

La microculture rapide du bacille de Koch par la méthode sur lames

Autor(en): **Badoux, V.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles**

Band (Jahr): **64 (1948-1950)**

Heft 277

PDF erstellt am: **12.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-273987>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

La microculture rapide du bacille de Koch par la méthode sur lames

PAR

V. BADOUX

(Séance du 31 mai 1950)

INTRODUCTION.

Le bacille de la tuberculose « prévu » par Villemin en 1865, grâce à sa rigoureuse méthode expérimentale, n'a été vu par KOCH qu'en 1882.

Les études suscitées, dès lors, par ce microbe, justement baptisé *Bacille de Koch* (BK) et, conséquemment par la tuberculose-maladie, représentent aujourd'hui, un monument scientifique d'une importance considérable. Toutes ces études ont apporté, il faut le reconnaître, des solutions satisfaisantes et parfois définitives, aux innombrables questions posées par la tuberculose et son bacille.

Il y a cependant un problème qui a donné beaucoup de mal aux microbiologistes, c'est celui de la culture du BK en milieux artificiels.

Koch avait plus ou moins échoué. Il avait obtenu, il est vrai, de très maigres résultats en utilisant un milieu solide, le sérum de bœuf coagulé. Il déclarait, d'ailleurs, que le problème restait pratiquement insoluble ou, tout au moins, hérissé de difficultés.

Mais les bactériologistes ne désarmèrent pas. Ils préparèrent, assez rapidement, des *milieux d'entretien* qui sont des liquides représentés surtout par le bouillon glycérimé utilisé pour obtenir la tuberculine, puis des *milieux d'adaptation*, synthétiques pour la plupart, dont le plus connu est celui de Sauton et les plus récents ceux de Youmans et de Dubos. Les *milieux d'isolement ou de diagnostic*, les plus désirés, mais aussi les plus difficiles à obtenir, ont passé de la pomme de terre glycérimée (Pawlowski), aux préparations à l'œuf de Dorset, de Bezençon et Griffon, de Hohn, de Pétrof, de Pétragnani, etc. Ce n'est qu'en 1924 que Loewenstein donna une formule qui semble

définitive. Ce milieu, universellement adopté actuellement, résume tous les essais précédents. Il contient de l'œuf, de la glycérine, des sels, de l'asparagine, de la fécule de pomme de terre et une matière colorante, le vert malachite, qui agit comme paralysant de la flore microbienne si souvent associée au BK. On voit que ce n'est pas une formule simple et sa préparation reste délicate. Ses variantes sont encore nombreuses. La teneur en glycérine, plus particulièrement, doit être faible ou nulle pour le type bovin et plus forte pour le type humain. En outre, sur ce milieu de Loewenstein, les colonies n'apparaissent, dans les cas les plus favorables, qu'après 12 à 15 jours d'étuve à 37 degrés. Il faut souvent attendre 3, 4, 6 et même jusqu'à 8 semaines pour obtenir un résultat positif. Ces renseignements, qui n'ont rien d'original, se trouvent dans tous les précis modernes de bactériologie. C'est à celui de P. Gastinel, paru en 1949 (Masson, édit.) que nous nous sommes adressés.

LA MÉTHODE DE CULTURES SUR LAMES (PRYCE).

Aussi est-ce avec une surprise mêlée d'un peu de scepticisme que nous avons pris connaissance, au début de cette année, d'une publication de PRYCE (1), qui parue en 1941 déjà, s'intitule : « Sputum film cultures of tubercle bacilli : A method for the early observation of growth ». Le principe de la méthode est le suivant :

Confectionner un frottis (un film) sur une lame de verre, avec un crachat ou tout autre matériel renfermant des BK dûment constatés à l'examen direct. Laisser sécher. Traiter la préparation par de l'acide sulfurique dilué pour détruire la flore associée éventuelle, laver deux fois par de l'eau distillée stérile (jusqu'à réaction neutre). Recouvrir avec le milieu liquide idoine, mettre à l'étuve à 37 degrés. Attendre 7 à 8 jours. Retirer le milieu, laver la lame à l'eau ordinaire, sécher, colorer au Ziehl-Neelsen. Examiner au microscope, d'abord à sec (faible grossissement) puis à l'immersion.

