

Recherche du bacille tuberculeux dans le lait

Autor(en): **Bouvier, G.**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires**

Band (Jahr): **84 (1942)**

Heft 1

PDF erstellt am: **19.05.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-589184>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Recherche du bacille tuberculeux dans le lait.

par Dr. G. Bouvier, Laboratoire bactériologique de
Veterinaria S.A. Zurich.

La tuberculose de la mamelle est une affection fréquente; pour certains auteurs (Andersen, Martel, Ostertag), elle se rencontrerait dans la proportion de 5 à 15% chez les vaches tuberculeuses. Fontaine et Huguier (1.).

Il est bien connu que lors d'examens microscopiques de laits malades, il est très rare de trouver des bacilles tuberculeux. Ce n'est guère que dans le 5 pour mille des culots de centrifugation que le bacille de Koch se rencontre, parfois rare, généralement très abondant dans les mammites anciennes.

Sur 1467 laits examinés, 455 étaient atteints de mammite streptococcique, 60 étaient infectés d'autres germes (Colibacille, pyogènes, diplocoques), 72 étaient cliniquement tuberculeux, avec examen microscopique négatif et 7 enfin montraient des acido-résistants caractéristiques après coloration au Ziehl-Neelson.

Ainsi un très fort pourcentage de laits anormaux, non infectés de streptocoques de la mammite contagieuse ou cliniquement tuberculeux, reste sans diagnostic précis, par manque d'une méthode simple et relativement peu coûteuse de recherche du bacille de Koch.

L'examen microscopique après homogénéisation du lait par la méthode de Thörner (2.) offre certains avantages sur l'examen direct.

Technique de Thörner : Mélanger à 20 cc de lait un cc d'une solution de potasse caustique à 50%. Chauffer au bain-marie jusqu'à complète solution. Centrifuger et examiner après coloration du culot de centrifugation au Ziehl-Neelson.

La réaction de l'alcalinité ou de l'acidité du lait peut donner certaines indications utiles au praticien, et nous ne saurions trop recommander l'épreuve colorimétrique du PH de A. Lefèvre (3.) au moyen du Bleu de bromotymol, ou, comme nous procédons, au moyen du *Papier indicateur universel de Merck*. Il suffit de laisser tomber une goutte du lait à examiner sur le papier indicateur, d'attendre quelques secondes, et de comparer avec l'échelle colorimétrique pour obtenir un PH approximatif.

Le lait normal a une réaction légèrement acide, avec un PH variant de 6,5 à 6,7. Alors que dans la mammite streptococcique au début, le lait est généralement acide, avec un PH de 5,5 à 6,5, la réaction est souvent franchement alcaline avec les laits tuberculeux (PH = 7,2 à 7,5). „Il n'est pas sans intérêt de mentionner la précocité de l'hypoacidité dans la mammite tuberculeuse, signe très important, alors que les autres types de mammites se caractérisent au début par de l'hyperacidité du lait.“ (Lefèvre, 3.) Cette réaction n'est pourtant pas une règle absolue, et certains laits font exception. Nous avons eu un lait tuberculeux, microscopiquement négatif, avec un PH de 6. D'autre part, des laits très altérés, avec de rares streptocoques mal colorables et souvent intracellulaires donnent des PH de 7,5 à 7,8. Comme le pense Lefèvre (3.) ce n'est que par blocage progressif de l'activité épithéliale que le lait vire à l'alcalinité. Les mammites à bac. pyogènes donnent généralement des laits alcalins, avec PH = 7,2 à 7,5.

Le sédiment donne souvent des indications utiles. Dans les cas de mammites streptococciques typiques, le dépôt de centrifugation est généralement élevé: de 5 à 10 %, et plus. Avec les laits tuberculeux anciens, le sédiment peut également être élevé. Mais quand le lait est à ce point altéré, les bacilles de Koch se trouvent souvent au microscope. Dans d'autres cas, le sédiment de centrifugation est inférieur à 1 %, souvent même à 0,5 %. Le liquide surnageant est alors aqueux, bleuté. La quantité de crème est très variable, abondante dans les cas récents, faible à nulle dans les cas très avancés.

