

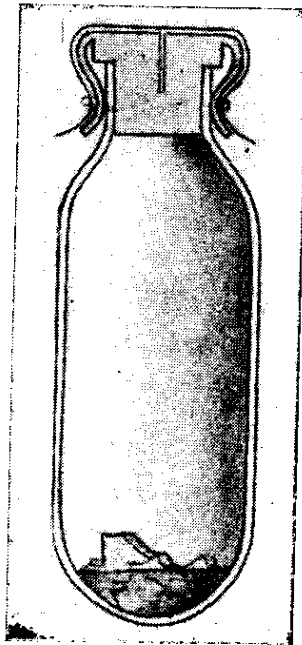
MÉTHODE NOUVELLE DE CULTURE DES MICROBES AÉROBIES
ET ANAÉROBIES STRICTS PROVENANT DU SANG,

Note de FRANÇOIS PATOCKA,
présentée par M. R. DUJARRIC DE LA RIVIÈRE.

La plupart des méthodes habituellement employées pour l'isolement des microbes du sang, au cours des maladies septiques, ne sont pas sans inconvénients : 1°) dans la plupart des cas, on néglige les microbes particulièrement sensibles et exigeants quant au milieu de culture ; 2° on ne pense pas à éliminer l'action des anticorps qui, toujours présents dans le sang normal, sont d'autant plus nombreux que la maladie est de longue durée ; 3° on cultive d'ordinaire uniquement des microbes aérobies ; exceptionnellement certaines espèces d'anaérobies moins sensibles à l'oxygène peuvent se multiplier dans l'hémoculture ordinaire grâce au pouvoir réducteur des globules rouges, alors que les anaérobies très sensibles ne se multiplient pas du tout. Pour remédier à ces divers inconvénients on cultive parfois les hémocultures dans des anaérostates. Parmi les autres méthodes, il faut citer celle de Schottmüller, qui consiste à cultiver le sang dans un vase spécial rempli d'une grande quantité de gélose glucosée fondue directement au lit du malade. Une excellente méthode est celle, qui consiste à répartir l'hémoculture dans des tubes de Hall, ce qui favorise partiellement la croissance des microbes anaérobies, mais néglige l'action des anticorps. Il semble que la méthode la plus parfaite soit celle de Böez. Néanmoins sa réalisation pratique est très compliquée, exige trop de temps, est coûteuse et le récipient employé occupe trop de place dans l'étuve. En conséquence, et avec la conviction, confirmée par des observations très nombreuses, qu'une quantité minime de microbes, gênés dans leur croissance par les influences les plus diverses, ont la possibilité de cultiver en quantité appréciable uniquement dans les milieux liquides, nous avons proposé une méthode spéciale.

Nous employons des ampoules en verre épais, d'une longueur de 11,5 cm., d'une largeur de 3,5 cm., ayant une base arrondie, un col court et légèrement moins large, dont les dimensions sont calculées de telle façon qu'on puisse mettre ces ampoules dans une centrifugeuse pour tubes de grande dimension. Cette ampoule est fermée par un bouchon spécial en caoutchouc de 2 cm. d'épaisseur, perforé d'avance à un peu plus de la moitié de son épaisseur, enveloppé d'un papier parchemin fixé à l'ampoule par une soie solide. On met à l'intérieur 2 c.c. de solution de

citrate de soude à 10 p. 100 et quelques morceaux de foie de cobaye (environ le tiers du foie d'un fort cobaye). Le tout est stérilisé à l'autoclave. On prend au malade 10 c.c. de sang à l'aide d'une seringue stérilisée. Après avoir retiré la seringue on en perce le bouchon et l'on vide le sang dans l'ampoule, dont on a quelques instants auparavant enlevé le parchemin. On agite légèrement le tube et on le fait centrifuger durant 20 minutes à une vitesse de 3.000 tours. Les microbes, contenus dans le sang, sont centrifugés avec les globules du sang au fond de l'ampoule, et une couche de plasma limpide reste à la surface. Après avoir ouvert l'ampoule le plus rapidement possible, on aspire, puis



Ampoule pour la culture des microbes aérobies et anaérobies stricts provenant du sang.

on décante le plasma à l'aide d'une pipette Pasteur, c'est-à-dire qu'on élimine la plus grande partie des anticorps. Sur les globules centrifugés on verse environ 80 c.c. de bouillon glucosé à 1 p. 100 et additionné de 2 p. 1.000 de mélange de solution du phosphate potassique primaire et secondaire (1:3), que l'on a préparé d'avance dans les tubes spéciaux.

Les ampoules à hémoculture sont fermées et mises à l'étuve. Au bout de 24 heures d'étuve on fait le premier repiquage sur le milieu solide (nous jugeons ce procédé nécessaire, étant donné, que, d'après notre observation, les microbes apparus dans les premières 24 heures se lysent par la suite, dans un certain nombre de cas). Après le premier repiquage on replace l'hémoculture à l'étuve, et dès qu'on remarque le premier signe de culture positive, on fait de nouvelles préparations et de nouveaux repiquages. Si l'hémoculture reste stérile, on cesse les repiquages au bout de six jours d'étuve.

Notre procédé présente les avantages suivants. 1°) Avant tout,

il est possible, grâce à ces ampoules, d'envoyer le sang à des distances éloignées ; 2°) il garantit la stérilité du matériel prélevé ; 3°) il élimine en grande partie les influences néfastes des anticorps ; 4°) le pouvoir réducteur des morceaux de foie joint au glucose du bouillon, favorise sans autre procédé la croissance des microbes même les plus strictement anaérobies ; 5°) l'hémoculture avec les matières extraites des morceaux de foie, avec le glucose et les phosphates, nous offre un milieu de culture si nutritif, que nous avons pu y cultiver sans difficultés et sans addition de sérum des microbes très exigeants, comme le gonocoque ; 6°) la quantité de phosphates répondant à peu près au système de tampon nous aide à maintenir une réaction constante, augmente la force de croissance de tous les microbes et avec le glucose et les organes réducteurs créent des conditions favorables à la culture du bacille de Bang. L'inconvénient de cette hémoculture est que, par insuffisance de précautions, on peut, en aspirant le plasma à l'aide de la pipette, et en ajoutant le bouillon, introduire des impuretés.

Au cours de nos recherches, nous avons très facilement réussi à cultiver dans ces ampoules, du sang pris par ponction du cœur le bacille de l'œdème malin, le bacille de Bang et plusieurs autres qui avaient été préalablement injectés à des animaux dans le courant circulatoire. Parmi les nombreuses hémocultures provenant de septicémie les plus diverses de l'homme, nous sommes parvenus à cultiver très souvent le *B. perfringens*, les streptocoques strictement anaérobies, le gonocoque, et quelques anaérobies stricts non sporulés. Les streptocoques ordinaires, les staphylocoques, les pneumocoques poussent mieux qu'avec les procédés d'hémoculture habituelle. Pour les bacilles typhiques et paratyphiques cette méthode est incomparablement plus sensible, que celle à la bile de bœuf stérilisée.