Le frottis peut être confectionné soit sur le fond d'une plaque de Petri, qui recevra ensuite le milieu, soit sur une simple lame de verre, comme celles que l'on utilise en microscopie. En ce cas, on dépose, aux endroits choisis, des segments de tube de verre ou de bakélite, fixés par de la paraffine. Le milieu est ensuite distribué dans les godets ainsi constitués.

Une technique qui recommande des lames perforées, mais qui nous paraît cependant moins heureuse, a été mise au point par W. ROTH (2).

Cette microculture rapide sur lames exige donc un milieu liquide qui pourrait être celui de YOUNG (3) ou de DUBOS (4)

dans sa formule I ou II. Mais, PRYCE préconise *le sang humain citraté et dilué*, à parties égales, par une solution aqueuse stérile de saponine à 1 %, ou plus simplement encore *par de l'eau distillée stérile*.

La culture est, en effet, très rapide. En 6-8 jours, on obtient de belles colonies caractéristiques, en torsades ou en écheveaux, que les auteurs anglais désignent par l'expression pertinente de « cord-formation » (fig. 1, 2 et 3).

On peut suivre journallement le développement de ces écheveaux comme le montre un cliché du travail de Roth. De plus, on constate que la reproduction bacillaire se fait bien par division, comme autour d'un axe imaginaire qui soutiendrait la colonie. Dans les cas très positifs, les cultures constituent des amas visibles à la loupe. Dans les autres cas les cultures sont moins exubérantes et ne peuvent se voir qu'au microscope. Il faut quelquefois attendre 14-15 jours, et les bacilles se présentent alors sous l'aspect d'un semis, avec quelques agglomérats. Lors des manipulations d'ensemencement, il faut éviter, par une technique correcte, d'infecter les cultures. Les milieux contaminés donnent de moins bons résultats et restent parfois négatifs à tort. Si le matériel à examiner ne contient que du BK et pas de flore secondaire, le traitement par l'acide peut être supprimé.

CONTRÔLES DE LA MÉTHODE.

Quelques microbiologistes ont déjà expérimenté et contrôlé la méthode de Pryce. Ils déclarent que le procédé est très élégant, très simple et très rapide. Il est valable pour les différents types du *Mycobacterium tuberculosis* : *humain*, *bovin*, *aviaire*, *pisciaire*. Cependant, la culture en écheveaux serait, d'après BENDA et URQUIA (5) l'apanage du type humain et ne s'observerait pas avec le type bovin. Le type *murin*, décrit par WELLS (6) n'a pas encore, à notre connaissance, été expérimenté. Nous ne savons pas non plus, si les formes non acido-alcool-résistantes du BK sont susceptibles de cultiver sur lames. Comme les autres procédés de cultures, la méthode de Pryce ne serait valable que pour la phase colorable du BK, qui est, comme on l'a dit, « son visage de l'âge adulte », c'est-à-dire le plus commun. Par contre, les formes non virulentes, dont le BCG est le type, poussent normalement sur lames.

La méthode est applicable non seulement aux expectorations bacillifères, mais à tout autre matériel renfermant des BK (pus, liquides pleuraux, urines, liquides céphalo-rachidiens, etc.).

La composition du milieu doit nous arrêter un instant.

Une étude de O. SIEVERS (7) a complété les données de Pryce et recommande l'emploi du sang de cheval à défaut de sang humain.

Comme nous l'avons dit, les milieux d'adaptation de Youmans ou de Dubos conviennent également pour les cultures sur lames.

Le milieu de Dubos, le plus apprécié actuellement, est le résultat d'études et de recherches très poussées. Il contient, outre les éléments désormais classiques (asparagine, sels, citrate, glucose) de l'albumine purifiée du sérum appelée Fraction V, et du Tween 80.

Disons, très brièvement, que la Fraction V est obtenue par précipitations des différentes albumines du sérum. Elle a une action stimulante sur le départ de la culture. Le Tween 80 est un dérivé polyoxyallilénique du monooléate de sorbite. Il empêche les bacilles de s'agglutiner et permet d'obtenir des « cultures homogènes » comme l'avaient réalisé, par agitation continue, Arloing et Courmont, vers la fin du siècle dernier.

Le milieu de Dubos reste d'une préparation délicate. Son remplacement par du sang humain laqué représente une grande simplification et une grande économie. En effet, ce milieu-sang, est, au fond, très analogue au Dubos. Il contient comme lui, tous les éléments nécessaires : eau, sels, sérum et par conséquent la Fraction V. Le citrate et le glucose sont ajoutés au sang lors de son prélèvement. En outre, le BK qui est très avide d'oxygène, et qui pousse en voile à la surface des bouillons, trouve dans l'hémoglobine présente l'oxygène nécessaire à satisfaire sa passion aérobie, tout en se développant sur des lames complètement immergées.

