM (1966) décrit la lésion comme un nodule sous-cutané, non adhérent aux muscles sous-jacents, de 1,5 à 2 cm d'épaisseur, non douloureux. Le nodule s'accroît périphériquement, les bords sont abrupts.

L'état général du malade reste bon. La peau recouvrant le nodule reste, en général, intacte. Elle peut cependant, s'ulcérer et se fistuliser dans certains cas (VANBREUSEGHEM, 1969). 90 à 95 % des patients sont des enfants, les garçons sont deux fois plus souvent atteints que les filles. Actuellement on peut estimer le nombre de cas de basidiobolomycose décrits à environ 100. Une évaluation plus précise est difficile car le diagnostic de la maladie ne repose pas toujours sur la culture. Très souvent il est posé d'après l'aspect histologique et dans ce cas il peut y avoir confusion avec la rhinophycomycose à *Entomophthora* qui montre une convergence histologique pratiquement totale avec la basidiobolomycose.

Nous nous bornerons à indiquer que le traitement ne donne pas entière satisfaction et qu'il repose sur l'emploi d'iodure de potassium, de corticostéroïdes et d'Amphotéricine B. L'évolution spontanée de la maladie est mal connue; certains malades guérissent spontanément. Nous avons dit que l'épidémiologie de cette mycose était inconnue. Certains auteurs ont proposé comme vecteur, un insecte (D.P. BURKITT, A.M.M. WILSON, D.B. JELLIFFE, 1963). LEVISOHN (1927) avait pu cultiver *Basidiobolus: B. ranarum* à partir d'insectes divers: DRECHSLER (1956), de son côté, a montré que les conidies adhésives de *Basidiobolus* adhéraient parfaitement à des Acariens, et que ceux-ci pouvaient être couverts de conidies après leur passage dans une culture.

Nous ne rejetons pas totalement ces hypothèses tentantes, mais elles manquent de preuves. On pourrait tout aussi bien imaginer qu'un simple contact avec la terre ou avec des détritux végétaux permettrait à une conidie adhésive de s'attacher à la peau. Si cette hypothèse est exacte, il semble normal que les enfants plutôt que des adultes s'infectent, et que les infections aient lieu davantage dans une population rurale qu'urbaine. Dès lors, le problème ne serait plus: comment s'infecte-t-on mais: pourquoi certains s'infectent-ils et pourquoi! R. VANBREUSEGHEM, 1968, a attiré l'attention sur les différences considérables de résistance naturelle de l'homme vis-à-vis de champignons identiques. Nous n'avons pas d'explications sur ce point en ce concerne la basidiobolomycose. Parmi les patients atteints de cette maladie, on ne peut pas mettre en évidence de facteurs favorisant comme c'est le cas chez les patients atteints de mucormycose. Ces données fragmentaires nous ont incités à étudier le pouvoir pathogène de *Basidiobolus* vis-à-vis de l'animal de laboratoire.

#### 1. ESSAI DE DIVERSES VOIES D'INOCULATION CHEZ LA SOURIS

Nous avons utilisé des souris blanches de souche N.M.R.I. âgées de 3 semaines mâles et femelles, et deux souches de *Basidiobolus* d'origines différentes:

R.V. 14.188 provenant d'une phycomycose humaine: *B. meristosporus*,

R.V. 16.940 souche isolée de détritux de roseaux: *B. ranarum*.

Nous avons employé des cultures âgées d'une semaine sur milieu de Sabouraud, après avoir prélevé la totalité de la colonie, celle-ci est broyée en présence de 10 ml d'eau physiologique afin d'assurer une bonne dispersion des spores, puis inoculée à 5 souris pour chaque voie d'inoculation, et pour chaque souche, à raison de 0,2 ml par souris, sauf pour la voie intracérébrale où nous avons injecté 0,05 ml. L'inoculum est un mélange de filaments mycéliens, de conidies et de zygospores. Leur nombre varie selon les cultures mais, généralement dans cette expérience les zygospores étaient nombreuses\*.

(\*) Des précisions sur les données numériques seront apportées dans un travail ultérieur.



L'inoculation s'est passée sans accident sauf pour la voie intra-veineuse où un nombre élevé de souris (4/10) sont mortes dans l'heure suivant l'inoculation, sans doute à cause d'embolies produits par le volume élevé du mycélium ou des spores. Ces souris ont été remplacées par d'autres. Les voies d'inoculation sont les suivantes: sous-cutanée, intra-péritonéale, intra-musculaire, intra-cérébrale, buccale et intra-veineuse. Seules les souris inoculées par voie sous-cutanée et par voie intra-musculaire ont présenté des nodules sous-cutanés visibles à l'examen clinique. Les résultats observés pour la voie sous-cutanée sont les suivants (les chiffres indiquent le nombre de souris positives):

	7 jours	14 jours	21 jours	28 jours	56 jours
R.V.14.188	4	4	2	2	1
R.V.16.940	4	4	3	2	2

Après deux mois toutes les souris sont autopsiées et les viscères, à savoir: le foie, la rate, les reins et les poumons sont fixés pour l'histologie ainsi que les nodules sous-cutanés quand ils existent. Les viscères ont toujours été négatives, nous donnerons plus loin le détail de l'examen histologique.

## 2. INOCULATION SOUS-CUTANÉE À LA SOURIS

Les résultats que nous avons obtenus pour l'inoculation sous-cutanée nous ont incité à recommencer la même expérience avec d'autres souches de *Basidiobolus*, dans les mêmes conditions expérimentales:

	après 10 jours	après 3 mois
R.V.14.188	5	(—)
R.V.14.273	4	(—)
R.V.15.624	4	(—)
R.V.15.048	3	(—)
R.V.15.049	4	(—)
R.V.15.050	2	(—)
R.V.14.515	5	(—)
R.V.15.363	3	(—)
R.V.15.728	2	(—)
R.V.15.729	3	(—)
R.V.15.730	2	(—)
R.V.15.731	3	(—)

Après 3 mois toutes les souris étaient négatives tant à l'examen clinique qu'à l'autopsie.

Après inoculation d'une culture il y a donc une réaction tissulaire qui se produit, il y a formation d'un nodule sous-cutané mais il n'y a pas généralisation de la maladie. De plus la mycose évolue vers une guérison spontanée.

3. INJECTION DE CULTURES TUÉES

Nous nous sommes demandés si la réaction avec formation d'un nodule n'était pas simplement une réaction de défense de l'organisme envers un corps étranger. Nous avons utilisé pour servir de témoin d'une part un milieu de Sabouraud glucosé à 2 % et d'autre part des broyats de culture tués par un chauffage de 30 min. à 100° C. Nous avons vérifié la mort des cultures après chauffage par des rétrocultures.

Trois souches ont été utilisées, toutes sont isolées de cas de basidiobolomycose humaine soit: R.V. 14.188, R.V. 14.515, R.V. 15.729. Elles sont âgées de sept jours et ont été inoculées par voie sous-cutanée.

10 souris ont été inoculées par groupe.

	Témoin Sabouraud	R.V.14.188		R.V.14.515		R.V.15.729	
		T.	V.	T.	V.	T.	V.
7 j.	10 × (—)	10 × (—)	7 × +	10 × (—)	5 × +	10 × (—)	4 × +
21 j.	10 × (—)	10 × (—)	3 × +	10 × (—)	3 × +	10 × (—)	3 × +
28 j.	10 × (—)	10 × (—)	2 × +	10 × (—)	2 × +	10 × (—)	2 × +
36 j.	10 × (—)	10 × (—)	2 × +	10 × (—)	1 × +	10 × (—)	1 × +

T. = culture tuée par chauffage  
 V. = culture vivante

Ce tableau montre clairement que seules les inoculations de cultures vivantes ont provoqué des lésions cutanées.

Après 15 jours une souris positive de chaque groupe est tuée; le nodule est excisé, la moitié est fixée au Bouin pour l'histologie, l'autre moitié est broyée et ensemencée. Toutes ces rétrocultures ont été négatives. Nous avons recommencé cette expérience en broyant les nodules sous-cutanés une semaine après

d'inoculation à l'animal. Dans ce cas les cultures étaient positives. Cette expérience nous a permis de tirer deux conclusions intéressantes; les nodules sous-cutanés sont bien provoqués par le *Basidiobolus* vivant puisque les cultures tuées ne provoquaient pas de lésions, la guérison spontanée se comprend, puisque après 15 jours nous ne trouvions plus de champignons vivants dans les nodules sous-cutanés.

Les souris, de cette expérience, qui avaient été inoculées par des souches de *Basidiobolus* vivant sont maintenues en observation pendant huit mois et ensuite sacrifiées. Nous n'avons pas pu observer de généralisation ni superficielle ni profonde. Une seule souris, inoculée avec la souche R.V. 15.729 présentait des nodules péritonéaux de basidiobolomycose, c'est le seul cas que nous ayons observé jusqu'à présent.

Dans certains cas de basidiobolomycose humaine la maladie semblait avoir évolué depuis de nombreux mois (F. GATTI, P. RENOIRTE, J. NOOTENS, et V. SEYNHAEVE, 1968).

#### 4. BASIDIOBOLOMYCINE?

Un produit du métabolisme de *Basidiobolus* pourrait entraîner une réaction tissulaire mais ce produit pourrait être détruit par la température.

Nous avons cultivé sur Sabouraud liquide (0,5 l) la souche R.V. 14.188 durant 8 mois, ensuite nous avons filtré stérilement le liquide de culture. Cette « basidiobolomycine » est injectée par voie sous-cutanée à 10 souris neuves d'une part, d'autre part à 23 souris guéries d'une basidiobolomycose expérimentale, elles avaient été inoculées 8 mois auparavant. Nous avons injecté, à chaque souris, 0,1 ml de basidiobolomycine et 0,1 ml de Sabouraud liquide comme témoin. Nous n'avons pas observé de modification cutanée macroscopique après 24, 48, et 72 heures.

Nous pouvons conclure que, dans les limites de cette expérience, une basidiobolomycine ne semble pas être produite dans les cultures.

#### 5. RETROINOCULATION DE SOURIS

Nous avons inoculé 10 souris par voie sous-cutanée, 5 avec la souche R.V. 14.188 et 5 avec la souche R.V. 16.940.

Après 7 jours d'évolution de la maladie nous avons prélevé les nodules réactionnels par biopsie. Les souris ayant subi l'ablation du nodule n'ont pas présenté de rechute.

