

# AMELIORATION TECHNIQUE DE LA RECHERCHE DU BACILLE DIPHTERIQUE DANS LE DEPISTAGE EN SERIE (\*)

A. DODIN

Rares sont les pays où le souci de la protection de l'enfance n'a su imposer ou rendre obligatoire la vaccination contre la diphtérie. Madagascar fait, hélas, partie de ceux-là. Nous en sommes réduits à la recherche du bacille diphtérique chez les sujets contacts de malades. Cette prophylaxie, c'est un peu le combat de Don Quichotte contre les moulins à vent puisque nous avons pu, en moins de douze mois, isoler 270 souches de bacilles diphtériques. Lorsque se déclare un cas de diphtérie, le laboratoire doit rechercher le germe dans la gorge de 40 ou 50 contacts. Ce chiffre peut atteindre 200 quand le malade est d'âge scolaire. Nous nous sommes donc attachés, après tant d'autres, à mettre au point une technique associant rapidité, sécurité et économie de moyens pour l'identification de *Corynebacterium diphtheriae*.

## PRINCIPE

Le tellurite de potassium est parmi les composés les plus employés dans la recherche du bacille diphtérique. Ce sel de potassium ( $K_2 Te O_3$ ) a été introduit en bactériologie par KLETT (1) en 1900, COCHRAN et TROCH (2) en 1910. Jusqu'en 1949, le tellurite n'entraît que dans la composition des milieux de culture. Pratiquement, seuls les milieux de Clauberg et Welsh (3-4) sont actuellement utilisés. Ils permettent le diagnostic de *C. diphtheriae* en quarante-huit heures ou trois jours. Leur conservation est courte (quatre jours). En 1949, WACUSTEIN (5) a recherché le pouvoir réducteur de certains microbes, des levures, des leucocytes humains et de certains tissus au moyen de ce sel de potassium. HEWITT, en 1951, démontra qu'il y a réduction cytoplasmique du tellurite en tellurium de couleur noire. Différents essais de diagnostic rapide de la diphtérie ont déjà été essayés au moyen du tellurite. Les auteurs russes KALACHNIKOVA, TALAIKO et coll. (6) imbibent préalablement l'écouvillon d'une solution de tellurite à 2 p. 100. Certains auteurs français (JAMBOX) ont même essayé en badigeonnant la gorge du malade de tellurite de faire rapidement le diagnostic de diphtérie.

(\*) Communication à la Soc. Sc. méd. Madagascar du 22 décembre 1958

Le fait de mettre en contact, au départ de la culture, le germe et le tellurite amène un ralentissement de la culture et une modification dans la morphologie du germe.

Nous avons cherché s'il n'était pas possible d'éviter ces deux écueils en utilisant les bactéries en cours de croissance. Celles-ci réduisent intensément le tellurite.

## METHODE

Nous avons employé la technique suivante : les tampons mouillés sont ensemencés sur sérum coagulé, placés à l'étuve à 37°, selon la méthode classique. Après douze heures d'incubation, les milieux sont mis en contact avec une solution de tellurite de potassium à 1/100 puis replacés à l'étuve, couchés pendant trente minutes. Chaque tube est ensuite contrôlé. Un certain nombre de tubes présentent des colonies noires. Toutes les colonies noires sont alors vérifiées (Gram, Gram décoloré, recherche des granulations de Neisser). Le diagnostic de *Corynebacterium diphtheriae* peut alors être posé.

Nous avons contrôlé 492 prélèvements de gorge par la méthode classique (Gram, Gram décoloré, bleu d'Albert); nous avons mis en évidence de cette manière trente-deux prélèvements positifs en bacilles de Loëfller, soit 6,5 p. 100.

Ces mêmes 492 prélèvements ont été mis en contact avec la solution de tellurite de potassium. Quarante-vingt-quinze ont montré des colonies qui réduisaient le tellurite; ces colonies, vérifiées, ont montré que quarante-sept fois il s'agissait de *C. diphtheriae*, quarante-huit fois d'autres germes, soit une positivité de 9,5 p. 100 au lieu de 6,5 p. 100 par la méthode classique.