La méthode la plus utilisée pour la recherche du bacille tuberculeux dans le lait, est l'inoculation au cobaye, animal sensible par excellence. Comme le lait est souvent secondairement infecté, il est nécessaire de le traiter préalablement, pour éviter les infections locales ou générales. Saenz et Costil (4.) recommandent la technique de purification suivante:

2 gr de matériel environ sont broyés à sec avec du sable stérile. On ajoute de l'eau distillée en quantité variable suivant la consistance du produit. On mesure au moyen d'une pipette graduée 2 cc de cette émulsion qu'on traite ensuite par un volume égale (2 cc) d'acide sulfurique à 15% pendant 30 minutes. On introduit quelques gouttes de tournesol (réactif indicateur) et on neutralise avec une solution de soude à 30% jusqu'au virage lilas, limite de la neutralité correspondant à un PH de 6,8 à 7,2.

Avec le lait il se forme des grumeaux plus ou moins gros, qui gênent beaucoup les manipulations et les injections. Cette méthode est pourtant excellente puisque l'on sait que l'acide sulfurique tue difficilement le bacille tuberculeux, particulièrement résistant. Dans ce sens, les expériences de Pulcher, relatives à la résistance et à la survivance du bacille de Koch à un contact de 5 heures avec une solution d'acide sulfurique à 41 %, sont réellement probantes [Saenz et Costil, page 41. (4.)].

L'inoculation au cobaye offre certains désavantages: la réaction est lente et demande 2 mois et plus. Il n'est pas toujours facile de se procurer des cobayes en quantité voulue. La réaction est coûteuse, car il faut inoculer deux cobayes au moins par analyse.

D'autre part la méthode des cultures donne des résultats sensiblement pareils, quand elle est pratiquée suivant une technique rigoureuse, consistant à tuer les germes associés. Elle n'est guère que de 5 à 6 % moins précise que l'inoculation aux cobayes, d'après Stockmayer (5.).

Meyn (6.), pour la recherche du bacille tuberculeux dans le lait mélangé de laiterie, emploie la technique suivante:

10 litres de lait sont centrifugés, ce qui donne un sédiment de 1 à 2 cc, qui est repris dans 30 cc de solution physiologique et de nouveau centrifugé. Le dépôt est alors traité à l'acide chlorhydrique à 15—20 % pendant 30 minutes environ, puis centrifugé et semencé sans autre lavage sur Petagnani. Sur 1186 laits examinés, les cultures ont donné 51 *résultats positifs*, alors que l'inoculation au cobaye du sédiment de centrifugation de 60—100 cc des mêmes laits n'a donné que 16 résultats positifs.

Ceci prouve assez la valeur d'une méthode de culture bien appliquée. En plus, la méthode de culture donne des résultats beaucoup plus précoces, après 30 jours souvent.

La méthode de Saenz et Costil est assez compliquée et ne donne pas toujours de bons résultats avec les laits. Nous l'avons essayé à plusieurs reprises, et doit être modifiée pour la recherche dans le lait du bacille de Koch, du type bovin. La technique de Meyn demande une instrumentation spéciale.

La méthode de purification à l'Antiformine enfin, de Uhlenhuth (7.) ne convient pas non plus pour le lait, car il se forme un précipité important qui gêne les ensemencements.

Nous avons préféré utiliser la méthode de purification aux acides, et avons essayé premièrement l'acide sulfurique au $\frac{1}{10}$ ^e.

Le lait est centrifugé et le culot est mélangé d'un volume double d'acide au $1/10^e$ pendant 10 et 20 minutes, puis ensemencé sur Petraghani, sans neutralisation préalable.

