ANTAGONISME DES CULTURES DE *STAPHYLOCOCCUS* *AUREUS* ET DE *TRICHOPHYTON (ACHORION) SCHOENLEINI*

Par R. VANBREUSEGHEM (Anvers)

Dans un travail qui remonte à près de vingt ans, Catanei (1929) a étudié l'influence des cultures de staphylocoques, soit vivantes, soit tuées, soit filtrées, sur le développement du *Trichophyton schœnleini*. Les milieux de culture servant à cette étude furent le milieu d'épreuve de Sabouraud, la gélose servant à préparer le milieu NNN, la gélose ordinaire. D'une façon générale, il semble qu'on puisse tirer du travail de Catanei la conclusion que le staphylocoque favorise le développement de *T. schœnleini*. Il écrit, en effet, page 187 : « ...Le développement du champignon est d'autant plus grand que celui du microbe est limité, soit que la souillure ait été plus discrète, soit que, dans un même tube, on considère pendant les premières semaines les colonies où la bactérie a pris moins d'extension. »

Baudet (1923), d'autre part, a obtenu des cultures plus abondantes et plus duveteuses de *Trichophyton faviformes* sur un milieu gélosé à base de culture de staphylocoques en bouillon ordinaire, qui avait été stérilisé par la chaleur.

Il nous est apparu, à la lecture du travail de ces deux auteurs, qu'il était difficile de tirer des conclusions nettes, à cause de la variabilité des méthodes expérimentales employées et de la variation de constitution des milieux de culture.

Si l'on se rapporte au récent travail de G.-I.-M. Carlier (1948), dans lequel l'auteur étudie l'influence de sept peptones différentes sur le développement des dermatophytes, on est amené à constater que certaines peptones favorisent le développement bactérien aux dépens des champignons ; que d'autres permettent un développement trop aisé des moisissures ; que les unes sont favorables aux *Microsporon*, les autres aux *Trichophyton*.

Cette importance d'un milieu toujours égal à lui-même est d'ailleurs bien connue depuis les travaux de Sabouraud et les essais de

G.-I.-M. Carlier ne viennent qu'éclairer et préciser un point bien établi depuis longtemps.

Il nous a semblé intéressant de revoir cette influence des staphylocoques sur *T. schænleini* en n'employant qu'un seul milieu de culture ; jusqu'à plus ample informé, il ne faut donc, à notre avis, tirer des conclusions de notre travail que pour autant qu'elles se rapportent aux conditions dans lesquelles nous nous sommes placé.

Disons tout de suite que nous n'avons pu confirmer cette influence favorisante de staphylocoque sur les cultures de *T. schænleini* ; au contraire, les staphylocoques vivants ont toujours manifesté une action inhibitrice très nette sur leur développement.

Milieu de culture. — C'est en principe le milieu d'épreuve glycosé de Sabouraud. Mais, faute de pouvoir nous procurer la peptone granulée de Chassaing et le glycose massé de Chanut, nous nous sommes vu forcé de les remplacer par de la peptone bactériologique et du glycose chimique pur.

Nous insistons encore sur le fait que nous ne voulons pas attribuer aux conclusions de nos expériences une valeur supérieure à celle des conditions exactes dans lesquelles nous nous sommes placé.

Notre milieu de culture — que nous appellerons milieu de conservation — se compose donc comme suit :

Eau de ville	1.000 cm ³
Gélose	1 gr. 8
Peptone	3 gr.
Glycose	2 gr.

Ce milieu est stérilisé par chauffage progressif à l'autoclave jusqu'à 120° C. et maintenu à cette température durant vingt minutes.

Souches de Trichophyton schænleini. Grâce à l'obligeance du Dr Rivalier, directeur du Laboratoire municipal de la Ville de Paris, nous avons pu isoler ces souches que nous nommons RV 8, RV 15 et RV 20, à partir de cas de favus du cuir chevelu en mai 1947. Ces souches, entretenues sur milieu d'épreuve ou milieu de conservation, ont servi à nos expériences d'août à décembre de la même année. Elles étaient donc relativement jeunes.