Les travaux de K.-A. Jensen, et une publication plus récente de E. BERNARD et B. KREIS (8) ont fait entrer la microculture rapide du BK sur lames, dans le domaine pratique. Ces derniers auteurs préconisent l'emploi de demi-lames (partagées dans le sens de la longueur) qui, après avoir reçu le matériel à examiner, sont traitées comme nous l'avons indiqué. Elles sont ensuite immergées dans des éprouvettes contenant le milieu. Pour obtenir du sang en quantité suffisante, on demandera les sangs « périmés » des Centres de Transfusions sanguines. Ce matériel, qui serait perdu, trouve là une utilisation intéressante et apporte ainsi une aide appréciable aux laboratoires de bactériologie, car l'emploi du sang conservé « périmé » rend cette méthode particulièrement pratique.

Bernard et Kreis ont fouillé le procédé. Ils ont fait des essais avec du sang frais et du sang vieux, provenant d'indi-

vidus sains ou tuberculeux. Ils ont fait varier les taux des dilutions, étudié la position des cultures sur les différentes parties de la lame, remplacé le sang laqué par le milieu de Youmans, remplacé le citrate de soude par de l'héparine, utilisé le sang total intact ou privé de son plasma, laissé ou supprimé le complément, etc. La méthode est sortie victorieuse de toutes ces épreuves. Mais, en plus, ils l'appliquent à *la détermination de la streptomycino-résistance*, en ajoutant des doses croissantes d'antibiotique au milieu, et en observant l'apparition des colonies en fonction de la concentration streptomycienne. Cette détermination qui se fait généralement sur milieu de Loewenstein puis sur celui de Dubos, en 15 à 20 jours, ne demande ici que 7 à 8 jours. C'est donc un gros avantage pour le médecin traitant. En effet, ces mêmes chercheurs (9) ont utilisé ce moyen de contrôle rapide, pour conduire le traitement anti-tuberculeux, en précisant, de semaine en semaine, les doses à administrer.

TECHNIQUE.

Pour pratiquer cette microculture rapide du BK sur lames, nous nous sommes inspirés des publications mentionnées ci-dessus et, plus particulièrement, de celle de Bernard et Kreis. Avec la précieuse collaboration de notre collègue, M. le Dr Ed. Bauer, que nous remercions très vivement ici, nous avons aussi apporté à la technique générale de petites modifications personnelles. Voici notre mode opératoire avec tous ses détails :

Des lames de verre de 76×26 mm, employées couramment en microscopie, sont partagées dans le sens de la longueur. Avec de l'acide fluorhydrique on dépolit, mais d'un côté seulement, une extrémité sur un demi-cm environ. Ceci permet de faire une inscription au crayon directement sur la lame, et aussi de distinguer facilement l'envers de l'endroit. Ces demi-lames traitées longuement par le mélange sulfo-chromique, lavées plusieurs fois à l'eau, sont séchées, flambées puis, après refroidissement, recouvertes d'un film du matériel tuberculeux. Comme on en prépare toujours deux au minimum, il suffit de déposer le matériel à examiner sur une des demi-lames, puis de faire l'étalement, par écrasement de l'une contre l'autre. Laisser sécher à l'air mais à l'abri de la poussière ou dans une étuve bactériologique à 37 degrés pour activer la dessiccation. Les préparations sont alors placées, de champ, dans les rainures verticales d'une boîte à coloration pour les préparations microscopiques qui peut en recevoir normalement jusqu'à dix, mais plus si c'est nécessaire. La boîte, en verre, est fermée par un couvercle s'adaptant bien. On dépose encore sur les demi-lames, une plaque de verre de dimensions un peu moindres que celles du bassin. Elle est ainsi facilement mobilisable et permet de maintenir

