

ESSAIS DE CULTURE DU MYCOBACTERIUM LEPRAE
(COCCOTHRIX LEPRAE, LUTZ 1886) PAR LA
MÉTHODE DE SUMIYOSHĪ-SHIGA ¹

Par LE DR. H. C. DE SOUZA-ARAÚJO
Rio de Janeiro, Brasil

Pendant six mois, de septembre, 1931, à mars, 1932, j'ai fait dix séries d'ensemencements de tissus lèpreux, suivant la méthode de Sumiyoshi-Shiga, afin d'isoler et de cultiver le *Mycobacterium leprae*.

J'ai travaillé seulement avec des lèpromes frais, excisés aseptiquement et sans peau, de douze lèpreux. La période d'observation des cultures dura du 24 septembre au 28 juin passé, quand les derniers tubes ont été abandonnés. Les sédiments obtenus par la méthode de Shiga étaient toujours très riches en bacilles de Hansen. Les frottis de ce matériel, examinés 70 jours après la coloration par la méthode de Ziehl-Neelsen, montraient de nombreux bacilles d'aspect normal, ce qui prouve qu'ils n'avaient pas été affectés, dans leur morphologie, par l'acide sulfurique. Les milieux de culture utilisés ont été: la pomme de terre glycérimée, préparée suivant la technique de Shiga, la gélose glycérimée, les milieux de Petroff, de Loewenstein, etc. Les premiers deux à trois jours après l'ensemencement, les tubes restèrent à l'étuve à 37° C. et le reste du temps à la température du laboratoire (moyenne entre 20 et 25° C.).

Résultats.—Une seule fois (4-ème série) j'ai observé la formation de colonies sur gélose glycérimée, entre 30 et 60 jours. Ces petites colonies, de couleur jaunâtre, glutineuses, humides et adhérentes au milieu, étaient une culture pure de bacilles acido-résistants semblables au bacille de Hansen. Après la 2-ème et la 3-ème générations la germination s'est arrêtée, mais les frottis des trois générations, examinés du 70-ème jusqu'au 250-ème jour, ont montré, toujours, une énorme quantité de bacilles, premièrement d'aspect morphologique normal et après 4 mois quelques-uns normaux et la grande majorité réduite à des coccothrices tels que les a décrits le Professeur Adolphe Lutz (1886). Sur la pomme de terre glycérimée (le milieu préféré)

¹ This article is a modification of one read before the Rio de Janeiro branch of the Société de Biologie de Paris on June 29, 1932, and published in the *Comptes Rendues de la Société de Biologie*, 111 (1932), 331.

on n'a jamais observé la formation de colonies. Le matériel ensemençé (sédiment couleur de cendre), est resté visible pendant des mois à la surface du milieu, conservée toujours humide par le bouillon. Les frottis de la presque totalité de ces cultures, colorés par le Ziehl-Neelsen, montraient des amas de bacilles, d'aspects très variés, donnant l'impression de multiplication franche, mais je crois qu'ils provenaient de la semence. Ces cultures ont été examinées jusqu'au 6-ème mois. Après trois mois la majorité des bacilles se montraient granuleux et beaucoup d'eux avec des granulations unipolaires, de diamètre plus grand que le bacille. Des frottis de matériel recueillis au hasard, sur des pommes de terres ensemencées depuis 5 et 6 mois, montraient presque uniquement des granulations acido-résistantes, isolées ou groupées, et quelques rares bacilles dégénérés. Shiga a considéré toutes ses cultures en pomme de terre comme positives, malgré l'absence de colonies visibles. Il dit aussi que le passage des cultures, de la pomme de terre sur la gélose a donné des colonies visibles. Dans mes mains ce résultat a été toujours négatif. Shiga a donné une très grande importance à la formation de granulations dans les cultures, qu'il considère comme un caractère différentiel avec le bacille de la tuberculose.

Les résultats microscopiques des autres séries ont été plus ou moins les mêmes.

Désirant savoir si l'acide sulfurique avait une action impédiente sur les cultures du *Mycobacterium leprae*, j'ai traité quelques unes de ces cultures par la méthode de Shiga comme si elles étaient des tissus lèpreux, et je les ai ensemencées sur différents milieux.

Les résultats ont été les suivants :

Le streptothrix de Deycke, et les bacilles de Currie, "Lépre 18" de la collection de l'Institut Lister de Londres, et les deux variétés des bacilles de Ota, n'ont germé dans aucun milieu. Les bacilles de Kedrowsky, de Brinckerhoff I, et du rat I, ont germé très bien dans les principaux milieux. Je vais poursuivre cette expérience avec les autres cultures du *Mycobacterium leprae* de ma collection.

CONCLUSIONS

1. La culture du *Mycobacterium leprae*, par la méthode de Shiga,⁽¹⁾ nous semble impossible, ou du moins très difficile, parce que la majorité des bacilles provenant de la peau sont morts, comme l'affirme Lutz, ou sont réduits dans leur vitalité par l'action de l'acide sulfurique.

2. La présence des bacilles acido-résistants dans les milieux ensemencés, pendant des mois, prouve leur résistance à la dégénérescence et quelquefois leur multiplication grâce à l'existence d'un reste de tissu humain dans la culture.

3. Les granulations vues dans les vieilles cultures doivent être considérées comme des *conidia*, plus résistants que les bacilles, mais sans pouvoir régénérateur ou germinatif perceptible.

4. La fréquence avec laquelle M. Ota a isolé et cultivé un bacille acido-résistant du sang des lèpreux (9 fois sur 54), prouve sa spécificité et tendrait à laisser supposer que la méthode de Loewenstein est préférable à celle de Shiga, ce que nous tâcherons de prouver.

REFERENCE

- (1) SHIGA. Studien ueber die Kultur der Leprabacillen. Centralblatt f. Bakteriologie, I Abteil., Original. 114 (1929) 511-518.