Souches de Staphylococcus aureus. Deux souches de staphylocoques, St. 1 et St. 2, furent isolées chez un petit garçon et sa sœur atteints de furonculose en août 1947. On remarquera que, quoique cette infection procéda vraisemblablement de la même source, ou que l'un des deux enfants ait infecté l'autre, les staphylocoques isolés des lésions n'ont pas exactement le même pouvoir inhibiteur.

St. 3 fut isolé d'une hydro-adénite (août 1947). Enfin, St. 5 fut isolé d'un cuir chevelu favique en juin 1947. Ces différentes souches furent entretenues sur gélose bactériologique ordinaire, sauf St. 5 qui fut longtemps associé à une souche de *T. schænleini* sur milieu de conservation.

Voyons d'abord quelle est l'action des staphylocoques vivants sur les cultures de *T. schænleini*.

Expérience n° 1. — Trois souches de *Trichophyton schænleini* (RV 8, RV 15 et RV 20) sont cultivées, soit seules, soit avec trois souches de staphylocoques (St. 1, St. 2, St. 3) sur milieu de conservation de Sabouraud à 25°. Le staphylocoque et le champignon sont ensemencés sur la gélose au même endroit. Pour se faire une idée assez exacte de l'importance du développement des colonies, on mesure de temps en temps leur diamètre maximum.

Diamètre du T. schænleini après :

	10 JOURS	40 JOURS	80 JOURS
RV 15 seul	13 × 13 mm.	13 × 13 mm.	14 × 13 mm.
» + St. 1	6 × 6 mm.	9 × 8 mm.	11 × 8 mm.
» + St. 2	6 × 4 mm.	12 × 10 mm.	12 × 11 mm.
» + St. 3	7 × 5 mm.	9 × 9 mm.	9 × 8 mm.
RV 8 seul	9 × 7 mm.	11 × 10 mm.	12 × 11 mm.
» + St. 1	7 × 5 mm.	9 × 8 mm.	9 × 8 mm.
» + St. 2	5 × 3 mm.	5 × 3 mm.	6 × 4 mm.
» + St. 3	8 × 5 mm.	10 × 7 mm.	10 × 7 mm.
RV 20 seul	10 × 10 mm.	13 × 12 mm.	16 × 12 mm.
» + St. 1	8 × 6 mm.	10 × 7 mm.	
» + St. 2	8 × 4 mm.	11 × 11 mm.	
» + St. 3	8 × 5 mm.	9 × 9 mm.	

On peut conclure de cette expérience que les cultures de *T. schænleini* pures se développent davantage que celles contaminées par le staphylocoque. Il est, d'autre part, évident que l'action inhibitrice des staphylocoques est variable, St. 2 exerçant par exemple une action inhibitrice plus forte que les autres souches, au début de la culture tout au moins.

D'autre part, l'action inhibitrice est variable suivant le *Trichophyton* auquel le staphylocoque est associé.

Le phénomène de l'inhibition, tel qu'on l'observe, paraît donc net mais très complexe dans ses modalités.

On peut se demander, d'autre part, si les émulsions de staphylocoques tués par la chaleur exercent une influence similaire : l'expérience suivante répondra à cette question.

Expérience n° 2. — La souche de staphylocoque St. 2 est cultivée 48 heures, sur gélose ordinaire à 37°. Après ce laps de temps, on émulsionne la culture dans de l'eau physiologique à raison de 5 cm³ d'eau physiologique par tube de culture. L'opacité de l'émulsion est égale à 5 à l'échelle de Mac Farland.

Une partie de l'émulsion est chauffée durant une heure au bain-marie à 60°. A du milieu de conservation de Sabouraud, liquéfié au bain-marie et refroidi à 50°, on ajoute par tube (tube de 18 mm. de diamètre renfermant environ 10 cm³ de milieu) : 1° soit 1 cm³ d'émulsion non chauffée ; 2° soit 1 cm³ d'émulsion chauffée ; 3° soit 1 cm³ d'eau physiologique. Les mélanges sont soigneusement agités, puis inclinés. Après refroidissement, on ensemence avec trois souches de *Trichophyton schænleini* (RV 8, RV 15, RV 20). Les cultures sont maintenues à 25°.

