

# Contribution à l'étude du Pityriasis versicolor et de *Pityrosporum ovale*,

PAR

R. VANBREUSEGHEM (\*) & R. de TIEGE

(Reçu pour publication le 12 juillet 1952.)

Si la clinique et le diagnostic parasitologique du Pityriasis versicolor sont bien connus, l'isolement par culture de l'agent causal de cette affection reste une grande inconnue de la mycologie médicale. R. Vanbreuseghem en 1950, A. O. Lejeune en 1951, ont publié les résultats de leurs très nombreux essais de cultures en partant de squames de Pityriasis versicolor récoltées surtout au Congo Belge : dans tous les cas, quel que fût le milieu de culture, même en employant celui utilisé par M. Moore (1938, 1941), ils aboutirent à un échec. Il faut bien admettre, et c'est l'avis de la plupart des mycologues, que l'agent causal du Pityriasis versicolor ne peut jusqu'ici être cultivé et que, s'il l'a été, c'est à titre tout à fait exceptionnel. Cela rend, on le conçoit, le classement du parasite de cette affection extrêmement délicat et le nom de *Malassezia furfur* sous lequel on le désigne communément ne doit être retenu qu'avec la plus extrême réserve.

Récemment, M. A. Gordon (1951) isolait de la peau humaine 15 souches d'un nouveau champignon levuriforme auquel il donna le nom de *Pityrosporum orbiculare*. Dans 13 cas, les souches provenaient de squames de Pityriasis versicolor, dans 2 cas, de la peau normale. Dans le travail qu'il intitule : « Lipophilic yeastlike organisms associated with tinea versicolor », M. A. Gordon écrit : « Ces résultats suggèrent la possibilité que les organismes cultivés à partir de tinea versicolor soient des habitants normaux de la peau mais il est évident que beaucoup reste à faire pour déterminer leur valeur. Il est possible que l'un d'entre eux puisse, à la faveur de certaines circonstances, déterminer des troubles pathologiques comprenant le

---

(\*) Travail effectué avec l'aide et un subside de l'Institut pour la Recherche Scientifique en Afrique Centrale (I. R. S. A. C.).

tinea versicolor ». A côté de *P. orbiculare*, Gordon avait isolé quelques autres organismes levuriformes dont *Pityrosporum ovale*.

Le titre même de son travail, une partie de son texte montre chez Gordon une tendance *extrêmement circonspecte d'ailleurs* à considérer *Pityrosporum orbiculare* comme l'agent causal du Pityriasis versicolor; il a d'ailleurs fait, sans succès, des essais d'inoculation à l'animal. Cela nous a conduit à rechercher cet organisme dans des squames de cette affection récoltées au Congo Belge : il nous semblait, en effet, que si nous avions pu isoler de façon régulière *P. orbiculare* des indigènes congolais atteints de Pityriasis versicolor, nous aurions pu apporter un appui considérable à l'hypothèse timidement esquissée par Gordon et ainsi contribuer à la solution d'un problème énervant sinon important.

Le genre *Pityrosporum* doit son nom à Sabouraud, qui nomma *Pityrosporum malassezi* l'ancienne spore de Malassez ou bacille bouteille de Unna, vu pour la première fois en 1873 par Rivolta, mieux décrit en 1874 par Malassez. E. Brumpt, en 1936, préféra l'appeler *Pityrosporum ovale*, nom sous lequel il est le plus souvent désigné depuis lors.

On a beaucoup discuté et on discute encore sur le pouvoir pathogène de *P. ovale*; beaucoup d'auteurs ont tendance à le considérer comme un saprophyte banal. Jusqu'en 1939 on discutait tout autant sur les cultures de cet organisme; à ce moment Miss Rhoda W. Benham mit en évidence une propriété fort particulière de *P. ovale* : sa lipophilie, qu'elle étudia davantage dans des travaux ultérieurs (1941, 1945, 1949). C. W. Emmons avait confirmé cette propriété essentielle dès 1940. R. W. Benham montra que l'on pouvait obtenir, tout à fait exceptionnellement, des cultures de *P. ovale* sur moût de bière, mais qu'on pouvait en obtenir presque à coup sûr en partant de squames renfermant cet organisme à condition d'ajouter au milieu de culture un corps gras, de préférence de la lanoline brute ou du beurre, ou un acide gras dont le plus actif est l'acide oléique. Les colonies sont crémeuses, et deviennent avec l'âge brunâtres. Les organismes qui les constituent sont des cellules ovalaires qui bourgeonnent d'une façon un peu particulière : ce n'est pas un vrai bourgeon se séparant de la cellule mère par constriction mais plutôt un faux bourgeon se séparant par un septum comme on le voit dans une levure ascosporee, *Saccharomyces ludwigii*. Les dimensions de *P. ovale* sont de 2 à 3  $\mu$  sur 4 à 5  $\mu$  de longueur. On le trouve souvent disposé par paires, placées en V ou en amas. Il ne filamentise pas, donne parfois des formes très allongées qui peuvent atteindre une quinzaine de  $\mu$ . On n'a pas observé jusqu'ici de formations d'ascospores. L'absence de mycélium et d'ascospores conduit à le

ranger dans un genre particulier : *Pityrosporum*, à côté du genre *Torulopsis*, parmi les *Torulopsidoideae*.