en place les préparations lors des décantages ultérieurs. On recouvre complètement les demi-lames avec de l'acide sulfurique à 6-7 %, on chasse toutes les bulles d'air par agitation, et laisse agir l'acide durant 7 minutes exactement. Décanter le liquide en soulevant le couvercle et en inclinant le petit bassin. Avec une baguette de verre flambée, on maintient les préparations en place, en appuyant sur la plaque de verre dont nous avons parlé plus haut. Le bain acide est remplacé par de l'eau distillée stérile. Attendre 6 minutes. Vider de nouveau. Remettre de l'eau distillée stérile. Laisser agir encore 6 minutes. Faire un troisième lavage si l'eau est encore acide au tournesol. Généralement deux lavages suffisent. Remettre encore une fois de l'eau distillée stérile et, sans plus attendre, saisir les demi-lames, ainsi débarrassées des germes non tuberculeux, au moyen d'une pince flambée, et les introduire, une à une, en évitant toute contamination, dans une éprouvette contenant le milieu-sang. Placer à l'étuve à 37 degrés. Tous les examens sont faits à double. Le premier tube est examiné après 7 jours et le second après 2 semaines. Les lames portant les microcultures sont lavées doucement à l'eau courante, séchées, colorées au Ziehl et examinées au microscope.

Si on ne possède pas de petit bassin à coloration, on peut déposer les préparations dans une plaque de Petri. Pour que l'action des bains successifs soit vraiment efficace, on évitera le contact verre contre verre en soutenant les préparations par de petites baguettes de verre, disposées parallèlement sur le fond de la boîte. Pour retirer les différents liquides on utilisera un siphon préalablement amorcé et dont la pointe aspirante sera flambée avant l'emploi.

Si le traitement par l'acide est inutile, vu l'absence de flore secondaire, les préparations seront confectionnées stérilement et mises à sécher dans une boîte de Petri stérile, puis immergées directement dans les tubes.

Le *milieu de culture* que nous utilisons est donc représenté uniquement par du sang conservé « périmé » dilué, à parties égales, par de l'eau distillée stérile.

Empressons-nous de dire que, pour nos essais, nous avons trouvé auprès du Centre de Transfusions sanguines de l'Hôpital cantonal (Prof. P. Decker) la plus bienveillante compréhension et que ce service nous a remis ses sangs « périmés » chaque fois que c'était possible. Nous tenons à remercier ici très sincèrement tous les responsables de ce Centre de leur amicale et utile collaboration.

Rappelons que les sangs destinés aux transfusions sont prélevés aseptiquement, mélangés à un anti-coagulant (citrate de soude) et à du glucose. Ils sont conservés au frigidaire et nous sont remis après deux à trois semaines environ alors qu'ils

ne sont plus utilisables. Après dilution par l'eau distillée, le sang est mis en éprouvettes stériles à raison de 10 cm³ et se présente sous l'aspect d'un sang laqué, fortement coloré en rouge-brun, presque limpide mais laissant déposer un assez gros sédiment d'albumine et de résidus globulaires. Les tubes bien bouchés au coton sont conservés à la glacière. Il semble que le vieillissement n'a pas d'action défavorable sur le milieu.

Disons encore, à propos de ce milieu, que nous avons essayé de l'enrichir en oxygène en faisant barbotter cet élément dans le sang, avant de le diluer, jusqu'à ce qu'il ait pris une couleur rouge vif. Nous espérons ainsi donner au BK un milieu encore plus favorable à son développement, vu son caractère aérobie si marqué. Nos expériences ont été négatives et nous pensons qu'un excès d'oxygène est nuisible à la culture. Cette constatation a d'ailleurs été faite, dans d'autres circonstances, par E. ANDREJEW (10).

PARTIE EXPÉRIMENTALE.

Depuis le début de cette année, nous avons effectué 271 microcultures sur lames dont voici, en résumé, les résultats :

A. Prélèvements tuberculeux renfermant des BK (ou des B. acido-alcool-résistants) à l'examen direct.

12 expectorations ont toutes donné de belles cultures entre 6 et 9 jours.

3 liquides pleuraux (*purulents*) ont donné des colonies caractéristiques entre 7 et 15 jours.

2 pus ont conduit également à des cultures positives.

Le premier provenait d'une adénite cervicale. Il renfermait de très rares BK à l'examen direct et les cultures tentées en milieux usuels sont restées stériles. Nous obtenons des colonies de BK sur lames en 15 jours alors que l'inoculation à deux cobayes, qui est pourtant l'épreuve cruciale, reste négative. Dans ce cas, la méthode de Pryce garde l'avantage.