	Diamètre des cultures de <i>T. schænleini</i> après :			
	4 jours	8 jours	30 jours	72 jours
a) RV 8 sur mélange conservation émulsion 60°	4 × 9 mm.	9 × 9 mm.	15 × 13 mm.	14 × 13 mm.
b) RV 8 sur mélange conservation émulsion non chauffée	2 × 1 mm.	4 × 2 mm.	5 × 2,5 mm.	5 × 2,5 mm.
c) RV 8 sur mélange conservation eau physiologique ...	3 × 3 mm.	9 × 9 mm.	15 × 14 mm.	18 × 16 mm.
a') RV 15	5 × 5 mm.	14 × 15 mm.	20 × 17 mm.	21 × 16 mm.
b') RV 15	4 × 1,5 mm.	3 × 5 mm.	6 × 4 mm.	6 × 4 mm.
c') RV 15	4 × 5 mm.	14 × 14 mm.	20 × 17 mm.	22 × 17 mm.
a'') RV 20	3 × 3 mm.	13 × 13 mm.	15 × 14 mm.	16 × 13 mm.
b'') RV 20	3 × 1 mm.	3 × 3 mm.	6 × 4 mm.	5 × 3 mm.
c'') RV 20	4 × 3 mm.	10 × 11 mm.	14 × 14 mm.	16 × 15 mm.

Conclusions. — 1° Le staphylocoque vivant, ajouté au milieu de conservation, inhibe très nettement le développement de *T. schænleini*. 2° Le staphylocoque tué ajouté au même milieu n'influence pas le développement de ce dermatophyte.

Si les émulsions de staphylocoques tués sont sans influence sur l'évolution de *T. schænleini*, on peut imaginer cependant que ces microbes développent dans leur milieu de culture des substances qui auraient une action sur les cultures de *T. schænleini*.

Expérience n° 3. — Le staphylocoque St. 2 est cultivé en bouillon ordinaire, durant 48 heures, à 37°. Après ce laps de temps, il est chauffé à 60° durant une heure. A du milieu de conservation, réparti dans des tubes de 12 mm. de diamètre à raison de 5 cm³ par tube, liquéfié au bain-marie et ramené à 50°, on ajoute, soit 1 cm³ de la culture de

St. 2, chauffée à 60°, soit 1 cm³ de bouillon ordinaire. On mélange et on incline.

Ces milieux de culture sontensemencés avec *Trichophyton schænleini* soit RV 8, soit RV 15, soit RV 20.

Conclusion. — Les cultures, maintenues à 25° durant deux mois, n'ont montré aucune différence appréciable dans leur développement, que le milieu de culture ait été additionné de bouillon ordinaire stérile ou du bouillon de culture de St. 2 stérilisé à 60°.

La présence du staphylocoque tué ou des produits de son métabolisme n'exerce donc, dans les conditions d'expérience où nous nous sommes placés, aucune influence sur le développement de *T. schænleini*.

Mais peut-être la présence des corps microbiens s'oppose-t-elle à l'action d'une substance hypothétique apparue au cours du développement dans le milieu microbien. L'expérience suivante répondra à cette question.

Expérience n° 4. — Comme dans l'expérience précédente, le staphylocoque St. 2 est cultivé en bouillon ordinaire, durant 48 heures, à 37°. Puis la culture ainsi obtenue est centrifugée à 2.500 tours durant une demi-heure pour éliminer la grosse masse des corps microbiens, 1 cm³ du liquide surnageant, après avoir été chauffé 1 heure à 60°, est ajouté à du milieu de conservation, comme dans l'expérience précédente ; une même quantité de bouillon ordinaire stérile ajoutée au même milieu constituera le témoin. Les tubes sontensemencés avec *T. schænleini* RV 8, RV 15, RV 20.