Les nodules prélevés ont été broyés et réinoculés à 5 souris pour chacune des souches pré-citées. Les souris de rétroinoculation sont restées négatives. Il semble donc qu'après 7 jours une modification du champignon injecté sous la peau se soit déjà produite telle qu'elle réduit son pouvoir pathogène. En fait une analyse histologique des nodules nous montre (Cf. infra) qu'à ce stade le champignon est déjà attaqué par les polynucléaires.

#### 6. INOCULATION PAR VOIE NASALE À LA SOURIS

Comme nous l'avons vu dans la partie consacrée au saprophytisme, les conidies rondes du genre *Basidiobolus* sont projetées à distance. Cette particularité nous a fait penser que la porte d'entrée de la maladie pouvait être respiratoire. Nous avons fait des instillations nasales à 5 souris. Les souris reçoivent 0,05 ml d'un broyat de culture, l'opération est renouvelée après 48 heures. La souche utilisée est R.V. 14.515. Après 2 mois les souris sont autopsiées. Elles ne présentaient pas de lésion macroscopique ou histologique. Cette expérience semble indiquer que, chez la souris tout au moins, le champignon ne s'introduit pas par la voie respiratoire.

#### 7. SENSIBILITÉ DE DIFFÉRENTES RACES DE SOURIS

Il existe des différences de sensibilité d'une souche de souris à l'autre vis-à-vis d'un parasite. Nous avons voulu vérifier ce phénomène dans le cas de la parasitose expérimentale de la souris par *B. meristosporus*.

La souche utilisée est: R.V. 14.515 qui dans les essais antérieurs a donné des résultats positifs par voie sous-cutanée. Les souris sont d'une part les souris N.M.R.I. que nous avons utilisées pour toutes nos expériences et d'autre part la 2<sup>e</sup> génération grise résultant d'un croisement mâle gris × femelle blanche.

Après 7 jours, 4 souris blanches sur 5, et 6 souris grises sur 6 présentaient un nodule sous-cutané. De plus 1 souris grise présentait une ulcération du nodule.

Nous avons laissé évoluer la maladie. Après 3 mois, toutes les souris étaient négatives sauf 1 souris grise qui présentait des lésions extensives du dos à la cuisse. Nous avons effectué des prélèvements au niveau des ulcérations; toutes les cultures sont restées négatives pour *Basidiobolus* mais nous avons pu mettre en évidence de nombreuses colonies bactériennes. L'examen histologique était également négatif pour *Basidiobolus*. Nous pensons donc que l'infection bactérienne s'était surimposée au moment de l'ulcération du nodule. Cette expérience devrait être recommencée sur un plus grand nombre de souris et sur des souris de souches différentes.

#### 8. INOCULATION PAR L'INTERMÉDIAIRE DE MOUCHES

Comme nous l'avons dit certains auteurs ont avancé l'hypothèse d'une transmission de la maladie humaine par l'intermédiaire d'un insecte vecteur.

Nous avons donc pensé qu'une souche pourrait devenir plus virulente ou, éventuellement produire des organes de reproduction doués d'une plus grande pathogénicité en passant par un insecte. Nous avons effectué des cultures de *B. meristosporus* et *B. ranarum* sur mouches (*Musca domestica*) de la manière suivante: des mouches autoclavées 20 min à 110° C, en atmosphère humide sont placées au centre d'une boîte de Pétri, à raison de une par boîte, contenant de l'eau gélosée à 1,5 %. Nous repiquons la culture de *Basidiobolus* à env. 0,5 cm de la mouche. Celle-ci est envahie au bout de quelques jours par le champignon. Après une semaine la mouche est prélevée et placée sous la peau dorsale, d'une souris, préalablement incisée. Les lèvres de l'incision sont recousues. Nous avons utilisé comme témoin des souris inoculées par voie sous-cutanée et des souris chez lesquelles un fragment de culture (0,5 cm<sup>2</sup>) était inséré de la même façon que la mouche.

Les résultats des inoculations sont comparables à ceux que nous obtenons pour l'inoculation sous-cutanée et ceci, que nous ayons affaire à la souche R.V. 14.515: *B. meristosporus* ou à la souche R.V. 16.940: *B. ranarum*. Des expériences sont en cours dans lesquelles nous essayons de parasiter des souris à partir de mouches vivantes mises en présence de *Basidiobolus*. En conclu-

sion des cultures sur mouches ne semblent pas avoir une virulence supérieure à des cultures sur milieu de Sabourand.

#### 9. DIMINUTION DES MÉCANISMES IMMUNITAIRES DE LA SOURIS

En bactériologie on utilise la mucine gastrique pour augmenter le pouvoir pathogène de certaines bactéries vis-à-vis des animaux de laboratoire (bacille typhique par ex.). Mais les processus d'envahissement de l'organisme ne sont pas les mêmes que dans une atteinte spontanée par la bactérie (S. RAFFEL, 1953).

Le mécanisme d'action de la mucine est mal connu mais, elle aurait au moins une double action, d'une part elle est anti-complémentaire, d'autre part elle modifie la perméabilité des capillaires et diminue la phagocytose (S.S. ELBERG, 1956).

Ch. CAMPBELL et C. SASLAW, 1960, l'ont utilisée avec succès pour augmenter le pouvoir pathogène de *Histoplasma capsulatum* pour la souris. Nous avons utilisé deux solutions de mucine gastrique: 2,5 % et 5 % dans l'eau physiologique et nous l'avons injectée à raison de 0,2 ml, soit par voie intrapéritonéale soit par voie sous-cutanée à 10 souris par voie d'injection.

5 souris injectées avec de la mucine par voie intrapéritonéale ont reçu la souche de *B. meristosporus* R.V. 14.515 (culture) par voie intrapéritonéale.

5 souris injectées avec de la mucine par voie intrapéritonéale ont reçu la même culture par voie sous-cutanée.

5 souris injectées avec de la mucine par voie sous-cutanée ont reçu la culture R.V. 14.515 par voie intrapéritonéale.

5 souris injectées avec de la mucine par voie sous-cutanée ont reçu la même culture par voie sous-cutanée.

Nous n'avons obtenu aucune lésion fatale ni aucune lésion extensive. Toutes les souris inoculées par voie sous-cutanée ont présenté un nodule, mais elles guérissaient spontanément après 5 mois, qu'elles aient reçu ou non la mucine gastrique.

*Remarques:* Nous avons diminué les mécanismes immunitaires de la souris par d'autres méthodes, par exemple par l'injection de cortisone, mais les résultats obtenus ne sont pas clairs.

En conclusion, dans ces expériences, la mucine gastrique ne paraît pas augmenter le pouvoir pathogène de *B. meristosporus*.

## 10. INOCULATION CHEZ LE HAMSTER

Les hamsters inoculés par voie sous-cutanée ont guéri spontanément après avoir présenté un nodule sous-cutané analogue à celui produit par la même voie d'inoculation, chez la souris.

Nous avons inoculé 4 hamsters: 2 par voie sous-cutanée, 2 par voie intrapéritonéale, avec la souche R.V. 14.515. Les hamsters inoculés par voie sous-cutanée ont présenté un nodule sous-cutané analogue à celui produit par la même voie d'inoculation chez la souris. Le nodule s'est ulcéré du 7<sup>e</sup> au 10<sup>e</sup> jour. Après 14 jours les lésions étaient en voie de cicatrisation; après deux mois les hamsters ne présentaient plus aucune lésion.

Les hamsters inoculés par voie intrapéritonéale sont morts après 5 et 7 semaines.

Nous avons repris l'expérience en inoculant par voie intrapéritonéale les souches: R.V. 15.050, R.V. 16.940, R.V. 22.392 et R.V. 22.394 à 40 hamsters; soit 10 hamsters par souche. aux cultures âgées de 7 jours sont broyées avec 20 ml d'eau physiologique, 2 ml de ce broyat est inoculé par animal. Nous avons sacrifié et autopsié 1 hamster de chaque série aux 14<sup>e</sup>, 21<sup>e</sup>, 35<sup>e</sup> et 150<sup>e</sup> jour. Le nombre de hamsters marqués + dans le tableau indique que ces animaux présentaient au moins un nodule péritonéal ou intestinal positif, pour *Basidiobolus*, soit à l'examen histologique, soit à la culture.

	R.V.15.050	R.V.16.940	R.V.22.392	R.V.22.394
14ème j.	+	+	+	+
21ème j.	+	+	+	+
35ème j.	+	(-)	+	+
150ème j.	5 × + 2 × (-)	7 × (-)	4 × + 3 × (-)	1 × + 5 × (-) (*)

L'expérience nous a permis de constater que:

1. Le hamster est un bon animal d'expérience: il est sensible à *Basidiobolus* par voie intrapéritonéale comme par voie sous-

(\*) 1 hamster inoculé par la souche R.V.22.394 est mort au 25ème jour d'une obstruction intestinale due à *B. meristosporus*.

cutanée. Nous avons relevé les lésions suivantes: des lésions du tube digestif pouvant entraîner la mort de l'animal, mais ayant tendance à évoluer vers la guérison si aucun organe n'est envahi.

2. Les nodules péritonéaux adhèrent en général, aux viscères; ils ne sont pas libres dans la cavité péritonéale. Nous avons trouvé des nodules adhérant au foie, au pancréas, à l'intestin, aux reins et au diaphragme.

3. Le champignon se retrouve à l'intérieur du nodule, entouré d'une zone de fibrose.

4. La souche R.V. 16.940 de *B. ranarum* isolée du sol, ne provoque jamais, dans la limite de notre expérience, de lésion extensive. Nous n'avons plus trouvé de lésion, due à cette souche à partir du 35<sup>e</sup> jour.

5. Dans la première expérience d'inoculation intrapéritonéale au hamster, les deux animaux étaient morts, ce qui pouvait nous faire supposer que tous les animaux seraient atteints ou mourraient. Les animaux que nous avons tués, au 14<sup>e</sup>, 21<sup>e</sup> et 35<sup>e</sup> jour, étaient, sauf exception, des animaux d'un poids inférieur à celui des autres. Les lésions internes étaient très importantes, c'est en fonction de ces critères que nous les avons choisis pour l'autopsie. Pour établir un taux de létalité, il faudrait recommencer l'expérience sans prélever d'animaux en cours d'observation.