Le second concerne un pus d'oreille, obtenu par lavage. Nombreux B. acido-résistants à l'examen direct et cultures positives sur lames après 7 jours. La confirmation est donnée par le Loewenstein en 18 jours et par le cobaye en 23 jours. Les bacilles observés à l'examen direct étaient bien des BK et non pas des bacilles paratuberculeux si fréquents dans le conduit auditif externe. En outre, présence de bacilles diphtériques non toxiques pour le cobaye mais mis en évidence par cultures sur le sérum de bœuf.

6 urines à sédiments purulents (tableau I).

Tableau I

No	Pat.	B. a. - rés.	Cult. s/lames	Cobaye	Loew. (cult.)
84858	La.	nombreux	+ ap. 8 j.	+ ap. 34 j.	/
89203	Ch.	peu nomb.	+ ap. 10 j.	+ ap. 22 j.	/
89492	Da.	peu nomb.	+ ap. 7 j.	+ ap. 42 j.	/
91297	Ho.	rares	+ ap. 8 j.	+ ap. 30 j.	+ ap. 16 j.
89638	Zi.	ass. nomb.	- ap. 15 j.	- ap. 42 j.	- ap. 42 j.
92402	Ro.	ass. nomb.	- ap. 15 j.	- ap. 42 j.	- ap. 42 j.

Les quatre premiers cas donnent de belles cultures entre 8 et 10 jours, ce qui est très rapide pour des sédiments urinaires. La confirmation est donnée par le cobaye entre 22 et 42 jours et une fois par le Loewenstein en 16 jours.

Les deux derniers cas, avec B. acido-résistants assez nombreux, ne donnent pas de cultures positives sur lames après 15 jours, ni sur Loewenstein après 42 jours. Les cobayes restent négatifs. Il s'agit bien de bacilles paratuberculeux non pathogènes.

La méthode sur lames permet donc de poser un bactériodiagnostic rapide du BK dans les urines et surtout de faire, la différenciation d'avec les bacilles paratuberculeux.

Pour en avoir une preuve plus tangible, nous avons essayé de cultiver sur lames le bacille paratuberculeux le plus fréquent des voies urinaires : le *B. smegmatis*.

Après l'avoir repiqué sur Loewenstein, pour nous assurer de sa vitalité, nous l'avons mis en cultures sur lames de la façon suivante :

Un prélèvement de la culture, mis en suspension dans un tube de verre stérile, contenant des perles de verre et de l'eau physiologique, est longuement agité mécaniquement pour homogénéiser le matériel. On laisse déposer la suspension durant trois heures. On prélève le liquide légèrement trouble de la partie supérieure, que l'on mélange avec un tiers de plasma humain stérile. Ce mélange sert à confectionner les frottis.

De nombreux essais tentés avec ces préparations, traitées ou non par l'acide sulfurique, n'ont conduit à *aucune culture véritable sur lames* après 16 jours d'incubation. Tous les frottis restent semblables entre eux et semblables à la lame témoin qui présente un semis et quelques amas de B. acido-résistants

intacts, provenant de la culture primitive. Pour confirmer encore ces expériences, ajoutons :

1 suc gastrique, obtenu par tubage et renfermant de rares B. acido-résistants, qui morphologiquement semblaient bien être des paratuberculeux.

Les cultures par la méthode de Pryce sont restées négatives après 16 jours d'étuve et le cobaye également après 42 jours.

Il semble bien que l'on peut admettre que la microculture sur lames reste l'apanage du BK seul et non des bacilles paratuberculeux. Mais, comme il existe actuellement, d'après G. PENSO (11) environ mille souches de bacilles paratuberculeux, il y aurait là un énorme travail de contrôle à entreprendre et nous ne pouvons que le signaler aux chercheurs !

Tout le monde sait aussi que le BK ne se développe pas en présence de certains antibiotiques ou de simples produits chimiques. C'est le cas pour l'acide para-aminosalicylique ou PAS utilisé depuis un certain temps comme médicament anti-tuberculeux et comme adjuvant de la streptomycine. Nous avons essayé de *paralyser les cultures sur lames par l'adjonction de PAS* au milieu-sang. C'est, en effet, ce qui se produit et, sauf cas de PAS-résistance toujours possible, on constate que le BK ne pousse plus en présence de 20 à 50 gamma/cm³. Pratiquement, on peut donc confirmer la présence du BK en faisant deux cultures en parallèle : une avec du PAS en quantité suffisante et l'autre sans PAS. La première sera négative et la seconde positive.

