

## LA COLORATION ÉLECTIVE DES ASCOSPORES PAR LA MÉTHODE DE KUFFERATH A FROID

Par R. VANBREUSEGHEM

Le but de cette courte note n'est pas de discréditer la méthode de Kufferath (1), telle qu'elle est pratiquée habituellement, c'est-à-dire en chauffant le frottis de levure, recouvert de fuchsine de Ziehl, jusqu'à émission de vapeurs. Le résultat obtenu est excellent, mais la technique est délicate et demande une surveillance de tous les instants pour que le colorant ne se dessèche pas sur les bords du porte-objet. M. Langeron a insisté sur ce point dans son *Précis de Mycologie* (2). Cette dessiccation, lorsqu'elle se produit, est souvent sans remède ou entraîne avec elle la nécessité d'employer de grandes quantités d'alcool lactique à 2 % pour nettoyer la préparation, en évitant toutefois de dépasser la limite de l'acido- et de l'alcool-résistance des ascospores. Cela n'est pas toujours facile à réaliser.

J'ai pu constater qu'il était plus simple, plus sûr et plus aisé de rechercher les ascospores dans les levures en pratiquant la méthode à froid. Je prépare le frottis de levure comme d'habitude : émulsion d'une trace de culture dans une goutte d'eau distillée stérile, suivie d'un étalement avec une pointe de pipette sur la platine chauffante. Je laisse refroidir, puis place le frottis dans un tube de Borrel rempli aux deux tiers de fuchsine de Ziehl. Après trente minutes d'immersion dans le colorant, le frottis est lavé à l'eau distillée. Je poursuis l'opération telle qu'on la pratique classiquement : décoloration par l'alcool lactique à 2 %, lavage à l'eau, coloration au bleu de Nil pendant trente secondes, lavage à l'eau et étalement de l'encre de Chine. Je signale en passant que pour obtenir un bon étalement de l'encre de Chine, j'en laisse tomber une goutte non diluée sur le frottis couvert d'un film d'eau distillée.

J'ai obtenu avec cette technique de Kufferath à froid d'excellents résultats sur plusieurs espèces de levures ascosporeées. Les spores des *Debaryomyces*, entre autres, sont parfaitement mises en évi-

dence. Des témoins pratiqués sur différentes espèces de levures anascosporées sont toujours restés négatifs. Le temps de coloration que j'ai adopté (30 minutes) ne doit pas être considéré comme un temps absolument obligatoire : j'ai eu des résultats similaires avec des temps allant de 15 minutes à une heure, mais il m'a paru que 30 minutes étaient le temps le meilleur.

On conçoit facilement qu'il est plus aisé, par cette légère modification apportée à la technique de Kufferath, de faire des colorations en séries sans être aussi limité dans le temps qu'avec la technique classique.

### BIBLIOGRAPHIE

- KUFFERATH (H.). — A propos des spores de *Pseudo-saccharomyces apiculatus* (Reess-Hansen) Klöcker. *Ann. Soc. de Zymologie*, Bruxelles, I, 1929, p. 214-218.
- LANGERON (M.). — *Précis de Mycologie*, Paris, Masson et Cie, 1945, cf. p. 421.

*Institut de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris (Directeur : Prof E. Brumpt), Section de Mycologie (Chef de Service : Dr M. Langeron).*

---