## 11. INOCULATION AU RAT

Nous avons inoculé des cultures de *Basidiobolus* par voie sous-cutanée à des rats blancs: 1 ml par rat. Les souches utilisées sont: R.V. 14.188, R.V. 15.050, R.V. 16.940 et R.V. 18.251. Nous avons tué un rat de chaque série aux 7<sup>e</sup>, 14<sup>e</sup>, 21<sup>e</sup>, 42<sup>e</sup> et 60<sup>e</sup> jour; chaque série comprenait 5 rats inoculés par la même souche.

Les nodules sous-cutanés ne sont visibles que jusqu'au 21<sup>e</sup> jour, à l'examen clinique, ensuite ils ne sont plus visibles mais parfois discernables à la palpation. Parmi les 20 rats autopsiés 2 rats ont été négatifs à l'autopsie: 1 rat R.V. 18.251 au 42<sup>e</sup> jour, et 1 rat R.V. 14.188 au 60<sup>e</sup> jour.

L'évolution du nodule sous-cutané nous semble plus lente chez le rat que chez la souris et ce fait serait intéressant pour



l'étude de la basidiobolomycose.

Les nodules sous-cutanés ont été prélevés, d'une part pour servir à l'histologie, d'autre part pour être broyés et ensemencés. Il est curieux de remarquer que nous n'avons jamais pu obtenir de culture à partir des broyats de nodules résultants de l'inoculation des souches R.V. 16.940 et R.V. 18.251 de *B. ranarum*, alors que nous obtenons des cultures jusqu'au 14<sup>e</sup> jour inclu à partir des rats inoculés par les souches: R.V. 14.188 et R.V. 15.050 de *B. meristosporus* isolées de cas humains de basidiobolomycose.

Tous les rats autopsiés paraissent avoir un développement normal (poids semblables à ceux des rats du même âge non inoculés) et ne présentaient aucune lésion viscérale.

Les figures 28 à 35 illustrent les étapes successives du processus inflammatoire dans un nodule sous-cutané chez le rat.

## 12. HISTOLOGIE D'UNE LÉSION EXPÉRIMENTALE DE BASIDIOBOLOMYCOSE

L'examen histologique d'une lésion humaine de basidiobolomycose montre des hyphes rares, non segmentées, parfois ramifiées de 3 à 15  $\mu$  de large. Elles sont entourées d'un halo de substance éosinophile qui permet un repérage rapide dans les tissus. Le contour externe du halo est souvent bordé de polynucléaires éosinophiles (*Fig. 18*). Lorsque le champignon est coupé transversalement on distingue aisément la cocarde formée d'épaisseurs successives: contour de l'hyphe mycélienne, zone de diffusion éosinophile, palissade de polynucléaires éosinophiles (*Fig. 19*).

Dans le cas de la lésion expérimentale, et ceci quel que soit l'animal d'expérience, il y a envahissement par des polynucléaires, principalement des éosinophiles, de la zone inoculée par le champignon. Des macrophages entourent la zone réactionnelle, un tissu fibreux s'organise, délimitant la zone d'envahissement du champignon. Peu à peu la région centrale du nodule se nécrose. Le champignon est envahi par les polynucléaires. Il y a lyse des parois, les polynucléaires pénètrent à l'intérieur de l'hyphe mycélienne. Chez la souris la phagocytose est intense,

le champignon s'accroît par son extrémité distale mais sa croissance est continuellement en compétition avec la phagocytose.

Dans des expériences ultérieures nous tenterons de réduire l'intensité de la phagocytose, en utilisant d'autres produits que la mucine gastrique, ce qui permettra probablement un développement plus intense du champignon. L'examen de la suite des figures montre les étapes successives du processus inflammatoire chez le rat.

La nécrose s'intensifie et gagne du terrain sur le champignon. Alors qu'au début seules les hyphes segmentées, vides de cytoplasme étaient attaquées, après 15 jours, le processus de destruction atteint les hyphes en croissance, et même les spores à parois épaisses telles les zygosporos.

Après 21 et 28 jours, dans la lésion expérimentale du rat, la nécrose a gagné pratiquement tout le nodule réactionnel: seules de rares hyphes sont encore visibles.

Après 60 jours la nécrose est totale à l'intérieur du nodule. La région de nécrose est entourée de tissus conjonctifs fortement vascularisés.

Chez le hamster, inoculé par voie sous-cutanée, nous observons en plus de la nécrose une formation importante de pus qui est éliminé vers l'extérieur aux environs du 7<sup>e</sup> jour.

## CONCLUSIONS

Les zygomycoses sont particulièrement intéressantes à étudier parce qu'elles peuvent nous renseigner sur les mécanismes de passage de la vie saprophytique à la vie parasitaire.

Le parasitisme par des Zygomycètes est toujours accidentel. Dans le cas particulier de la basidiobolomycose, non seulement le mécanisme de passage vers le parasitisme n'est pas connu, mais même aucun facteur favorisant le développement de la mycose n'a pu être mis en évidence.

La vie saprophytique nous renseigne sur le champignon: nous avons pu isoler *B. ranarum* de déjections de grenouilles capturées dans la nature, mais nous n'avons pas pu l'isoler de grenouilles maintenues à jeun. Les grenouilles absorbent le champignon avec le bol alimentaire. Le champignon n'est pas détruit dans leur intestin, il peut éventuellement s'y multiplier, ensuite il est restitué au monde extérieur. On ne peut donc pas parler du saprophytisme de la grenouille, ou d'autres Batraciens et Reptiles, par *Basidiobolus* comme on parle de saprophytisme de l'intestin humain par *Candida albicans* (R. VANBREUSEGHEM, 1956); puisque les grenouilles n'hébergent pas en permanence le *Basidiobolus*.

Si les insectes élevés au Jardin Zoologique d'Anvers ne nous ont pas permis de mettre en évidence de *Basidiobolus*, ni dans l'insecte, ni dans ses déjections, il est certain que dans la nature ces insectes et d'autres peuvent transporter des conidies de *Basidiobolus*. LEVISOHN par ex. avait pu isoler *Basidiobolus* à partir d'insectes capturés dans la nature.

Les reptiles maintenus en captivité et nourris d'insectes non infectés ou de souris, ou de cobayes non infectés n'ont jamais présentés de *Basidiobolus* dans leurs déjections. Ce qui semblerait appuyer notre hypothèse qui considère le tube digestif comme un lieu de passage.

Nous montrons que le champignon se trouve là où on le cherche, en l'isolant à partir de détritux végétaux et à partir du

sol. L'isolement de *Basidiobolus* à partir du sol nous permet de penser que l'homme s'infecte par un contact plus ou moins intime avec le sol plutôt que par une piqûre d'insecte ou par un autre mécanisme. C. CASAGRANDE, 1931 et R. CIFERRI, 1957 ont isolé *Basidiobolus* à partir de selles humaines.

Les milieux de culture utilisés confirment ce que nous savons pour les autres champignons, à savoir que les milieux riches augmentent la croissance mycelienne au détriment de la production de spores tandis que les milieux pauvres favorisent la production de spores. Les milieux à base de graines conviennent bien à la culture du genre *Basidiobolus*, en effet nous y retrouvons tous les types de spores. Le champignon croît même sur des milieux de base sans vitamine; ce que nous interprétons comme une bonne adaptation à la vie saprophytique.

Toutes les souches de *B. meristosporus* que nous avons observées présentaient une croissance à 37° C, cette condition est nécessaire pour passer au parasitisme, du moins chez l'homme. On observe en effet que seule cette espèce provoque une basidiobolomycose. Les autres espèces ont une croissance optimale entre 20 et 25° C, mais peuvent encore se développer à 7° C alors que l'inhibition est totale pour les souches de *B. meristosporus* nous pensons, et des expériences ultérieures devraient le prouver, que chaque espèce a une température optimale de croissance au-delà et en deçà de laquelle elle peut encore se développer mais, de plus en plus difficilement.

Ces « limites de température » expliqueraient que nous n'avons jamais pu isoler que des souches de *B. ranarum* dans la nature en Belgique; alors que, au Nigéria, B. CLARK isole également des souches de *B. meristosporus*. Remarquons à ce propos que les 3 seules souches de *B. ranarum* présentant une croissance à 37° C provenaient du Nigeria. Nous allons essayer d'isoler *B. meristosporus* en période chaude, en Belgique.

La basidiobolomycose expérimentale chez l'animal est très différente de la mycose spontanée observée chez l'homme. Nous n'avons jamais obtenu de lésion extensive envahissant les tissus sous-cutanés chez l'animal.

Les souris inoculées par voie sous-cutanée, ont présenté un nodule et ceci quelle que soit l'espèce de *Basidiobolus* utilisée.

Dans la limite de nos expériences *B. meristosporus* et *B. ranarum* semblent être responsable d'un nodule sous-cutané.

Des injections de culture tuées ou de « basidiobolomycine » n'aboutissent jamais à la formation du nodule sous-cutané.

Nous n'avons jamais pu transmettre la basidiobolomycose expérimentale de souris à souris.

L'histologie montre que le champignon est rapidement envahi par les polynucléaires, qu'une nécrose des tissus intervient et que les phagocytes envahissent rapidement les tissus limitant l'invasion par le champignon, du moins en ce qui concerne l'animal.

Chez la souris nous n'avons jamais pu observer d'autres voies d'inoculation efficaces. Il nous paraîtrait cependant intéressant de multiplier les essais sur des races différentes de souris; en effet les sensibilités varient selon les races de souris, d'après les 2 expériences que nous avons pu réaliser.

Le hamster est un bon animal d'expérience en ce qui concerne la basidiobolomycose.

Chez cet animal le champignon inoculé par voie sous-cutanée donne non seulement un nodule mais aussi une ulcération du nodule. L'inoculation intrapéritonéale aboutit à la formation de nodules péritonéaux. Ces nodules ont des localisations variables, ils peuvent adhérer aux différents viscères. Nous avons de plus observés quelques cas de mort par obstruction intestinale. L'évolution de la maladie chez le hamster, bien que différente de celle de la maladie humaine, est intéressante et pourra peut-être nous donner des indications utiles en ce qui concerne l'épidémiologie et le traitement de la basidiobolomycose spontanée.

Enfin le rat présente une basidiobolomycose expérimentale d'évolution plus lente que celle de la souris. Seules les souches pathogènes pour l'homme ont donné des rétrocultures positives à partir des nodules sous-cutanés de rats. Le rat peut donc aider à la détermination de l'espèce de *Basidiobolus*.

L'évolution des lésions a été étudiée histologiquement, dans ce cas encore les résultats expérimentaux sont fort différents de l'observation histologique des lésions de la maladie spontanée. Le processus de phagocytose et d'envahissement du champignon

par les polynucléaires donnent des indications sur les mécanismes de défense de l'hôte, mais des recherches immunologiques seraient nécessaires.