Toutes les recherches et tous les contrôles que nous avons faits avec des prélèvements renfermant du BK, nous ont conduits, tout naturellement, à *la détermination de la streptomycino-résistance*, par la méthode des cultures sur lames, comme Bernard et Kreis l'ont d'ailleurs proposé.

Nous l'avons pratiquée huit fois : six fois avec des expectorations positives, une fois à partir d'une culture de BK obtenue sur Loewenstein et une fois à partir d'un pus ganglionnaire de cobaye. Ce dernier avait été injecté de liquide céphalo-rachidien présumé tuberculeux. L'épreuve a demandé 40 jours, soit 32 pour l'animal et 8 pour l'étude de la streptomycino-résistance.

Nous pouvons déclarer que *la méthode est d'une application facile et donne rapidement des résultats très satisfaisants*.

En outre, nous avons effectué, de la même manière, trois essais de *détermination de PAS-résistance*.

Une partie de nos expériences a été consignée dans le tableau II qui n'appelle pas de longs commentaires.

Concentr. du mil. en gamma/cm ³ ou de PAS	STREPTOMYCINO-RÉSISTANCE								PAS-RÉSISTANCE			
	No: 87114-H (Gaffky 6)	No: 88283-R (Gaffky 3)	No: 88869-W (Gaffky 4)	No: 89174-D (Gaffky 8)	No: 90256-F (Gaffky 4)	No: 90258-H (Gaffky 7)						
	cult. sur lame 9 j.	cult. de contr. 20 j.	cult. sur lame 8 j.	cult. de contr. 25 j.	cult. sur lame 7 j.	cult. de contr. 24 j.	cult. sur lame 8 j.	cult. de contr. 19 j.	cult. sur lame 9 j.	cult. de contr. 39 j.	cult. sur lame 9 j.	cult. de contr. 39 j.
1	++	++	++	++	±	0	++	++	0	0	±	0
10	++	++	++	++	0	0	++	++	0	0	±	0
20	++	++	++	++	Dose limite		++	++	0	0	±	0
50	++	++	++	++	0	0	++	++	0	0	±	0
100	++	++	0	++	0	0	++	++	0	0	±	0
1000	+	+	+	+	0	+	+	+	0	0	±	0
Témoin	+	+	+	+	0	+	+	+	0	0	±	0
Conclus.	souche résistante	souche résistante	souche mi-résistante	souche mi-résistante	souche sensible	souche sensible	souche assez résist.	souche résistante	souche sensible	souche sensible	souche mi-résistante	souche sensible

Tableau II

Les cas présentés dans ce tableau comprennent chacun une double détermination. La première colonne correspond aux cultures d'après Pryce et la seconde aux déterminations faites par les méthodes classiques (Loewenstein, puis Dubos). Ce contrôle a été fait, d'une manière tout à fait indépendante de nous, par M. le Dr W. Rosset, microbiologiste. Nous tenons

à lui dire ici notre vive gratitude pour son aide précieuse et désintéressée.

Il était d'ailleurs très utile et très important de comparer nos résultats. Aussi, est-ce avec satisfaction que nous avons enregistré la bonne concordance de ces quatre cas de détermination de streptomycino-résistance. *L'avantage reste cependant à la méthode sur lames qui donne des réponses beaucoup plus rapides.*

Pour nos études avec le PAS, nous avons opéré exactement de la même façon. Deux cas seulement sont donnés au tableau. Il s'agit des expectorations positives de deux malades hospitalisés et dont nous pouvons donner quelques renseignements cliniques grâce à l'amabilité de Mlle Dr G. Werner, à Leysin, que nous remercions très vivement.

N° 90256 : tbc. pulm. bilat. PNO g. en 45, encore entretenu. Extrapleural dr. en 48. Récidive bilat. en 49, avec tbc. laryn. — Trait. streptom. et PAS dep. 15 j.

N° 90258 : tbc. pulm. bilat. PNO g. en 49. — Trait. streptom. et PAS en grande quantité. Vient de terminer une cure de 60 g. de streptom., reçoit encore du PAS.

Nous enregistrons une très bonne concordance pour le patient 90256. Le médecin peut en tirer des considérations utiles pour la suite du traitement. Le cas 90258 est moins net. Quelle est la méthode qui a raison ? C'est difficile à dire. Les grosses doses de PAS administrées justifient peut-être le résultat de « souche mi-résistante ». Il y a là une étude à reprendre sur de plus larges bases.