Nous avons fait, avec cette technique un premier essai avec un lait fortement tuberculeux, jaunâtre, avec 5% de sédiment et très nombreux bacilles de Koch à l'examen microscopique. Le lait ne présentait pas de germes associés. Deux cultures directes furent pourtant infectées dès le 2^e jour. Deux tubes ensemencés avec le lait traité préalablement pendant 10 minutes à l'acide sulfurique au $1/10^e$ se sont trouvés également infectés les 3^e et 6^e jours. Deux tubes enfin, ensemencés avec le lait traité pendant 20 minutes à l'acide ont permis d'avoir une culture pure de bacilles tuberculeux du type bovin, avec colonies lisses, visibles à la loupe dès le 30^e jour. La souche, repiquable, s'est montrée pathogène pour les animaux de laboratoire.

Les infections secondaires des tubes de Petraghani sont encore possibles après 20 minutes de contact avec l'acide, aussi Saenz et Costil recommandent-ils d'ensemencer un nombre élevé de tubes, 8 à 12 au minimum, car il faut toujours compter sur un certain déchet dû aux moisissures et aux champignons.

Nous avons fait des cultures avec 2 autres laits cliniquement tuberculeux, mais sans bacilles de Koch visibles au microscope, sans résultat, car la glycérine de notre milieu a eu une action empêchante pour le type bovin, alors qu'elle favorise le développement des types humain et aviaire (J. Witte, 8.).

A partir de ce moment, nous n'avons plus utilisé que le milieu de Petraghani, modifié par Saenz (4.), auquel nous avons simplement supprimé la glycérine, puisque, en médecine vétérinaire, nous avons surtout à faire au type *bovin*. Pour assurer le diagnostic, il est d'ailleurs possible de faire deux séries de cultures avec les laits, une première avec milieu sans glycérine (Typ. bovin) et une deuxième avec milieu glycérimé (Typ. humain et aviaire).

Stockmayer (5.) est d'avis aussi que les milieux sans glycérine facilitent beaucoup l'isolement du bacille du type bovin.

Milieu de Petraghani modifié par A. SAENZ.

Dans un ballon de verre de un litre, avec 100 grs de perles de verre stériles, mettre :

250	gr lait frais
16	gr Féculé de pomme de terre (Vogue)
1,5	gr Asparagine Poulenc.

Faire bouillir au bain-marie une heure, jusqu'à ce que le mélange prenne une consistance épaisse. Agiter fréquemment. Refroidir à 60° et ajouter :

8 œufs entiers et 2 jaunes d'œufs.

Agiter, et lorsque l'émulsion est bien homogène, filtrer sur gaze stérile.

Ajouter : 24 gr de Glycérine stérile (*que nous supprimons*)

15 cc d'une solution aqueuse de Vert de malachite à 2%
(qui peut être supprimée).

Distribuer en tubes de 19 mm de diamètre. Coaguler à 85° pendant 30 minutes. Remplacer les tampons d'ouate par des bouchons de caoutchouc. (Nous nous contentons de paraffiner avec soins les tubes.) Contrôler la stérilité 24 heures à l'étuve.

D'après Stockmayer (5.) l'acide chlorhydrique peut remplacer avantageusement l'acide sulfurique, et, lors d'essais nombreux, nous n'avons plus eu d'infections secondaires. Les moisissures ont disparu de nos tubes d'isolement. La méthode de Stockmayer est la suivante :

Traiter le matériel à l'acide chlorhydrique à 15% (15 cc HCl de poids spécifique 1,122, et 85 cc Aq. dest.) pendant 5 minutes, et ensemer sur milieu sans glycérine.

Lors d'essais, après 2 à 10 minutes de contact, l'acide chlorhydrique à 15% a tué tous les germes associés. Le bacille de Koch par contre a résisté. Mais il est, d'après nos observations, parfois déjà tué ou très affaibli après 15 minutes de contact.

Notre technique est actuellement la suivante, et nous a donné des résultats positifs avec tous les laits tuberculeux que nous avons eus, les cultures étant déjà assez développées pour être diagnostiquées après 25 à 30 jours, parfois même après 17 jours déjà :

Cinquante centimètres cubes de lait sont centrifugés pendant 10 minutes à 3000 tours dans des tubes à centrifuge de 3,5 cm de diamètre, sur 10 cm de haut, préalablement stérilisés.