Travail effectué au laboratoire de Mycologie  
de l'Institut de Médecine Tropicale à Anvers.  
Directeur du laboratoire: Pr. Dr. R. VANBREUSEGHEM.  
Directeur de l'Institut: Pr. Dr. P.G. JANSSENS.  
Et au laboratoire de Parasitologie zoologique  
de l'Université Libre de Bruxelles.  
Directeur du laboratoire: Pr. Dr. R. VANBREUSEGHEM.

## BIBLIOGRAPHIE

1. AUSTWICK, P.K.C., VENN, J.A.J.: Mycotic abortion in England and Wales, 1954-1960. Proc. IV Internat. Congress Animal reproductions, The Hague, 562-568, 1961.
2. BAKER, R.D.: Tissues changes in fungus diseases, *Arch. Path.*, 44, 459-466, 1947.
3. BAKER, R.D., SCABURY, J.H., SCHNEIDAU, J.P.: Subcutaneous and cutaneous mucormycosis and subcutaneous phycomycosis. Internat. Symp. Opportunistic Fungus Infections, *Lab. Investig.* 11, 1 091-1 102, 1962.
4. BASSET, A., CAMAIN, R., LARIVIERE, M.: 3 cas sénégalais de phycomycose. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 56, 108-112, 1963.
5. BENJAMIN, R.K.: A new *Basidiobolus* that forms microspores. *Aliso*, 5, 223-233, 1962.
6. BESSEY, E.A.: Morphology and Taxonomy of Fungi. Hafner Publ. Co., New-York, 1961.
7. BLACHE, A., DESTOMBES, P., NAZIMOFF, O.: Nouvelle mycose sous-cutanée au Sud Cameroun. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 54, 56-63, 1961.
8. BRIDGES, C.H., EMMONS, C.W.: A phycomycosis of horses caused by *Hyphomyces destruens*. *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, 138, 579-589, 1961.
9. BRIDGES, C.H., ROMANE, W.M., EMMONS, C.W.: Phycomycosis of horses caused by *Entomophthora coronata*. *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, 140, 673-677, 1961.
10. BURKITT, D.P., WILSON, A.M.M., JELLIFFE, D.B.: Sub-Cutaneous phycomycosis. *East African Med. J.*, 40, 34-38, 1963.
11. BURKITT, D.P., WILSON, A.M.M., JELLIFFE, D.B.: Subcutaneous phycomycosis: A Review of 31 cases seen in Uganda. *Brit. Med. J.*, 1 669-1 672, 1964.
12. CAMPBELL, Ch., SALSLOW, S.: Use of mucin in experimental infections of mice with *Histoplasma capsulatum*. *Proc. Soc. Exp. Biol. N.Y.*, 73, 469-472, 1950.
13. CASAGRANDE, C.: Sulla presenza di *Basidioboli* nell'uomo. *Rev. Biol.*, 13, 1-8, 1931.
14. CHARLES, V.K.: A preliminary check list of the entomogenous fungi of North America. *Bur. Plant. Ind. Insect. Pest Survey Bull.*, 21, 770-785, 1941.
15. CIFERRI, R.: Isolamento del *Basidiobolus ranarum* da feci umane, *Atti Ist. Bot. Univ. Pavia*, 5, 15, 73-79, 1957.

16. COREMANS-PELSENEER, J.: Contribution à l'étude du genre *Basidiobolus* Eidam 1886. *Bull. Acad. Roy. Belgique*, 52, 775-780, 1966.
17. — : Contribution à l'étude du genre *Basidiobolus*. *Ann. Soc. Belg. Med. Trop.*, 46, 433-440, 1966.
18. CUTLER, J.E., SWATEK, F.E.: Pigment production by *Basidiobolus* in the presence of tyrosine. *Mycologia*, 61, 130-135, 1969.
19. DELLA TORRE, B.: Experimental phycomycosis in rodents. *Mycopathol. Mycol. appl.*, 26, 417-452, 1965.
20. DRECHSLER, C.A.: A *Basidiobolus* producing elongated secondary conidia with adhesive beaks. *Bull. Torrey Bot. Club.*, 74, 403-413, 1947.
21. — : Widespread distribution of *Delacroixia coronata* and other saprophytic entomophthoraceae in plant detritus. *Science*, 115, 575-576, 1952.
22. — : Two species of *Basidiobolus* widely distributed in leaf molds. *Phytopathology*, 42, 341, 1952.
23. — : Production by *Basidiobolus* spp. of odor familiar in *Streptomyces* spp. and in benzine hexachloride. *Phytopathology*, 43, 405, 1953.
24. — : A Southern *Basidiobolus* forming many sporangia from globose and from elongated adhesive conidia. *J. Washington Acad. Sc.*, 45, 49-56, 1955.
25. — : Supplementary developmental stages of *Basidiobolus ranarum* and *Basidiobolus haptosporus*. *Mycologia*, 48, 655-676, 1956.
26. — : Formation of sporangia from conidia and hyphal segment in an Indonesian *Basidiobolus*. *Amer. J. Botany*, 45, 632-638, 1958.
27. — : An odorous *Basidiobolus* often producing conidia plurally and forming some declinuous sexual apparatus. *Am. J. Botany*, 51, 770-779, 1964.
28. EIDAM, E.: *Basidiobolus* eine neue Gattung der Entomophthoraceen. *Beitrage Biol. Pflanzen*, 4, 181-251, 1886.
29. ELBERG, S.S.: Factors affecting resistance to infection. *Ann. Rev. Microbiol.*, 10, 1-, 1956.
30. ELEBUTE, E.A., OKUBADEJO, O.A.: Subcutaneous phycomycosis in a Nigerian. *W. Afr. Med. J.*, 11, 217-220, 1962.
31. EMMONS, C.W., JOE, L.K., ENG, N.I.T., POHAN, A., KERTOPATI S. *Basidiobolus* and *Cercospora* from human infections, *Mycologia*, 49, 1-10, 1957.
32. EMMONS, C.W., BRIDGES, C.H.: *Entomophthora coronata*, the etiologic agent of a phycomycosis in horses. *Mycologia*, 53, 307-312, 1961.
33. EMMONS, C.W.: Phycomycosis in man and animals. *Rev. Pat. Veg. Pavia*, 4, 1964.
34. FAIRCHILD, D.G.: Über Kerntheilung und Befruchtung bei *Basidiobolus ranarum* Eidam. *Jahrb. Wiss. Bot.*, 30, 285-296, 1896.



35. FITZPATRICK, H.M.: The Lower Fungi Phycomycetes. Ed. McGraw-Hill Book Co., Inc. N.Y., 1930.
36. FRIES, R.E.: *Basidiobolus myxophilus* en ny phycomycet. *Bih. Svenska vet. akad. handl.*, 25, 1-15, 1899.
37. — : Vad är *Basidiobolus myxophilus*? *Sv. Bot. Tidskr.*, 23, 149-150, 1929.
38. GALLAUD, I.: Etudes sur une Entomophthorée saprophyte. *Ann. Sc. Nat. Bot.*, 9, 101-134, 1905.
39. GAMET, A., BROTTES, H.: Processus pseudo tumoral dû à un phycomycète: *Basidiobolus ranarum*. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 56, 285-287, 1963.
40. GATTI, F., RENOIRTE, P., NOCTENS, J., SEYNHAEVE, V.: Premier cas de phycomycose sous-cutanée due à *Basidiobolus meristosporus* observé en République Démocratique du Congo. *Ann. Soc. Belge Med. Trop.*, 48, 455-462, 1968.
41. GAUMANN, E.A.: The fungi. Hafner Publishing Co, N.Y.-London, 1952.
42. GIARD, M.: Note sur deux types d'Entomophthorées *Empusa fresenii* Now. et *Basidiobolus ranarum* Eidam suivi de la description de quelques espèces nouvelles. *Comptes rendus sc. soc. biol.*, Paris 5; 783-787, 1888.
43. GREER, D.L. FRIEDMAN, L.: Effect of temperature on growth as a differentiating characteristic between human and nonhuman isolates of *Basidiobolus* species. *J. Bact.*, 88, 812-813, 1964.
44. —, — : Studies on the Genus *Basidiobolus* with a reclassification of the species pathogenic for man. *Sabouraudia*, 4, 231-241, 1966.
45. —, — : Antigenic relationships between the fungus causing subcutaneous phycomycosis and saprophytic isolates of *Basidiobolus meristosporus* and *B. ranarum*. *Sabouraudia*, 5, 7-13, 1966.
46. —, BARBOSA, M.E.: Some chemical constituents of cell-bound and extracellular polysaccharids of *Basidiobolus ranarum*, isolated from subcutaneous phycomycosis. *Sabouraudia*, 5, 329-334, 1967.
47. GRUEBER, H.L.E.: Subcutaneous phycomycosis in India. *J. Christian Med. Ass. India*, 41, 284-290, 1966.
48. HARMAN, R.R.M., JACKSON, H., WILLIS, A.J.P.: Subcutaneous phycomycosis in Nigeria, *Brit. J. dermat.*, 76, 408-420, 1964.
49. THASNAKORN, P., SRIBOONA, V., CHATARAKUL, N., BHADRAKOM, S.: Subcutaneous mycosis due to *Basidiobolus meristosporus*. Report of a case. *J. Med. Ass. Thailand*, 52, 372-377, 1969.
50. HOO, T.T., ENG, N.I.T., JOE, L.K.: Two new cases of subcutaneous phycomycosis found in Indonesia. *Derm. Trop.*, 1, 23-29, 1962.
51. INGOLD, C.T.: The spore discharge mechanism in *Basidiobolus ranarum*. *New Physiologist*, 33, 274-277, 1934.
52. IVE, F.A.: Subcutaneous phycomycosis. Report of a case and assessment of treatment with Amphotericine B. *Derm. Int.*, 5, 203-205, 1966.