Rappelons que pour les deux substances, *la dose limite de sensibilité est généralement fixée à 10 gamma/cm³.*

B. Prélèvements suspects de TBC mais ne renfermant pas de BK à l'examen direct.

5 liquides céphalo-rachidiens, présentant les caractères biochimiques de la méningite tuberculeuse (limpides, incolores, albumines totales augmentées, lymphocytose marquée, sucre diminué), ont donné quatre fois des cultures positives sur lames en 13 à 15 jours. Ces résultats sont des plus encourageants. Les contrôles par le cobaye et le Loewenstein ont été positifs pour les cinq cas. La méthode de Pryce a donc été en défaut une fois. On a pu ainsi confirmer quatre fois le diagnostic clinique plus rapidement que d'habitude, car on sait combien la recherche directe du BK dans les LCR est décevante. Notre

expérience nous autorise à dire que 20 % de réussite est un chiffre plus près de la vérité que celui de 80 % donné généralement par les manuels.

Un de ces liquides a été prélevé chez un enfant atteint de « méningite lymphocytaire ». Pas de BK à l'examen direct. Il reçoit cinq grammes de streptomycine par voie non-rachidienne. La ponction lombaire faite à ce moment-là est mise en cultures sur lames. Le résultat est positif en 15 jours. Le patient reçoit encore cinq grammes de streptomycine. Aujourd'hui il est cliniquement guéri. Malheureusement le cobaye n'a pas été fait. Nous pensons cependant que, quoique rétrospectif, le diagnostic de méningite tbc peut être posé.

Pour contrôler encore la méthode, les culots de quatre autres LCR pathologiques, mais dont la tbc semblait exclue, ont été ensemencés. Toutes les cultures sont restées négatives.

5 *liquides pleuraux*, clairs et lymphocytaires, ont tous donné des cultures négatives. Quatre de ces liquides étaient cependant certainement tuberculeux, la preuve ayant été faite par le cobaye. Quatre cas discordants sur cinq mettent ici la méthode de Pryce en état d'infériorité.

1 *liquide du genou*, avec dépôt purulent, conduit à une culture et à un cobaye négatifs. Bonne concordance.

2 *urines* (sédiments de reins séparés). Pas de BK dans le milieu-sang. Par contre, une urine tuberculise le cobaye et l'autre donne un résultat négatif. Un cas concordant et un cas discordant. La microculture est ici en défaut.

L'ensemble de nos expériences, qui ne représente que l'ébauche d'un travail plus général et plus complet que nous espérons pouvoir entreprendre par la suite, nous permet cependant de formuler ces

CONCLUSIONS.

La microculture par la méthode sur lames (de Pryce) est un procédé simple qui permet de faire multiplier très rapidement les différents types de BK contenus dans les prélèvements tuberculeux. Le temps d'incubation varie de 4 à 16 jours à 37 degrés centigrades. Pratiquement, l'examen se faisant toujours à double, on examinera la première préparation après sept jours et la seconde après deux semaines. La culture caractéristique en « cord-formation » semble cependant être l'apanage du type humain. Le milieu, constitué par du sang conservé « périmé », puis laqué par de l'eau distillée stérile, est un excellent milieu d'adaptation. La méthode permet, très probable-

ment, de différencier les BK des bacilles paratuberculeux. Ces derniers semblent ne pas se développer dans le milieu-sang. La méthode est applicable à la détermination de la streptomycino-résistance, et vraisemblablement à la détermination de la PAS-résistance. La rapidité des réponses lui confère toute sa valeur. La microculture sur lames est appelée à devenir un procédé d'isolement et de bactériodiagnostic du BK dans les cas où le germe est introuvable à l'examen direct. Les résultats obtenus avec les LCR sont très encourageants et doivent être poursuivis. Il est permis d'envisager le remplacement des techniques trop longues actuellement utilisées, par la méthode des lames, plus rapide et plus simple, pour autant qu'elle puisse offrir les mêmes garanties de sensibilité et de spécificité.