Le culot de centrifugation est émulsionné, au moyen de quelques perles de verre stériles, dans deux fois son volume d'une solution d'*acide chlorhydrique* à 15% (= 15 cc HCl de densité 1,122 et 85 cc Aq. dest.).

Après 5 minutes de contact, nous ensemençons abondamment à la pipette Pasteur, sur milieu de Petragnani modifié par Saenz, *sans glycérine*, sans neutralisation préalable. Faire couler lentement le liquide, qui contient des grumeaux plus ou moins gros suivant les laits, sur le milieu de culture tenu obliquement, afin

que les particules puissent s'arrêter sur la surface. Utiliser à cette fin des pipettes assez larges.

Trois à quatre tubes sont ainsiensemencés successivement, ce qui fait un temps de contact de 6—7 minutes pour le dernier.

Au moyen d'une pipette à boule, *retirer le liquide acide du fond des tubes*, ce qui conserve un PH favorable du milieu. Les tubes doivent être soigneusement *capuchonnés* ou *paraffinés*, pour éviter tout dessèchement nuisible au bon développement des bacilles de Koch.

Mettre à l'étuve à 37° pendant 6 semaines.

Nos milieux de culture sont conservés en glacière à + 4°, et restent ainsi longtemps frais.

Après 6 semaines tous les tubes sont vérifiés, les surfaces sont raclées à la spatule, et les frottis ainsi obtenus sont colorés au Ziehl-Neelson, et examinés. Il n'est pas rare alors de reconnaître un développement abondant de bacilles tuberculeux, alors qu'aucune colonie n'est encore visible, même à la loupe, comme le préconisait déjà Flückiger (9.). Parfois, le développement est plus lent, décelable après 8 semaines seulement. Mais cela est l'exception.

Il est possible de faire déjà un premier examen par raclage des tubes après 30 jours, mais le développement n'est pas toujours apparent. Le raclage des tubes offre l'avantage de réensemencer la surface entière du milieu, lors de développement faible. L'examen ultérieur sera de ce fait grandement facilité.

Il est exceptionnel de trouver des germes accidentels: acido-résistants saprophytes, cocci, etc.

Nous procédons ainsi à la culture systématique de tous les laits malades, négatifs à la recherche microscopique et culturale du streptocoque de la mammite contagieuse, ou montrant un sédiment important, un PH anormal, ou provenant de vaches cliniquement tuberculeuses.

Nous avons essayé de réduire la concentration de l'acide chlorhydrique à 10%. Mais des infections secondaires nuisent ou empêchent le développement du bacille de Koch. Nous avons par contre été amené rapidement à retirer le liquide acide des tubesensemencés, car l'acide laissé au fond des tubes modifie rapidement le PH du milieu de Petragani et ralentit ou gêne considérablement le développement microbien.

Où le liquide acide est laissé, le milieu prend une teinte vert-bleu foncée, signe évident de l'acidité acquise. Lors d'un essai avec un lait microscopiquement tuberculeux, le développement

était déjà abondant après 25 jours d'étuve dans les 6 tubes où l'HCl avait été retiré immédiatement après l'ensemencement. Dans les 6 tubes témoins, où l'acide avait été laissé, 5 étaient encore stériles et le sixième ne montrait que quelques bacilles de Koch après 25 jours.

Notre méthode de culture peut être utilement employée pour purifier une souche de laboratoire accidentellement souillée, et le contact de l'acide semble même parfois revivifier des souches se développant mal ou lentement.

Elle convient également pour la recherche du bacille tuberculeux dans les pus, sécrétions diverses et dans les broyats d'organes ou de matériel suspect.

Les bacilles isolés de nos premiers essais sont repiquables et sont pathogènes pour les animaux de laboratoire, conditions „sine qua non“ pour l'identification de bacilles tuberculeux vrais. Pour la différenciation des types de bacilles de Koch, nous renvoyons le lecteur au travail de Flückiger (9.).

Résumé.