53. JELIFFE, D.B., BURKITT, D.P., O'CONNOR, G.T., BEAVER, P.C.: Subcutaneous phycomycosis responding by oral iodid therapy. *J. Pediatr.*, 59, 124, 1961.
54. JOE, L.K., ENG, N.I.T., POHAN, A., VANDER MEULEN, H., EMMONS, C.W.: *Basidiobolus ranarum* as cause of subcutaneous mycosis in Indonesia. *Arch. Derm.*, 74, 378-383, 1956.
55. —, —, SUTOMO TIOKRONEGRO, EMMONS, C.W.: Phycomycosis in Indonesia description of a case affecting the subcutaneous tissues. *Am. Trop. J. Med. Hyg.* 9, 143-148, 1960.
56. —, — : Subcutaneous phycomycosis: a new disease found in Indonesia. *Ann. N.-Y. Acad. Sc.*, 89, 1960.
57. —, — : Phycomycosis in tropical countries. *Med. J. Malaya*, 16, 206-213, 1962.
58. —, TOPO HARSONO RUKMONO, ENG, N.I.T. Subcutaneous phycomycosis in man in Indonesia: description of three new cases. *J. Trop. Med. Hyg.*, 65, 38, 1962.
59. KLOKKE, A.H., JOB, C.K., WARLOW, P.F.M.: Subcutaneous phycomycosis in India. Report of four patients with a review of the disease. *Trop. Geogr. Med.*, 18, 20-25, 1966.
60. LAKON, G.: Über die systematische Stellung der Pilzgattung *Basidiobolus* Eidam. *Jahrb. Wiss. Bot.*, Bd. 65, 1926.
61. LANGERON, M., VANBREUSEGHEM, R.: Précis de mycologie. Ed. Masson et Co., Paris 1952.
62. LEVISOHN, I.: Inaugural Dissertation zur Erlangung der Doktorwundes der Naturwissenschaftlichen: Facultät zur Entwicklungsgeschichte und Biologie von *Basidiobolus ranarum* Eidam. Leipzig, Verlag von Gebrüder Boontraeger, 1927.
63. — : Beiträge zur Entwicklungsgeschichte und Biologie von *Basidiobolus ranarum* Eidam. *Jahrb. Wiss. Bot.*, 66, 513-555, 1927.
64. LOEWENTHAL, W.: Beiträge zur Kenntnis des *Basidiobolus lacertae* Eidam. *Arch. Protistenk.*, 2, 320-364, 1903.
65. LYNCH, J.B., HUSBAND, A.D.: Subcutaneous phycomycosis. *J. Clin. Path.*, 15, 126-132, 1962.
66. MANKOWSKI, Z.T.: The experimental pathogenicity of various species of *Candida* in swiss mice. *Trans. N.-Y. acad. Sc.*, 19, 548-570, 1957.
67. MUKERJI S., GORE, S.B., MANSUKHAN, S.N., KINI, V.D.: Subcutaneous phycomycosis. *Indian J. Child Health*, 11, 502-504, 1962.
68. MUKERIJ, S.: Subcutaneous phycomycosis. *Brit. Med. J.*, 1 009-1 010, 1964.
69. MULLER, E., LOEFFLER, W.: Mykologie. G. Thieme Verlag, Stuttgart, 1968.
70. NOVAK, W.: Untersuchungen an *Basidiobolus ranarum* Eidam, *Arch. Protistenk.*, 69, 195-234, 1930.
71. OLIVE, E.W.: Cytological studies on the Entomophthoraceae. *Bot. Gaz.*, 41, 192-208, 229-261, 1906.

72. — : Cell and nuclear division in *Basidiobolus*. *Ann. Mycol.*, 5, 404-418, 1907.
73. PELOUX, Y., FOUCARD, H.: La phycomycose. *Med. Trop.*, 24, 447-452, 1964.
74. RACIBORSKI, M.: Mykologische Studien Kariokinese bei *Basidiobolus ranarum* Eidam, *Anz. Ak. Wiss. Krakau*, 1896.
75. — : Über den Einfluß äußerer Bedingungen auf die Wachstumsweise des *Basidiobolus ranarum*. *Flora*, 82, 107-132, 1896.
76. SAWYER, W.H.: Observations on some entomogenous members of the Entomophthoraceae in artificial cultures. *Am. J. Bot.*, 16, 87-121, 1929.
77. RAFFEL, S.: Immunity. 2d ed. Appleton century Crofts Inc. N.-Y., 1953.
78. RAPPER, A.: A subcutaneous granuloma of unknown aetiology. *E. Afr. Med. J.*, 33, 365, 1956.
79. ROBINOW, C.F.: Observation on cell growth mitosis and division in the fungus *Basidiobolus ranarum* *J. Cell. Biol.*, 17, 123-152, 1963.
80. SEGRETAIN, G., DESTOMBES, P.: Les phycomycoses africaines à *Basidiobolus*, *Bull. Soc. franç. Mycologie Med.*, 7, 1964.
81. SCHOLER, C.: Les phycomycoses. Conférences à l'Institut de Médecine tropicale à Anvers, 1968.
82. SRINIVASAN, M.C., THIRUMALACHAR, M.J.: *Basidiobolus* species pathogenic for man. *Sabouraudia*, 4, 32-34, 1965.
83. —, — : Studies on *Basidiobolus* species from India with discussion on some of the characters used in speciation of the genus. *Mycopath. Mycol. appl.*, 33, 56-64, 1967.
84. —, — : On the identity of human pathogenic *Basidiobolus*. *Hindustan Antibiot. Bull.*, 10, 191-193, 1968.
85. STRAUSS, R.E., KLIGMAN, A.M.: The use of gastric mucine to lower resistance of laboratory animals to systemic fungus infection. *J. Infect. Dis.*, 88, 151-155, 1951.
86. SYMMERS, W.St.C.: Mucormycotic granuloma possibly due to *Basidiobolus ranarum*. *Brit. Med. J.*, 1, 5182, 1 331-1 333, 1960.
87. — : Further cases of exotic mycosis seen in Britain; histoplasmosis, chromoblastomycosis, rhinosporidiosis and phycomycosis. *Trans. roy. Soc. Trop. Med., Hyg.*, 55, 201-208, 1961.
88. — : Histopathologic aspects of the pathogenesis of some opportunistic fungal infections as exemplified in the pathology of Aspergillosis and Phycomycosis. *Lab. Invest.*, 11, 1 073-1 090, 1962.
89. — : The occurrence of deep-seated fungal infections in general hospital practice in Britain today. *Proc. roy. Soc. Med.*, 57, 405-411, 1964.
90. — : The tissue reactions in deep-seated mycosis. The role of histological examination in mycological diagnosis. *Ann. Soc. belge Med. Trop.*, 44, 869-930, 1964.

91. THAXTER, R.: The Entomophthoraceae of the United States. *Mem. Boston. Soc. Nat. Hist.*, 4, 133-201, 1888.
92. TIO, T.H.: Subkutane Phycomycose *Aestht. Med.* (Berlin) 14, 111-116, 1965.
93. TIO, T.H., DJOJOPRANOTO, M., ENG, N.I.T.: Subcutaneous phycomycosis. *Arch. Derm.*, 93, 550-553, 1966.
94. TUNNELL, N., GRUEBER, H.L.E., SAMUEL, I.: Subcutaneous phycomycosis. *J. Indian Med. Ass.*, 51, 355-357, 1968.
95. ULEHLA, U., MORAVEK, V.: Über die Wirkung von Sauren und Salzen auf *Basidiobolus ranarum* Eidam. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.*, 40, 1922.
96. VANBREUSEGHEM, R.: Le cycle biologique des Dermatophytes. VI Cong. Internat. Patol. comparada, Madrid, 135-139, 1952.
97. — : Les mycoses post antibiotiques. *Bruxelles Med.*, 36, 1 887- 1998, 1956.
98. — : La vie saprophytique des dermatophytes. *Ann. Derm. Syph.*, 87, 481-492, 1960.
99. — : Guide pratique de mycologie médicale et vétérinaire. Masson et Co, Paris, 1966.
100. — : La résistance naturelle aux mycoses. *Bruxelles Med.*, 10, 629-638, 1968.
101. — : Communication personnelle, 1969.
102. VAN OVEREEM: Maladie granulomateuse par *Basidiobolus ranarum* chez un cheval. *Bull. Jard. bot. Buitenz.*, 423-431, 1925.
103. VILLASCO, J., CAMAIN, R., MAZERE, J., SEGRETAIN, G.: Isolement d'un deuxième cas de phycomycose en Côte d'Ivoire avec isolement de la souche. *Bull. Soc. Path. exot.*, 59, 781-786, 1966.
104. VON ARX, J.A.: Pilzkunde. 3 301. Lehre Verlag J. Cramer, 1967.
105. WARCUP, J.H.: The soil plate method for isolation of fungi from soil. *Nature London*, 166, 117-118, 1950.
106. WAKSMAN, S.A.: Do fungi live and produce mycelium in the soil? *Science*, 44, 320-322, 1916.
107. WELCHMAN, J.M.: Subcutaneous phycomycosis. *Brit. Med. J.*, 2, 191, 1964.
108. WILSON, A.M.M.: Two phycomycetes isolated from subcutaneous phycomycosis in Uganda. *Nature*, 191, 612, 1961.
109. WOYCICKI, Z.: Einige erklärende Worte zur Kritik meiner Abhandlung. Neue Beiträge zur Entwicklungsgeschichte von *Basidiobolus ranarum* Eidam, *Flora*, 99, 1907.



## SOMMAIRE

Résumé . . . . .	3
Samenvatting . . . . .	3
Summary . . . . .	4
I. Introduction . . . . .	7
1. Parasitisme . . . . .	8
2. Caractères différentiels des zygomycoses . . . . .	9
II. Morphologie . . . . .	12
1. Essai de description du genre <i>Basidiobolus</i> . . . . .	12
2. Les espèces de <i>Basidiobolus</i> . . . . .	14
III. Vie saprophytique . . . . .	17
1. Isolement à partir de grenouilles . . . . .	18
2. Isolement à partir de grenouilles à jeun . . . . .	19
3. Isolement à partir de déjections de Reptiles . . . . .	19
4. Isolement à partir d'Insectes . . . . .	21
5. Isolement à partir de feuilles et de terre . . . . .	22
6. Croissance et multiplication en culture . . . . .	24
7. Températures de croissance . . . . .	26
IV. Vie parasitaire . . . . .	28
1. Voies d'inoculation à la souris . . . . .	29
2. Inoculation sous-cutanée à la souris . . . . .	30
3. Injection de cultures tuées . . . . .	31
4. Basidiobolomycine? . . . . .	32
5. Rétroinoculation de souris . . . . .	32
6. Inoculation par voie nasale à la souris . . . . .	33
7. Sensibilité de différentes races de souris . . . . .	33
8. Inoculation par l'intermédiaire de mouches . . . . .	34
9. Diminution des mécanismes immunitaires de la souris . . . . .	35
10. Inoculation chez le hamster . . . . .	36
11. Inoculation au rat . . . . .	37
12. Histologie d'une lésion expérimentale . . . . .	38
V. Conclusions . . . . .	40
Références bibliographiques . . . . .	44
Table des matières . . . . .	51



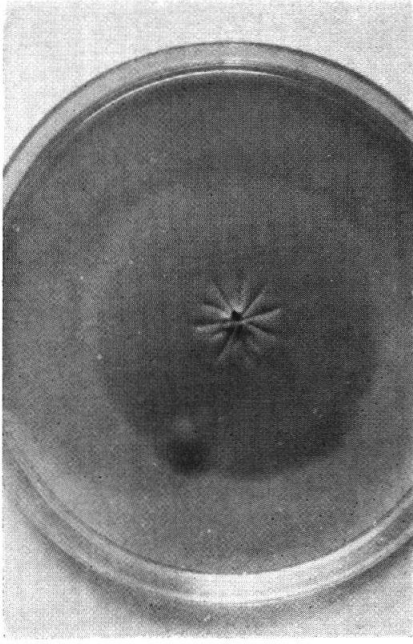


Fig. 1. — Aspect macroscopique d'une culture de *Basidiobolus*.



