

# MÉTHODE DE PRÉPARATION SIMPLIFIÉE DE MON MILIEU POUR LA CULTURE DU *SPIROCHÆTA RECURRENTIS*

Par LI YUAN PO (1)

Mon milieu à l'œuf, pour la culture des spirochètes de la fièvre récurrente, constitué par du blanc d'œuf coagulé et du jaune d'œuf dissous, a déjà été essayé avec succès par Manteufel et Dressler (1933), Levaditi et ses collaborateurs (1934) pour le *Spirochæta recurrentis* et par Scharrer (1934) pour le *S. gallinarum*. Toutefois, la méthode de préparation, décrite dans mon travail original (1933), exige un délai de plusieurs jours pour permettre à la solution de jaune d'œuf de se clarifier ; en cas d'urgence, ce qui arrive souvent, cette attente est très gênante. L'expérience m'a montré que de fines particules de jaune d'œuf ne gênent pas la croissance des spirochètes. J'ai donc simplifié, comme il suit, ma méthode de préparation. Dans un flacon conique contenant 400 cmc. d'eau physiologique à 0,85 p. 100, stérilisée, on ajoute aseptiquement le jaune d'un œuf dont la coquille a été préalablement stérilisée à l'alcool ; on agite vigoureusement pour bien émulsionner le jaune d'œuf. L'œuf doit être très frais, la coquille doit être de préférence brun foncé et le jaune de couleur jaune foncé et de consistance ferme. On ajoute environ 5 cmc. de cette suspension à chacun des tubes renfermant le blanc d'œuf coagulé par chauffage à 80-85° C. pendant vingt minutes. On met les tubes pendant une à deux heures au bain-marie à 56°C. Comme l'a proposé Scharrer, on peut ajouter la paraffine liquide avant le chauffage. Après refroidissement, le milieu est prêt à servir malgré son opacité. Si on ne doit pas l'employer immédiatement, il faut le conserver au frigidaire pour éviter des changements de composition. Après 4-5 jours au frigidaire (ou à l'étuve si on fait une culture), les fines particules de jaune d'œuf se déposent d'elles-mêmes : le liquide surnageant devient transparent et sa couleur est jaune paille vif. La solution de jaune d'œuf doit avoir cette couleur pour être favorable à la multiplication des spirochètes. En été, les œufs achetés à Shanghai ne donnent pas cette couleur ; elle est beaucoup plus pâle et le liquide ne convient pas pour la culture parce que, dans ces conditions, les spirochètes perdent très rapidement leur vitalité et finalement disparaissent complètement. Ce fait est très probablement dû à l'in-

(1) Traduit de l'anglais par le D<sup>r</sup> Maurice Langeron.

fluence du climat, par suite de laquelle la composition des œufs n'est pas la même que dans les autres saisons. Partout où on rencontre ces conditions, il est à conseiller de préparer à l'avance, à la fin du printemps, une grande quantité de milieu de culture; on garde cette provision dans le frigidaire pour s'en servir pendant l'été, car le milieu peut se conserver ainsi pendant longtemps.

En employant ce nouveau milieu, j'ai pu non seulement perpétuer une souche, que j'ai maintenue jusqu'au 38<sup>e</sup> passage, comme je l'ai mentionné dans ma première publication, mais j'ai réussi aussi, il n'y a pas longtemps, à isoler cinq souches de spirochètes de la fièvre récurrente directement du sang des malades. La 5<sup>e</sup> subculture d'une de ces souches a été inoculée avec succès dans le péritoine d'une souris, et j'ai pu faire ensuite 165 passages par souris en pratiquant tous les trois jours une inoculation intra-péritonéale d'une forte quantité de sang infecté. On peut aussi réaliser le passage direct des spirochètes du sang humain à la souris en ayant soin d'inoculer une forte quantité de sang du malade, renfermant un nombre suffisant de microorganismes. Il est important de noter qu'après 150 passages par la souris, la virulence des spirochètes n'augmente pas. En fait, nous n'avons jamais vu une souris mourir de son infection; celle-ci était pourtant quelquefois si sévère qu'il y avait presque plus de spirochètes que d'hématies et que beaucoup d'entre eux étaient agglomérés. Les essais d'infestation d'autres animaux de laboratoire, tels que cobayes, rats blancs et lapins, ont échoué quelle qu'ait été la quantité de sang de souris inoculée, aussi bien dans le péritoine que dans les veines. Le milieu préparé par cette méthode simplifiée est aussi bon que celui qui est préparé par l'ancienne méthode; il présente de plus l'avantage de rendre visible sans microscope la multiplication des spirochètes. En effet, si la culture est positive, il se produit une zone de trouble de forme conique à partir du fond du liquide. Cette particularité est probablement due aux mouvements des spirochètes qui font monter les particules de jaune d'œuf. Lorsque ce trouble n'apparaît pas, la culture n'a certainement pas réussi. Ce nouveau milieu est très favorable à la culture du *Spirochæta recurrentis* directement à partir du sang humain. On peut compter sur 100 p. 100 de succès lorsque l'opération est conduite aseptiquement, mais, pour les subcultures, il est nécessaire d'ajouter à chaque tube une ou deux gouttes de sang citraté.

#### BIBLIOGRAPHIE

- MANTEUFEL et DRESSLER. — *Ztrbl. f. Bakt.*, 1, Orig., CXXX, 1933, p. 188.  
LEVADITI. — *C.R. Soc. biol.*, CXVII, 1934, p. 357.  
SCHARRER. — *Ztrbl. f. Bakt.*, 1, Orig., CXXXII, 1934, p. 2-43.  
LI-YUAN-PO. — *Kitasato Arch. exper. med.*, X, 1933, p. 178.