*Pityrosporum orbiculare* Gordon 1951 fut isolé par M. A. Gordon sur gélose de Sabouraud glycosée recouverte de 2 cc d'huile d'olive stérilisée. Les tubes sont inclinés pour que l'huile recouvre la totalité de la surface du milieu de culture. En 4 à 5 jours à 37° C on voit apparaître des colonies crémeuses qui brunissent avec l'âge et ne se distinguent guère de celles de *P. ovale*. Mais l'examen microscopique révèle qu'on a affaire à un organisme tout différent. Les cellules sont sphériques (et non allongées comme dans *P. ovale*), et mesurent de 2,1 à 4,8, généralement de 2,8 à 3,8  $\mu$  de diamètres. Elles forment un bourgeon, rarement deux, qui se sépare de la cellule-mère par un collet étroit (et non par un septum basal comme dans *P. ovale*). Les subcultures s'obtiennent facilement et indéfiniment à condition d'ajouter la culture d'huile d'olive ou d'acide stéarique : ces corps doivent être déposés à la surface du milieu de culture. L'acide oléique si actif pour le développement de *P. ovale* est inactif pour celui de *P. orbiculare*.

M. A. Gordon rassemble dans un genre unique, *Pityrosporum*, ces deux organismes, réunis par leur lipophilie, séparés par leur morphologie et certaines de leurs exigences physiologiques.

Nous avons fait nos essais de cultures sur le milieu suivant :

Glycose ... ..	2 gr
Néopeptone Difco ... ..	1 gr
Agar-Agar ... ..	1 gr
Eau de ville ... ..	q.s. 100 cc

Ce milieu est additionné après stérilisation et avant refroidissement complet de dihydrostreptomycine et de pénicilline G. en quantités telles qu'il renferme 40 unités de streptomycine par cc et 20 unités de pénicilline par cc. Les tubes sont alors inclinés. Après solidification, on les recouvre de 2 cc d'huile d'olive stérilisée par 2 passages à l'autoclave, à 120° C, durant une heure, à 24 heures d'intervalle.

L'ensemencement se pratique avec des squames dont l'examen microscopique a révélé la présence des amas de cellules rondes et des filaments caractéristiques de *Pityriasis versicolor*.

L'examen des colonies qui apparaissent vers le 4<sup>me</sup> ou le 5<sup>me</sup> jour, est difficile à cause de la présence de l'huile. Nous avons obtenu de bons résultats en procédant de la façon suivante : 1°) un fragment de colonie est prélevé avec l'ocèse de nichrome et étalé sur lame, 2°) chauffer légèrement à la flamme nue, 3°) dégraisser en laissant couler du xylol à la surface de la préparation, 4°) éliminer le xylol par de l'alcool à 95°, 5°) sécher et colorer par le Giemsa ou la

méthode de Gram ou examiner simplement dans une goutte de Lugol double entre lame et lamelle.

Nous avons également obtenu assez facilement des cultures sur lames en employant la méthode de Rivalier-Seydel, mais en recouvrant les lames gélosées d'une couche d'huile d'olive stérilisée.

### Résultats.

1°) Nous sommes partis de 62 prélèvements différents effectués au Congo Belge chez des indigènes des deux sexes et d'âge variable atteints de *Pityriasis versicolor*. Ces prélèvements provenaient : de Coquilhatville (8), de Kasongo (17), de Léopoldville (18) et de Mushie (19) (\*). Tous les prélèvements furent examinés microscopiquement avant l'ensemencement : dans tous les cas, l'examen montra qu'il s'agissait bien de *Pityriasis versicolor*.

2°) L'ensemencement des 62 prélèvements nous a donné 30 cultures de *Pityrosporum ovale* et 32 fois un résultat négatif. Dans 4 cas, les cultures de *P. ovale* ont été contaminées par des moisissures qui n'ont pas été identifiées. Dans les 32 résultats négatifs du point de vue *Pityrosporum*, il faut compter 5 cultures de moisissures non identifiées. Tous les ensemencements effectués avec les prélèvements effectués à Coquilhatville ont donné un résultat négatif : cela tient peut-être à un laps de temps plus long entre le prélèvement et la mise en culture.