## SPECIFICITE

Pour la moitié des prélèvements tellurite (+), les germes n'étaient pas des bacilles de Loëfller; nous les avons identifiés : 39 colonies ayant réduit le tellurite se trouvaient être des staphylocoques, 9 des bacilles subtilis, tous germes faciles à distinguer des corynebactéries par le Gram classique.

Nous avons recherché la spécificité du tellurite dans le groupe même des corynebactéries. Dix souches de diphtérimorphes très voisins de *C. diphtheriae* par leur caractères biochimiques et par leur morphologie nous ont été adressés par le professeur SOTTIER. Aucune de ces souches n'a réduit le tellurite de potassium, il en a été de même pour sept souches de *C. hoffmanni*, trois souches de *C. culis commune* et deux souches de *C. kütcheri* isolées de notre élevage de rats.

## SENSIBILITE ET FIDELITE

Le tellurite joue le rôle de révélateur sur toute la surface du milieu, permettant d'y déceler la moindre colonie noirissant alors

que le Gram classique, après raclage à l'ose et étalément, n'intéresse que les colonies d'une partie de la surfaceensemencée.

Le fait que certains staphylocoques et que le bacille subtilis réduisent le tellurite de potassium n'enlève rien à la sensibilité de la méthode, ces germes étant facilement différenciés par leur morphologie d'autant que le noircissement du bacille subtilis est très facilement reconnu par un observateur moyennement entraîné : décollement des colonies de bacilles subtilis qui se collectent au fond du tube en virant au blanc sale.

Notre expérimentation a montré que, par rapport à l'examen classique, notre méthode était plus fidèle : 9,5 p. 100 au lieu de 6,5 p. 100 de positivité. Quinze fois, notre méthode a permis de mettre en évidence le bacille de Loëfller que le Gram n'avait pas révélé.

Rapidité, sécurité, économie de moyens nous ont incité à appliquer cette méthode dans le dépistage en série.

### APPLICATION

Nous avons reçu 6.343 prélèvements de gorge en moins de douze mois. Mis en contact avec le tellurite, 552 prélèvements ont montré des colonies qui le réduisaient. Les colonies noires de ces 552 prélèvements ont été colorés au Gram et nous ont donné 270 souches de bacilles de Loëfller, soit 4,25 p. 100 des prélèvements effectués.

Nous n'avons donc eu à pratiquer que 552 colorations de Gram sur des colonies parfaitement réparables et 552 examens microscopiques au lieu des 6.343 promis à notre observation.

### CONCLUSION

La méthode au tellurite de potassium que nous proposons apporte, en plus de sa rapidité et de sa facilité d'exécution, une spécificité non négligeable dans la recherche de *C. diphtheria*.

Nous tenons à remercier ici M. le professeur SOMMER des souches qu'il a bien voulu nous adresser, d'autant que ce travail a été ébauché par nous dans son laboratoire en 1952.

### RESUME

L'auteur propose de rechercher les colonies de bacille de Loëfller directement sur la surface du sérum coagulé au moyen d'une solution de tellurite de potassium, K<sub>2</sub>TeO<sub>6</sub>, à 1 p. 100. Les colonies se colorent en noir. La coloration de Gram permet de différencier le bacille de Loëfller des autres germes qui réduisent le tellurite. La méthode est plus sensible que la méthode classique : 9,5 p. 100 de positivité contre 6,5 p. 100. Plus rapide et plus économique cette méthode lui a permis de ne pratiquer que 552 examens microscopiques sur 6.343 prélèvements avec 270 résultats positifs.

## BIBLIOGRAPHIE CITÉE

1. KLETT A. - Z. Hyg. 1900, 33, 137.
2. CONRADI H. et TROCH P. - Munch. Med. Woch. 1912, 59, 1612.
3. CLAUBERG K. W. - Zentralbl. Bakt. Org. 1929, 117, 539, 1931, 120, 321, 1935, 135, 529.
4. WELSCHE, DEMELENNE et JAMINOT. - Rev. Belge Sci. Med. 1943, 15-1.
5. WACHSTEIN M. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1949, 72, 175-8.
6. KALACHNIKOVA, TALAIKO A. Z., BELAYA N.-K. et GOSSEVA A. D. — Sovetsk. 1954, 8, 16-19.