*Institut de chimie clinique,
Lausanne.*

BIBLIOGRAPHIE

1. PRYCE, D.-M. — *The Journ. of Pathol. and Bacteriol.*, 1941, 53, 327.
 2. ROTH, W. — *Schw. Zeit. für Patholog. und Bakter.*, 1949, Vol. XII, N° 5.
 3. GASTINEL, P. — *Précis de Bactér. médicale*, 1949, Masson édit.
 4. DUBOS. — *Journ. of exper. Med.*, 1946, 83, 409 et *Amer. Rev. of Tub.*, 1947, 54, 334.
 5. BENDA et URQUIA. — *C. R. Soc. Franç. de la Tub.*, séance du 8. V. 1949.
 6. WELLS. — *Bacilles tuberculeux et paratuberculeux*, 1950, Masson édit.
 7. SIEVERS, O. — *The Lancet*, 1949, 7 mai, 798.
 8. BERNARD, E. et KREIS, B. — *Annales de l'Inst. Pasteur*, 1949, 6, 653.
 9. BERNARD, E. et KREIS, B. — *Rev. de la Tub.*, 1949, N° 9-10, 737.
 10. ANDREJEW, E. — *Annales de l'Inst. Pasteur*, 1926, N° 9-10, 833.
 11. PENSO, G. — *Bacilles tuberculeux et paratuberculeux*, 1950, Masson édit.
-

FIG. 1. — Bacille de Koch dans une expectoration (gross. 600).

FIG. 2. — Cultures de la même préparation après sept jours (gross. 300) colonie en « cord-formation ».

FIG. 3. — Ces mêmes colonies au fort grossissement (600).

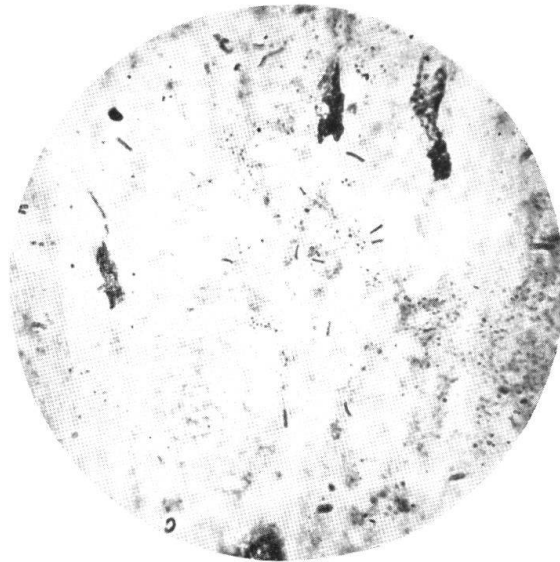


FIG. 1

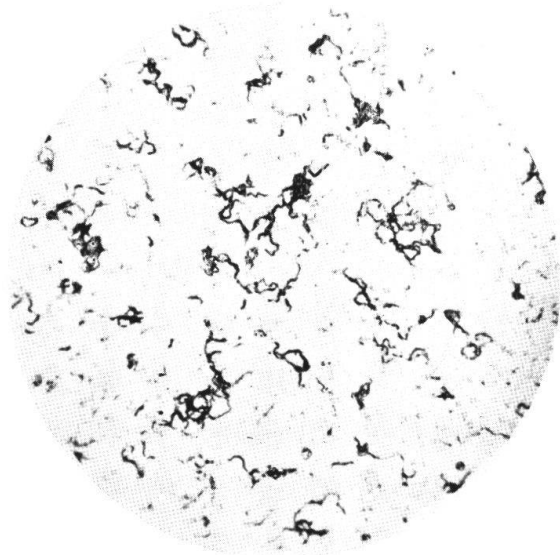


FIG. 2

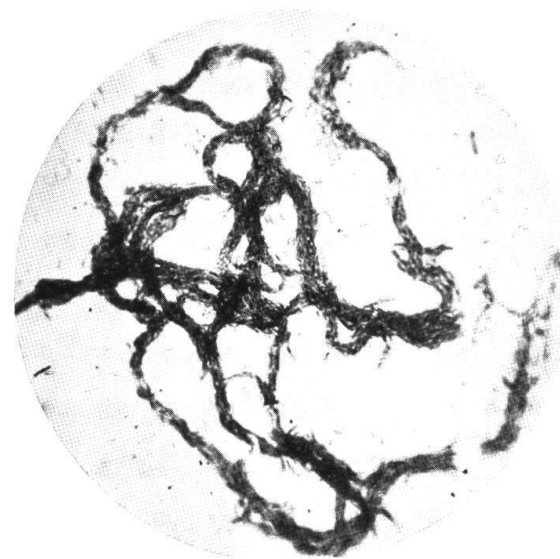


FIG. 3

(Clichés L. Hertig,
préparat. Clin. Méd. Univ. Hôp. Nestlé, Dir. Prof. L. Michaud.)