Fig. 2. — Corps hyphaux dans une culture de *B. meristosporus* R.V.14.188  $\times$  140 (culture sur lame colorée par le bleu coton).



Fig. 3. — Corps hyphaux dans une culture de *B. meristosporus* R.V.15.050  $\times$  350 (culture sur lame colorée par le rouge neutre).

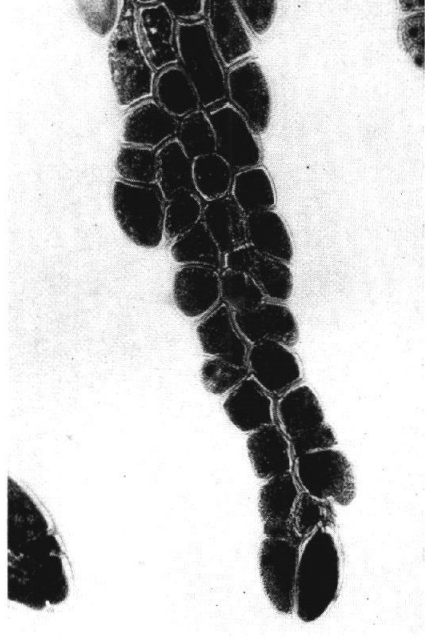


Fig. 4. — Segmentation interne d'une hyphe mycélienne: *B. meristosporus* R.V.14.188  $\times$  350 (culture sur lame colorée par le rouge neutre).





Fig. 5. — Formation d'une conidie sphérique à l'extrémité d'un conidiophore *B. ranarum* R.V.22.390.  $\times 560$ .

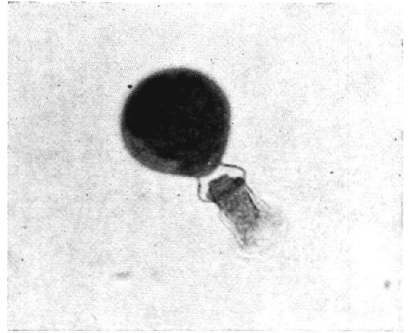


Fig. 6. — Conidie sphérique et organe de projection de la conidie. *B. ranarum* R.V.16.940.  $\times 560$ .

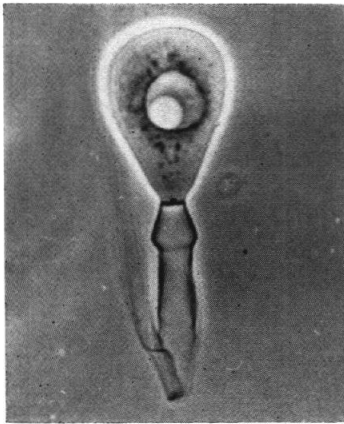


Fig. 7. — Conidie et conidiophore; en milieu liquide la conidie reste attachée au conidiophore. *B. ranarum* R.V.22.390.  $\times 560$ .

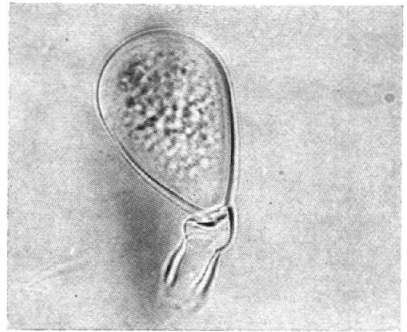


Fig. 8. — Conidie; déchargée avec une partie de la membrane du conidiophore *B. ranarum* R.V.22.390.  $\times 560$ .

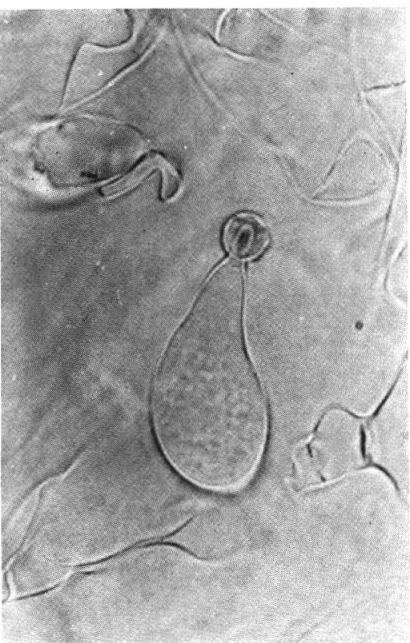


Fig. 9. — Conidie allongée surmontée d'un appendice adhésif.  
*B. ranastrum* R.V.22.390  $\times$  1400.

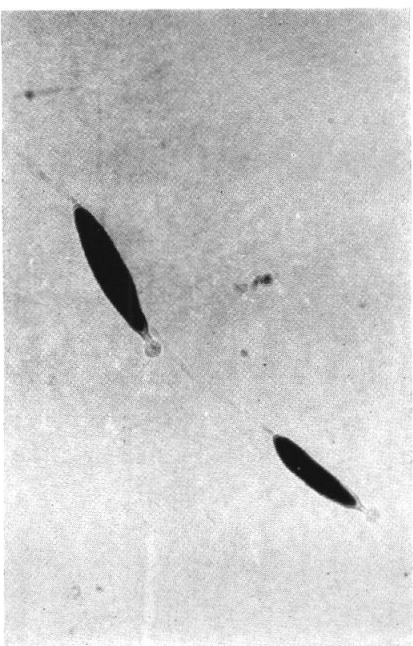


Fig. 10. — Conidies adhésives surmontées par des conidiophores minces *B. ranastrum* R.V.16.940  $\times$  560.

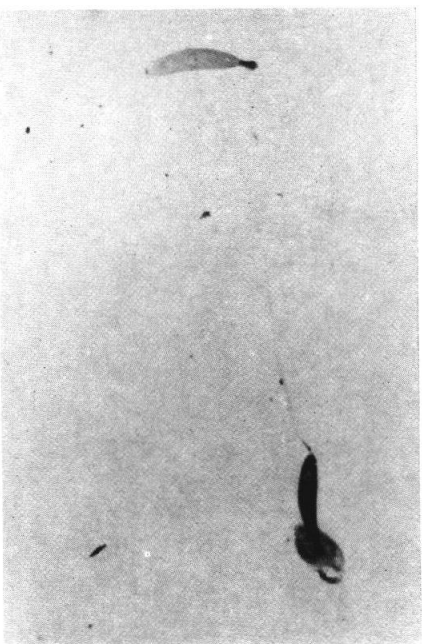


Fig. 11. — Conidie adhésive ayant donné naissance à une nouvelle conidie adhésive. *B. ranastrum* R.V.16.940  $\times$  350.

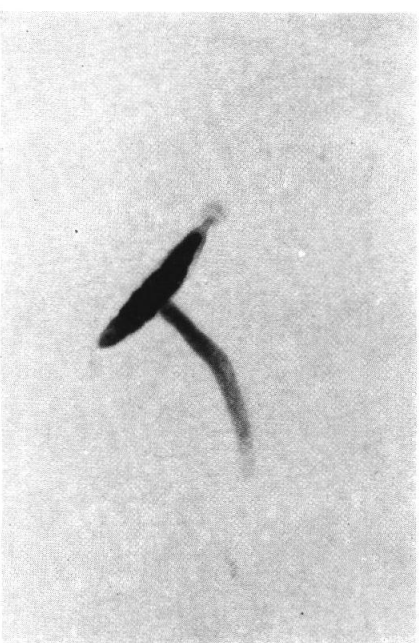


Fig. 12. — Germination de mycélium à partir d'une conidie adhésive *B. ranastrum* R.V.16.940  $\times$  560.

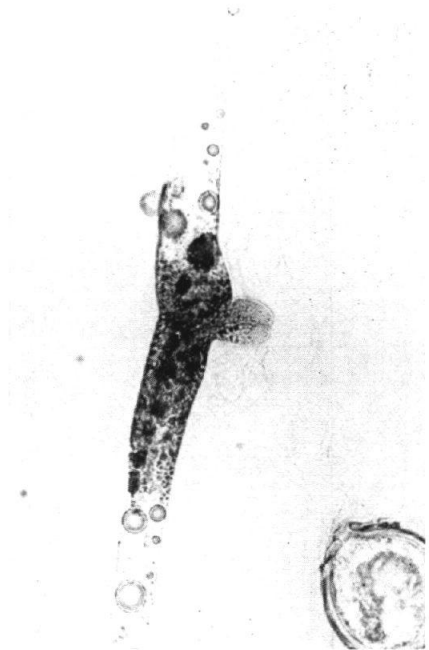


Fig. 13. — Becs de conjugaison entre deux hyphes adjacentes *B. ramannii* R.V.16,940. (coloration rouge neutre).

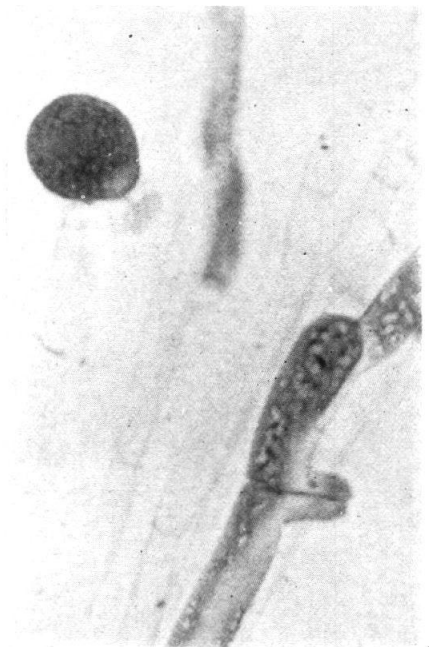


Fig. 14. — Becs de conjugaison et formation d'une zygospore.