3°) Les colonies de *Pityrosporum* obtenues à partir des squames de *Pityriasis versicolor* sont de consistance crémeuse et de couleur blanche-jaunâtre, virant vers le jaune-brun après quelques semaines. Elles font leur apparition dès le 4<sup>me</sup> jour après l'ensemencement des squames; aux 5<sup>me</sup> et 6<sup>me</sup> jours, elles sont bien développées et finissent par recouvrir toute la surface de la gélose. A cause de la phase liquide constituée par l'huile d'olive il est impossible, sinon tout au début du développement, d'avoir des colonies bien individualisées. Les subcultures se développent beaucoup plus rapidement : après 24 heures, un ensemencement en strie est déjà très nettement positif; le meilleur développement s'obtient à 37°; à 25°, il est beaucoup plus lent : il faut 10 à 14 jours pour des primocultures et 48 heures pour des subcultures. Les contaminations sont plus fréquentes à 24° C qu'à 37° C.

---

(\*) Nous remercions vivement la Révérende Sœur Michel-Marie, des Sœurs Blanches d'Afrique, les Docteurs Borgers, Lejeune et Oelbrecht, Monsieur l'Auxiliaire Médical Panier et Monsieur l'Agent Sanitaire Van Goethem, qui ont eu l'extrême obligeance d'effectuer ces prélèvements pour nous et de nous les faire parvenir très rapidement.

Alors que les primocultures sur milieu de Sabouraud sans huile d'olive donnent un résultat constamment négatif, la première subculture pratiquée sur ce milieu à partir d'une culture sur milieu de Sabouraud additionné d'huile d'olive est assez abondante. A partir de la 2<sup>me</sup> subculture, on n'obtient plus aucun développement.

4<sup>o</sup>) L'examen microscopique des colonies obtenues démontre que dans tous les cas, on se trouve en présence de *Pityrosporum* ovale. Les dimensions que nous avons observées sont d'environ 3  $\mu$  de largeur sur 4,5 à 5,5  $\mu$  de longueur. Le collet large qui caractérise le bourgeonnement de *P. ovale* s'est retrouvé dans toutes nos souches. Assez souvent, les organismes sont disposés par paires, en V, et très souvent en volumineux amas. En cultures sur lames, il faut à 37° une quinzaine de jours pour obtenir une primoculture appréciable, 5 à 6 jours pour une culture seconde; la morphologie est la même que celle obtenue sur gélose inclinée. Nous n'avons jamais observé de filamentation. Dans quelques cas, nous avons vu, comme Benham, quelques cellules beaucoup plus allongées, atteignant environ 15  $\mu$  de longueur. Nous n'avons observé aucune ascospore.

Nous avons comparé la morphologie des souches obtenues à partir des squames de Pityriasis versicolor à celles d'une souche isolée en Belgique d'un Européen, n'ayant jamais résidé au Congo Belge, atteint de dermatite séborrhéique : les 2 morphologies étaient identiques.

5<sup>o</sup>) Dans le but d'obtenir des colonies plus isolées, nous avons tenté de cultiver le *Pityrosporum ovale* sur un milieu solide en aérobiose ou en anaérobiose partielle, constitué par : a) de la graisse de bœuf, b) 3 parties de graisse de bœuf et une partie de paraffine solide (pour augmenter la solidité du milieu), c) de graisse de bœuf additionnée de 2 gr de glycose et de 1 gr de néopeptone Difco pour 100 gr de graisse. Tous nos résultats ont été pratiquement négatifs.

### Discussion.

Comme nous l'indiquons dans le début du présent travail, l'opinion des auteurs est très partagée sur le pouvoir pathogène de *P. ovale*. Aux anciens travaux sur cette question, on peut joindre ceux plus récents de P. Thygeson (1946) et de F. H. Théodore (1949, 1950) qui voient dans *P. ovale* une des causes ou une des complications fréquentes de la blépharite chronique. Si l'on veut se montrer très éclectique, on aura tendance à admettre que *P. ovale* envahit avec plus de facilité que la peau normale les peaux séborrhéiques mais il est difficile de juger jusqu'à quel point ce saprophytisme (ou ce parasitisme ?) vient compliquer un état pathologique préexistant.

M. A. Gordon a, avec beaucoup de circonspection, émit l'hypothèse que la nouvelle espèce de *Pityrosporum* qu'il a découverte, *P. orbiculare*, pourrait être la cause, ou une des causes, du Pityriasis versicolor. Le fait que de 62 cas de cette affection nous ayons isolé uniquement dans 30 cas le *Pityrosporum ovale* ne tend pas à confirmer son hypothèse, encore qu'il ne l'infirmé pas d'une façon absolue.