La culture permet de déceler le bacille de Koch chez des laits microscopiquement non tuberculeux. La technique est simple et rapide, et donne de bons résultats avec un milieu de Petraghani à l'asparagine non glycérimé. Le lait, centrifugé, est traité à l'acide chlorhydrique à 15% pendant 5 minutes, puis ensemencé sans alcalinisation préalable. Afin de conserver le PH du milieu, le surplus de liquide acide est retiré immédiatement après l'ensemencement. Le développement du bacille tuberculeux est, dans la règle, décelable après 6 semaines.

Zusammenfassung.

Die Kultur erlaubt den Nachweis des Koch-Bazillus bei mikroskopisch nicht tuberkulös erscheinender Milch. Die Technik ist einfach und gibt gute Resultate mit glyzerinfreien Petraghani-Nährböden unter Zusatz von Asparagin. Die zentrifugierte Milch wird mit 15%iger Salzsäure während 5 Minuten behandelt und dann ohne vorherige Alkalisierung auf die Nährböden verimpft. Um den PH-Gehalt des Nährbodens zu erhalten, muß die saure Flüssigkeit sofort nach dem Verimpfen aus den Röhrchen zurückgenommen werden. Die Entwicklung des Tbc-Bazillus ist nach 6 Wochen nachweisbar.

Bibliographie.

Pour une bibliographie détaillée sur la matière, consulter Saenz et Costil, Monographie de l'Institut Pasteur Paris 1936, qui donnent plus de 400 indications bibliographiques.

Nous donnons dans l'ordre la bibliographie des auteurs cités.

1. Fontaine et Huguier: Dictionnaire vétérinaire Paris 1924.
2. Thörner, cité dans W. Ernst: Grundriß der Milchhygiene f. Tierärzte. Stuttgart 1936.
3. Lefèvre A.: Considération sur le diagnostic et le traitement de la mammite streptococcique des vaches laitières. Annales de Méd. vét. Bruxelles. Avril 1935.
4. Saenz et Costil: Diagnostic bactériologique de la tuberculose. Monographie de l'Institut Pasteur, Paris 1936.
5. Stockmayer W.: Zur Feststellung von Tuberkel-Bazillen in Ausscheidungsproben von Rind. Zeitschr. f. Infektionskh. parasitäre Kh. und Hygiene der Haustiere. Bd. 57, 1. Heft.
6. Meyn: Zeitschrift f. Fleisch- und Milchhygiene. 1. Okt. 1940 (in Clinica vet. Mai 1941).
7. Uhlenhuth: Méthode d'enrichissement à l'Antiformine, cité dans J. Bongert: Bakter. Diagnostik. Berlin 1927.
8. Witte J.: Weitere Beiträge zur Züchtung der Tuberkelbakterien unter besonderer Berücksichtigung der Diagnose. Zeitschrift f. Infektionskh. der Haustiere. Bd. 50, pages 236 et suiv.
9. Flückiger, G.: Über die kulturelle Differenzierung der Tuberkelbazillen. Schweiz. Arch. f. Tierheilk. LXXIII. 7/8, pages 364 et suiv.

Nochmals zur Frage des Vorkommens der Aujeszky'schen Krankheit (Pseudowut) in der Schweiz.

Von Prof. Ernst Wyßmann.

Im Augustheft 1941 dieser Zeitschrift habe ich in einer Abhandlung, betitelt: „Über zerebrale, mit Juckreiz bzw. Lecksucht verbundene Erkrankungen beim Rind“ u. a. den Verdacht geäußert, daß die Pseudowut auch bei uns vorkommt und zu diesbezüglichen Nachforschungen angeregt. Seither bin ich bei einer nochmaligen Durchsicht der Literatur im Schweizer Archiv für Tierheilkunde, 1889, S. 125—129 überraschend auf einen von Martin Strebel in Freiburg verfaßten Artikel gestoßen, mit dem Titel: „Eine eigenthümliche Juckkrankheit beim Rinde“, der mir in dieser Frage von größter Wichtigkeit zu sein scheint. Danach untersuchte Strebel am 4. Januar 1889 im Auftrag der Polizeidirektion des Kantons Freiburg in Romanens (Bezirk Greyerz) gemeinsam mit den Kollegen Butty in Romont und Paquier in Bulle einen Rinderbestand von 16 Stück, in dem