Conclusion. — Les cultures, conservées durant 2 mois à 25°, ne montrent aucune différence appréciable dans leur développement. Les produits de métabolisme du staphylocoque n'exercent donc, dans les conditions où nous nous sommes placés, aucune influence sur le développement des cultures de *T. schænleini*.

On peut cependant encore imaginer qu'une substance active se trouve enfermée dans le corps du microbe et qu'en détruisant celui-ci, par un chauffage par exemple, on pourrait mettre en évidence, par son action, un corps dont l'existence nous aurait jusqu'à présent échappé. Catanei, en préparant son « extrait » microbien, a cru pouvoir répondre par l'affirmative à cette question. En effet, suivant cet auteur, l'addition de ce filtrat à de la gélose simple (NNN) ou à de la gélose non sucrée de Sabouraud, peptonée à 1 p. 100, favorise la croissance de l'*Achorion*. Les quantités ajoutées ont été 5, 20, 55 gouttes d'extrait. « ...La croissance a été proportionnelle à la quantité ajoutée. »

Expérience n° 5. — Cette expérience a pour but de déterminer l'action de l'extrait de staphylocoque sur le développement de *T. schænleini*. Suivant Catanei, en effet, cet extrait aurait une action favorable sur la culture de dermatophyte.

A cet effet, nous cultivons, durant 48 heures, sur gélose ordinaire, notre souche St. 2. La culture est émulsionnée dans 5 cm³ d'eau physiologique (par tube de gélose inclinée); cette émulsion est chauffée durant 15 minutes à 40° puis filtrée sur Seitz. Le filtrat est ajouté à du milieu de conservation liquéfié et refroidi, à raison de 1 cm³ de filtrat pour environ 10 cm³ de milieu. Comme témoin, on ajoute au milieu de conservation de l'eau physiologique. Après un demi-mois d'observation, le *T. schænleini* RV 8, ensemencé sur chacun des milieux, a fourni des colonies de même importance: 14 × 13 mm. Quinze jours après le début de la mise en culture, les colonies avaient les dimensions de 6 × 5 mm. (extrait) et de 6 × 6 mm. (eau physiologique).

Nous vérifierons une autre expérience de Catanei, qui a vu des filtrats de cultures staphylococciques non chauffées agir favorablement sur le développement de *T. schænleini*.

Expérience n° 6. — Egalement suivant Catanei, un filtrat de bouillon de culture de staphylocoque aurait une action favorisante sur le développement. Une culture de staphylocoque St. 2, en bouillon ordinaire durant 4 jours à 37° est filtrée sur Seitz. Le filtrat est ajouté à la dose de 1 cm³ à environ 5 cm³ du milieu de conservation; comme témoin, on emploie évidemment du bouillon ordinaire. Nous n'observons aucune différence dans le développement de *T. schænleini* RV 8 ensemencé sur ces deux milieux.

Des expériences précédentes, il semble donc bien qu'on puisse conclure que le staphylocoque vivant exerce une action inhibitrice sur le développement de *T. schænleini*; que la force de cette action est variable suivant les souches de staphylocoques; que le staphylocoque ne produit dans le milieu où il est cultivé aucune substance qui inhibe ou favorise le développement de *T. schænleini*; qu'enfin, le chauffage d'une émulsion de St. à 80° durant 15 minutes — appelons, si l'on veut, le résultat de ce chauffage « extrait » — ne présente pas davantage d'action similaire.

A côté d'assez nombreux faits négatifs, il reste un fait positif bien net: le staphylocoque vivant inhibe le développement de *T. schænleini*. Comment s'exerce cette action? Nous nous sommes demandé si le staphylocoque, se développant plus rapidement, même à 25°, que *T. schænleini*, ne crée pas à la surface du milieu de culture une sorte de film protecteur, qui empêche *T. schænleini* d'utiliser au maximum la surface de la gélose.