Pour nous, le problème de l'agent causal du Pityriasis versicolor reste entièrement ouvert.

Notons encore que nos observations sont les premières à constater la présence de *P. ovale* au Congo Belge.

*Résumé.* — Les auteurs ont isolé sur milieu de Sabouraud recouvert d'huile d'olive stérile 30 souches de *Pityrosporum ovale* à partir de 60 cas de Pityriasis versicolor observés chez des indigènes du Congo Belge. Cette observation ne tend pas à confirmer l'hypothèse émise par Gordon, suivant laquelle *Pityrosporum orbiculare* qu'il a isolé 13 fois de Pityriasis versicolor aux Etats-Unis, pourrait être la cause de cette affection. Les auteurs ont tendance à voir dans *P. ovale* un saprophyte envahissant facilement la peau dans certains états pathologiques de celle-ci.

Travail effectué à l'Institut de Médecine Tropicale Prince Léopold, à Anvers (Directeur : Prof. A. Dubois).

*Samenvatting.* — Bij 60 congolese inboorlingen, aangetast door Pityriasis versicolor, werden 30 stammen van *Pityrosporum ovale* afgezonderd. De aangewende kweekbodem was het midden van Sabouraud met steriele olijfolie bedekt.

Gordon's hypothese waarbij *Pityrosporum orbiculare*, door hem 13 keren bij Pityriasis versicolor in de Verenigde Staten afgezonderd, als verwekker dezer aandoening wordt vooropgesteld, kon aldus niet bevestigd worden.

Schrijvers zijn geneigd deze parasiet als een saprofyet te aanzien, die gemakkelijk sommige huidaandoeningen overgroeit.

#### REFERENCES.

- Benham, R. W. The cultural characteristics of *Pityrosporum ovale*. A lipophilic fungus. *Jl. Invest. Derm.* (1939), 2 : 4, 187-203.
- Benham, R. W. Cultural characteristics of *Pityrosporum ovale*. A lipophilic fungus. Nutrient and growth requirements. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* (1941), 46, 176-178.
- Benham, R. W. *Pityrosporum ovale*. A lipophilic fungus. Thiamin and oxaloacetic acid as growth factors. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* (1945), 58, 199-201.

- Benham, R. W. Biology of *Pityrosporum ovale*. In Biology of Pathogenic fungi. Ed. by W. J. Nickerson, Chronica Botanica, Waltham, Mass., U. S. A. (1947).
- Brumpt, E. Précis de Parasitologie, Paris, Masson, 1936.
- Emmons, C. W. The isolation and pathogenicity of *Pityrosporum ovale*. Publ. Health Rep., (1940), 55, 1306-1312.
- Gordon, M. A. The lipophilic mycoflora of the skin. I. In vitro culture of *Pityrosporum orbiculaire* n. sp. Mycologia (1951), 43 : 5, 524-535.
- Gordon, M. A. Lipophilic yeastlike organisms associated with tinea versicolor. The Jl. Invest. Dermat. (1951), 17 : 5, 267-272.
- Lejeune, A. O. Contribution à l'étude de *Pityriasis versicolor* au Congo Belge. Ann. Soc. Belge Méd. Trop. (1951), 31 : 2, 235-250.
- Malassez, L. Note sur le champignon de la pelade. Arch. Physiol. (1874), 2 : 1, 203-212.
- Malassez, L. Note sur le champignon du pityriasis simple. Arch. Physiol. (1874), 2 : 1, 451-464.
- Moore, M. Cultivation of *Malassezia furfur*, étiological agent of *Pityriasis (tinea) versicolor*. Mycopathologia (1938), 1, 53-61.
- Moore, M. *Malassezia furfur*, the cause of tinea versicolor. Cultivation of the organism and experimental production of the disease. Arch. Dermat. Syph., Chicago (1941).
- Rivolta, S. Parasiti vegetali, Torino (1873).
- Sabouraud, R. Les maladies desquamatives. Paris, Masson, 1904.
- Théodore, F. H. Uses of propionates in Ophthalmology. Arch. Ophthalm. Chicago (1949), 41 : 1, 83-94.
- Théodore, F. H. Use of sodium propionate in external infections of the eyes. J. A. M. A., 143 : 3, 223-228.
- Thygeson, P. Etiology and treatment of blepharitis. Arch. Ophthalm. Chicago (1946), 36 : 4, 445-477.
- Vanbreuseghem, R. Un problème de mycologie médicale : Le *Pityriasis versicolor*. Ann. Inst. Pasteur (1950), 79, 798-801.
-