

## CULTURE D'*ENTAMŒBA GINGIVALIS*

(GROS, 1849), BRUMPT, 1913 <sup>(1)</sup>

Par Jaroslav J. DRBOHLAV, M. D., P. H. D.

Après avoir réussi la culture d'*E. dysenteriae* par la méthode découverte par W.-C. Boeck et moi, je me suis demandé si le même milieu ne pouvait être utilisé pour la culture d'autres amibes. *E. gingivalis* fut spécialement l'objet de mes recherches, mais à Boston, je ne pus me procurer le matériel nécessaire. A Londres un cas d'infection gingivale me fut fourni par le D<sup>r</sup> Wenyon, mais, les amibes étant très rares à l'examen direct, furent conservées 4 jours seulement en culture ; après le deuxième repiquage la souche fut perdue.

Etant à Paris, un bon matériel me fut fourni par le professeur E. Brumpt et des tubesensemencés le 23 janvier permirent d'obtenir une souche qui, au moment de la publication de cette note, en est à sa 62<sup>e</sup> subculture.

Les milieux employés sont les mêmes que pour la culture d'*E. dysenteriae* et la seule différence macroscopique réside en ce que dans les tubesensemencés le liquide surnageant est tout à fait limpide ; le nombre des bactéries est donc beaucoup moins grand. Les amibes se multiplient au fond du tube ; il est nécessaire de racler la base du plan incliné solide, car les amibes, de même que dans le cas d'*E. dysenteriae*, rampent dans les couches superficielles du milieu solide.

La première fois, pendant 2 mois, les milieux de Boeck (œuf coagulé et le liquide ovomucoïde) et la gélose-sang, furent utilisés. Après avoir réussi la culture d'*E. dysenteriae* sur d'autres milieux, j'ai essayé les milieux : gélose-sang chauffé, gélose N.N.N. et gélose à l'amidon.

Le premier parut excellent : les amibes pullulaient et vivaient de 5 à 10 jours dans un même tube. La gélose ordinaire N.N.N. et la gélose à l'amidon ne donnèrent aucun résultat au début, tant que l'on n'eut pas ajouté du carbonate de calcium pour neutraliser l'acidité produite par les bactéries. Les amibes alors se développèrent en grand nombre, parfois pendant 7 à 12 jours. Les milieux

(1) Traduit du manuscrit original par le D<sup>r</sup> Henri GALLIARD.

préparés avec une solution tampon (ou régulateur), ne furent pas favorables. Il semble que le calcium soit indispensable au développement d'*E. gingivalis*.

La réaction optima est entre pH 6, 8-7, 2, mais les amibes furent trouvées dans des tubes dont le pH était aussi bas que 5,4 et aussi haut que 8,2. La culture ne se développait pas quand l'ensemencement était fait directement dans des tubes pH, 5, 4-6, 3. Ceci indique que, pour *E. gingivalis*, il faut un milieu légèrement plus acide que pour *E. dysenteriae*.

En recherchant quelles étaient les meilleures solutions liquides j'ai trouvé que les amibes vivaient et se développaient plus ou moins dans 1 p. cent de glycogène, 1 p. cent de dextrine dans la solution de Ringer (pH 7,2). La salive diluée dans la solution de Ringer et filtrée au Berkefeld ne parut pas supérieure au liquide ovomucoïde. De même des émulsions chauffées ou non chauffées de leucocytes dans la solution de Ringer ne donnèrent pas de résultat. Dans les amibes de la bouche de l'homme on trouve souvent des leucocytes intacts, ou partiellement digérées ou parfois un noyau altéré. Mon expérience prouve que les amibes n'ont pas une prédilection spéciale pour les leucocytes et se nourrissent surtout de bactéries.

Jamais on n'observa de kystes, malgré l'essai du scatol et autres substances.

La température optima est 37°, mais les amibes vivent aussi à 30°. La culture ne se développe pas à la température ordinaire et les cultures positives meurent sans produire des formes de résistance.

En ce qui concerne la morphologie des amibes de culture, elles sont plus petites que les formes d'*E. dysenteriae* et mesurent environ  $20 \times 3 \mu$ - $30 \times 5 \mu$ , quand elles sont allongées et  $10$ - $23 \mu$ , quand elles sont rondes. Observées au microscope dans la chambre à 37°, les amibes sont nettement moins actives qu'*E. dysenteriae*, poussant simultanément des pseudopodes lobés dans toutes les directions.

Les bactéries ingérées sont aisément visibles à un fort grossissement, mais le noyau est invisible.

J'ai essayé de nourrir ces amibes avec des hématies, en additionnant de sang humain dilué la préparation microscopique et en les cultivant sur un milieu additionné de sang humain, mais en aucun cas ces amibes ne deviennent hématophages.

Pour savoir si *E. gingivalis* peut s'adapter à l'intestin et si elle produit de la pyorrhée, les deux expériences suivantes furent faites :

Un jeune chat fut inoculé avec 10 cc. de la 30<sup>e</sup> génération d'*E. gingivalis* ; l'anus fut bouché par ma méthode au collodion. Au bout de 48 heures, le bouchon fut retiré, mais l'examen fut négatif et le demeura 20 jours. A ce moment pour vérifier si le chat ne présentait pas une immunité naturelle vis-à-vis des amibes pathogènes, on lui inocula 10 cc. de la 51<sup>e</sup> génération d'une culture d'*E. dysenteriae*. Le chat présenta des amibes 3 jours après l'inoculation et mourut de dysenterie typique quelques jours plus tard.

Un jeune chien fut anesthésié et 1 cc. du sédiment d'une culture riche d'*E. gingivalis* fut injecté avec une seringue dans la gencive autour des dents, à des profondeurs différentes. Le chien fut en observations pendant plus d'un mois, mais ne montra jamais d'infection.

Quoique ces deux expériences ne soient pas absolument convaincantes, elles peuvent néanmoins contribuer à prouver que *E. gingivalis* n'est pas pathogène et que cette amibe ne peut vivre ni se développer dans l'intestin du chat.

#### RÉSUMÉ

La possibilité de cultiver *E. gingivalis* est décrite en détail de même que les conditions de culture. Une souche isolée à Paris a été conservée jusqu'à la 47<sup>e</sup> génération sur différents milieux, pendant 6 mois. On n'y a trouvé que des formes végétatives et aucun kyste dans aucune condition.

L'inoculation dans l'intestin du chat et dans les gencives d'un jeune chien n'ont donné aucun résultat.

*Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de médecine de Paris.*

---