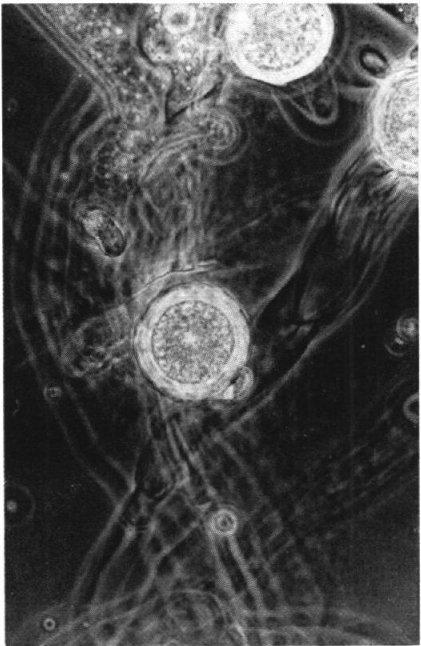


Fig. 15. — Zygospore à paroi ondulée; *B. ramannii* R.V.16,940  $\times$  560 (contraste de phase).

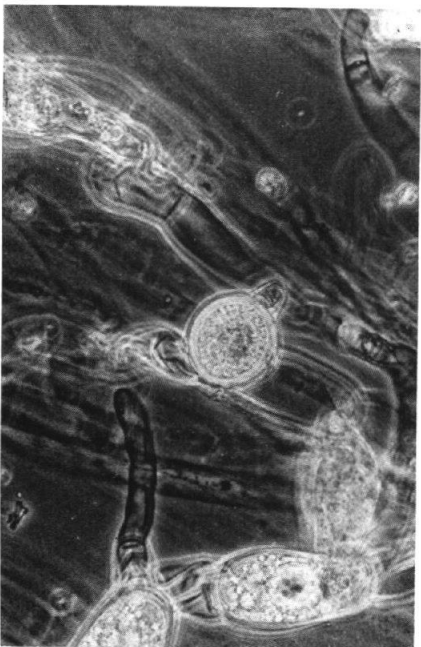


Fig. 16. — Zygospore à paroi lisse; *B. meristisporus* R.V.14,188  $\times$  560 (contraste de phase).



Fig. 17. — Technique d'isolement de *Basidiobolus* dans sa phase saprophyte. Colonies de *Basidiobolus* observées après germination de conidies rondes projetées sur le milieu de culture.

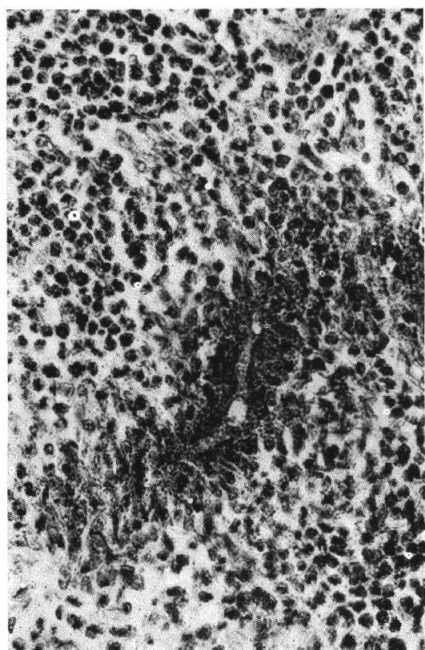


Fig. 18. — Coupe dans une lésion humaine de zygomycose due à *E. coronata*.  $\times 350$ . coloration hématoxyline éosine.

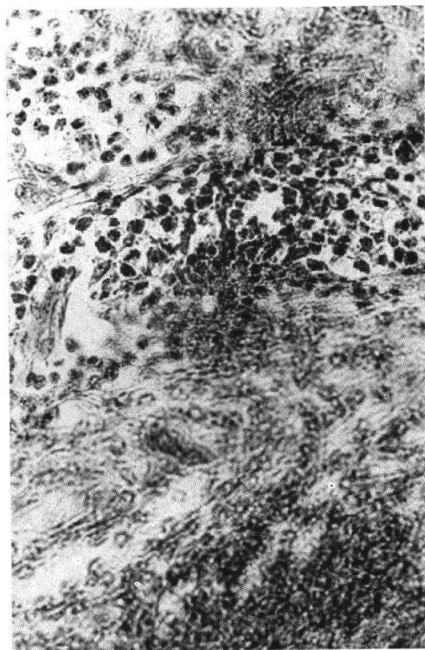


Fig. 19. — Même coupe que la fig. 18; dans ce cas une hyphe mycélienne est coupée transversalement.  $\times 350$ .



Fig. 20. — Coupe dans un nodule sous-cutané chez une souris inoculée avec une culture de *B. meristosporus* R.V.15.050, 8 jours après l'inoculation.  $\times 140$ . coloration hématoxyline éosine.

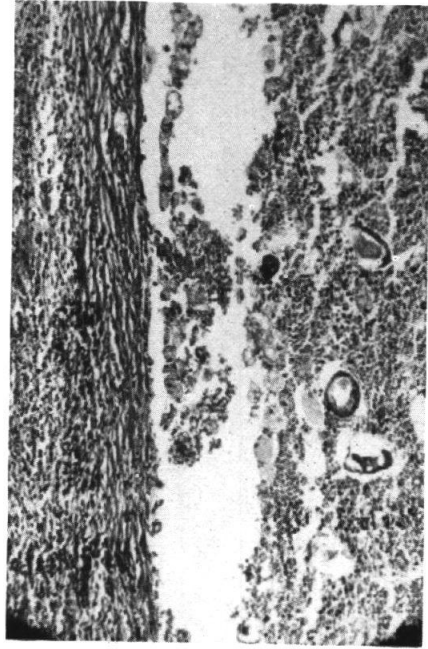


Fig. 22. — Coupe montrant les différentes zones d'une lésion expérimentale de la souris (R.V.15.729); de haut en bas: fibrose, histiocytes, éosinophiles et débris du champignon.  $\times 140$ .

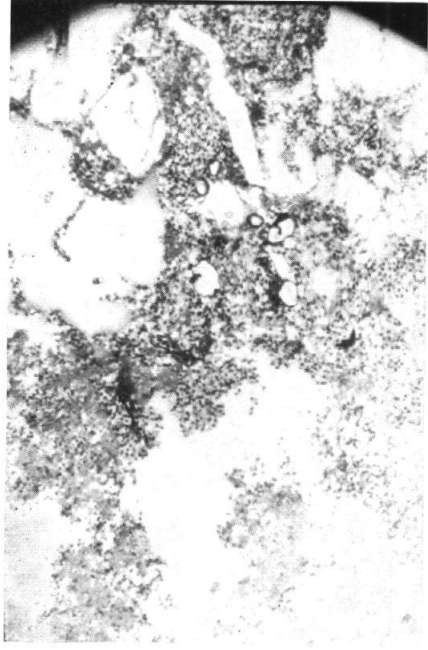


Fig. 21. — Même coupe que celle de la fig. 20; au centre du nodule les zones de lyse sont plus importantes, les hyphes sont entourés de polynucléaires.  $\times 140$ .

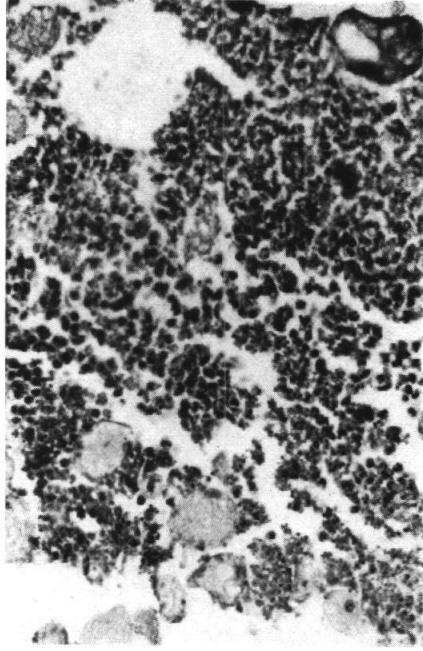


Fig. 23. — Même coupe que la précédente; région à macrophages et polynucléaires.  $\times 350$ .

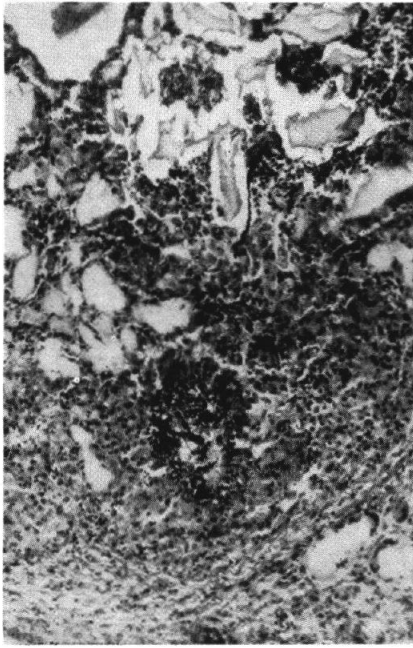


Fig. 24. — Coupe dans un nodule intrapéritonéal chez le hamster 14 jours après l'inoculation d'une culture de *B. tamarum* R.V.16.940  $\times$  140.

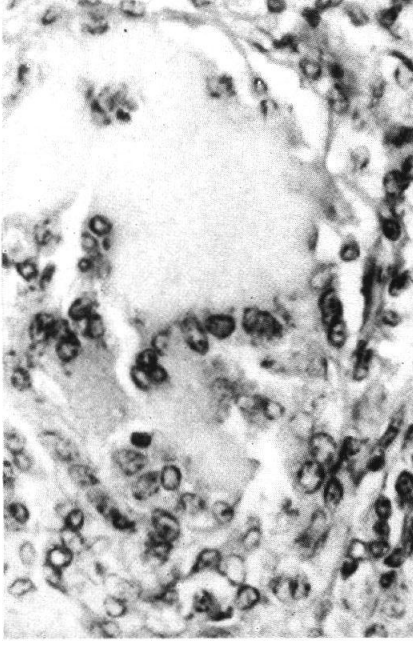


Fig. 25. — Nécrose dans un nodule adhérent au diaphragme chez un hamster inoculé 21 jours au paravant avec *B. meristosporus* R.V.22.392.  $\times$  350.