Expérience n° 6. — Cinq tubes de 18 mm. de diamètre renfermant du milieu de conservation incliné sontensemencés de la façon suivante :
Tube n° 1 : avec *T. schænleini* RV 15.

- n° 2 : d'abord avec le staphylocoque St. 2, largement étalé à la surface de la gélose, puis par *T. schænleini* RV 15 au centre de ce premier ensemencement.
- n° 3 : comme le tube n° 2 mais le staphylocoque St. 2 est remplacé par St. 3.
- n° 4 : *T. schænleini* est ensemencé le premier, puis une anse de nichrome, chargée d'un fragment de culture de St. 2 est mise en contact avec le fragment de *T. schænleini* sans toucher la surface de la gélose.
- n° 5 : comme le tube n° 4, mais le staphylocoque St. 3 remplace St. 2.

Et voici quelles furent nos observations.

Diamètre des colonies de T. schænleini RV 18 après :

	10 JOURS	18 JOURS	50 JOURS
	—	—	—
Tube n° 1	5 × 3,5 mm.	10 × 10 mm.	12 × 12 mm.
— n° 2	3 × 2,5 mm.	8 × 5 mm.	10 × 8 mm.
— n° 3	2 × 1,5 mm.	6 × 5 mm.	9 × 9 mm.
— n° 4	4 × 3 mm.	9 × 8 mm.	12 × 11 mm.
— n° 5	3 × 2,5 mm.	7 × 7 mm.	10 × 9 mm.

On pourrait conclure de l'expérience précédente que si le staphylocoque inhibe le développement de *T. schænleini*, ce n'est pas tellement parce qu'il le contamine, que parce qu'il prend possession le premier, à cause de son développement plus rapide, du milieu de culture mis à leur disposition.

N'agirait-il donc que comme un film, en empêchant le *T. schænleini* de s'étendre à l'aise ? Voici l'expérience que nous avons réalisée pour essayer de répondre à cette question :

Expérience n° 7. — Quatre tubes de milieu de conservation sont ensemencés sur toute leur surface avec la souche de staphylocoque St. 2 et placés à l'étuve à 37°, durant 48 heures. Après ce laps de temps, deux des cultures *in situ*, sont chauffées deux jours de suite au bain-marie à 60°. Les deux tubes non chauffés sont placés pendant ce temps-là en glacière. On vérifie, en prélevant une parcelle de chaque culture et en l'ensemencant en bouillon, que les tubes chauffés ont été stérilisés et que ceux placés en glacière renferment des cultures bien vivantes.

Chacun des tubes est alors ensemencé avec *T. schænleini* RV 8.

L'observation ultérieure de ces cultures a montré que seules les cultures vivantes exerçaient une inhibition sur le développement de *T. schænleini*.

RÉSUMÉ

Des différentes expériences rapportées ici, on peut tirer les conclusions suivantes :

1° le staphylocoque doré vivant exerce une influence inhibitrice sur le développement des cultures de *T. schænleini* ensemencées sur milieu de conservation ;

2° ce pouvoir inhibiteur varie suivant les souches de staphylocoques et les souches de *T. schænleini* ;

3° le pouvoir inhibiteur ne se retrouve ni dans les cultures stérilisées par la chaleur, ni dans les extraits, ni dans les filtrats.

BIBLIOGRAPHIE

- BAUDET (E.). — Recherches expérimentales sur les *Trichophyton* animaux à cultures faviformes. *Ann. parasit. hum. et comparée*, X, 1932, p. 520.
- CARLIER (G. I. M.). — An all British Mycological Culture Medium. *Brit. J. of Dermat. and Syphil.*, V, 60, Feb. 1948, pp. 61-63.
- CATANEI (A.). — Cultures d'*Achorion schænleini* et de *Trichophyton* sur milieux artificiels en présence de microbes et de produits microbiens et sanguins. *Arch. Inst. Past. d'Algérie*, VII, 1929, p. 184.

Institut de Médecine tropicale Prince-Léopold, à Anvers
(Directeur : prof. A. Dubois)