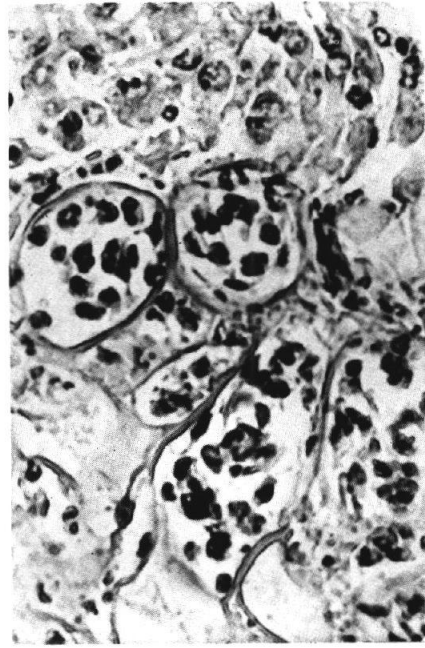
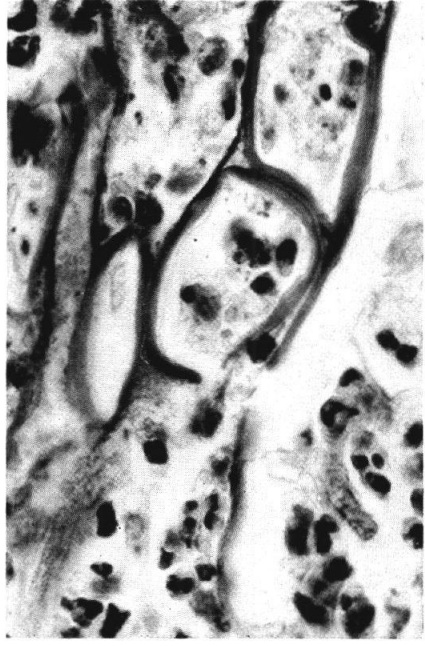


Fig. 26 et fig. 27. — Deux aspects de l'envassement des hyphes mycéliennes par des polynucléaires dans une nodule péritonéal chez un hamster inoculé par *B. meristosporus* R.V.22.392.  $\times$  875.



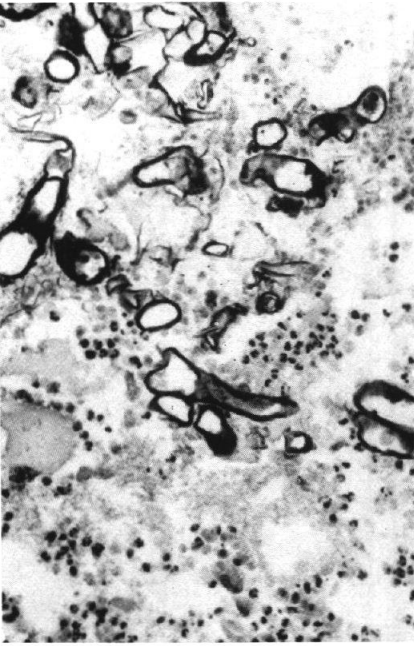


Fig. 28. — Nodule sous-cutané, en coupe, 14 jours après l'inoculation de *B. meristosporus* R.V.14.188.  $\times$  350.



Fig. 30. — Nodule sous-cutané chez un rat inoculé par *B. meristosporus* R.V.14.188; 28 jours auparavant. La réaction est importante.  $\times$  350.

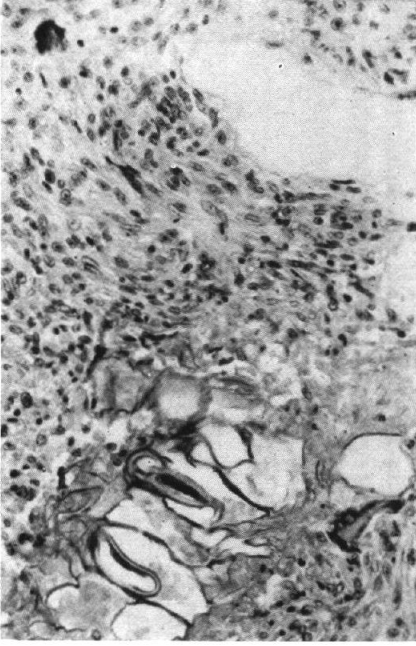


Fig. 29. — Nodule sous-cutané 14 jours après l'inoculation de *B. ranaarum* R.V.16.940.  $\times$  550.

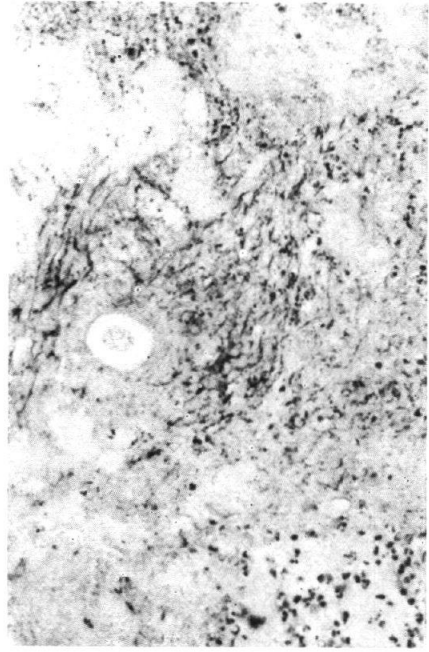


Fig. 31. — Nodule sous-cutané chez un rat inoculé par *B. ranaarum* R.V.16.940; 28 jours auparavant. Les spores à paroi épaissies sont caractéristiques.  $\times$  275.

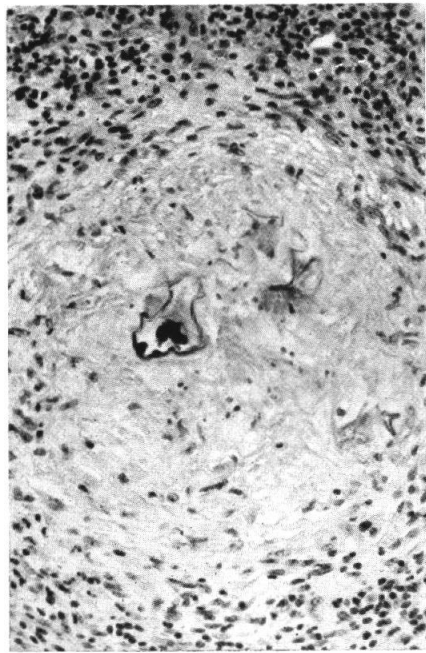


Fig. 32. — Nodule sous-cutané après 42 jours (*B. meristosporus* R.V.14.188). Les spores à parois épaisses sont en voie de destruction.  $\times 350$ .

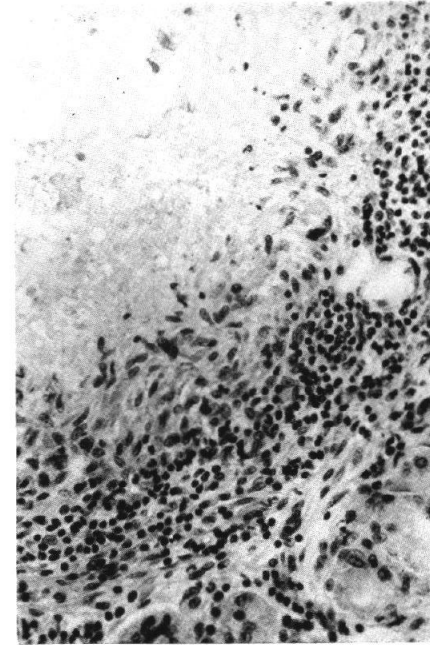


Fig. 34 et 35. — aspects comparables des nodules sous-cutanés, après 60 jours chez des rats inoculés respectivement avec *B. meristosporus* R.V.15.050 et avec *B. ranaarum* R.V.16.940.  $\times 350$ .

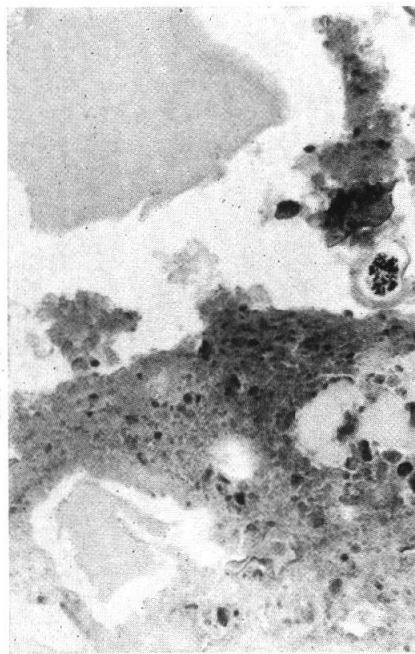
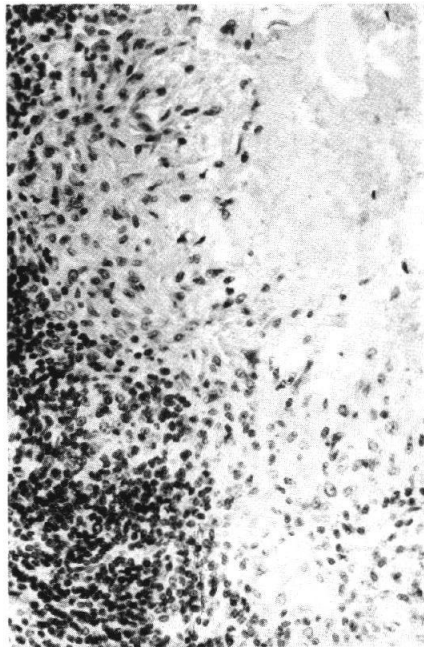


Fig. 33. — Après 60 jours, la nécrose est pratiquement totale, seule une spore à paroi épaisse est encore visible. *B. ranaarum* (R.V.18.251).  $\times 350$ .









---

Achévé d'imprimer le 2 juin 1972  
par l'Imprimerie SNOECK-DUCAJU et Fils, S.A., Gand-Bruxelles