

CULTURE IN VITRO DES PROTOZOAIRES DE L'INTESTIN HUMAIN

PAR

C. SCHLOSSMANN

LABORATOIRE DE BACTÉRIOLOGIE DE L'UNIVERSITÉ
DE TARTU (DORPAT)

TARTU 1923

Imprimerie C. Mattiesen, Dorpat.

Introduction.

Les Protozoaires de l'intestin humain ont été de tout temps un objet de vive curiosité pour les médecins coloniaux. Même le médecin européen n'a plus le droit d'ignorer aujourd'hui la pathologie tropicale, pouvant à chaque instant se trouver en présence d'une maladie protozoaire. D'une façon générale, on peut dire que les protozoaires sont des animaux cosmopolites qui ont accompagné l'homme partout. Quand les parasites trouvent des conditions favorables à leur multiplication ils peuvent engendrer une maladie aiguë ou chronique ; au contraire, quand ils trouvent des conditions défavorables, il se produit un état de parasitisme occulte.

Le diagnostic clinique d'une maladie protozoaire de l'intestin humain est souvent très difficile et devra être toujours confirmé par la découverte de l'agent de la maladie. Ce serait possible par l'examen microscopique des selles fraîches ou en utilisant une méthode d'enrichissement. Si les parasites sont susceptibles de se développer dans le milieu extérieur, on propose la méthode de cultures des selles sur un milieu artificiel approprié (Coprocultures). Mais, grâce à nos connaissances insuffisantes des procédés de culture, on ne peut pas encore envisager cette méthode comme pratique pour les recherches cliniques. On utilise aussi pour le diagnostic des maladies protozoaires diverses réactions de l'organisme infecté. Malgré tout l'intérêt général et pratique que présentent ces méthodes indirectes, elles sont, cependant, loin de valoir celles qui permettent de démontrer directement l'existence des parasites dans les matières fécales.

Ce mémoire a pour objet l'exposé de nos résultats concernant les cultures in vitro des parasites de l'intestin humain. Il nous a été possible de cultiver sur les milieux artificiels les parasites suivants: *Trichomonas intestinalis*, *Balantidium coli* et *Tetramitus Mesnili*. Cette question pouvant offrir un intérêt théori-

que est pratique, nous l'avons étudiée avec soin. On ne peut pas encore, bien entendu, considérer la question comme épuisée, mais nous espérons que nos recherches pourront l'éclairer quelque peu et c'est pourquoi nous nous sommes décidés à publier nos résultats dès maintenant.

I. Culture du *Trichomonas intestinalis*.

La culture impure du *Trichomonas* a été déjà obtenue par divers savants. Lynch (1915) a cultivé *Trichomonas vaginalis* trouvé chez une jeune femme noire à la fois dans la bouche et dans le vagin. Pendant 3 jours il y a eu une multiplication de ces parasites dans un bouillon acide et au bout de ce temps les parasites s'étaient décuplés. Cette culture a pu être repiquée une fois, elle s'éteignit au deuxième passage, étouffé par les impuretés bactériennes. Le contenu d'un des tubes, injecté dans le rectum d'un lapin, a déterminé chez cet animal une infection intestinale persistante, sous forme de diarrhée.

Ohira et Noguchi ont cultivé un *Trichomonas* de la bouche. Ces savants ont obtenu un effet satisfaisant en employant un mélange à parties égales d'un liquide d'ascite et d'une solution de Ringer, ne modifiant pas l'alcalinité naturelle du milieu. Si l'on rend le liquide neutre au tournesol, les résultats sont moins bons. A 37° C on peut faire des transferts de tube à tube tous les jours en prenant un peu du sédiment où sont accumulés les parasites et les bactéries. Le développement est plus lent à une température de 23 à 27° C., et il ne faut effectuer les passages que tous les deux jours.

La multiplication se fait généralement par division binaire, mais on a pu observer aussi une division multiple par une sorte de bourgeonnement successif de 4 à 8 éléments. La division du blépharoplaste semble être mitotique alors que celle du noyau pourrait être promitotique. Les deux savants comparent le *Trichomonas* de la bouche, du reste, à l'espèce intestinale.

Pringault a obtenu sur le milieu de Ohira et Noguchi un développement du *Trichomonas intestinalis*.

Barret a obtenu des cultures du *Trichomonas intestinalis* dans un mélange de sérum humain et d'eau physiologique à 0,5 pour 100.

Boyd (1918) a obtenu une multiplication notable du Tri-

chomonas des selles humaines, prélevées à l'autopsie, en ensemençant d'une parcelle de ces matières fécales une certaine portion d'eau salée physiologique. L'ensemencement d'un bouillon ordinaire ne réussit pas. Des kystes n'ont jamais été observés.

Les résultats de Boyd n'ont pas été confirmés par Dobbell et O'Connor (1921).

Chatton (1920) cultiva le *Trichomonas* du cobaye dans du bouillon de viande en ajoutant aux tubes du sang de lapin à raison de 1 c. c. par 10 c. c. du bouillon. A une partie des tubes on avait ajouté de l'huile de vaseline. Un seul tube de la série neutre et sans vaseline donna une culture du *Trichomonas* très mobile. Dans le milieu sous de la vaseline le parasite se cultiva à la surface, tandis qu'il se cultiva dans la profondeur dans les tubes sans vaseline.

De ces faits on peut conclure que les *Trichomonas* sont des flagellés alcalinophiles. Le fait qu'ils poussent mieux sans vaseline que sous de la vaseline, ne permet pas de conclure qu'ils soient anaérobies. La culture bactérienne détermine en effet un degré d'anaérobiose qui peut être égal ou supérieur à celui que contient la couche de vaseline. C'est dans du bouillon ordinaire additionné de sang et sans vaseline que l'auteur a entretenu pendant un an la culture du *Trichomonas* par passages mensuels.

Toutes les tentatives faites pour éliminer les parasites de la culture bactérienne sont restées infructueuses.

Hogue (1921) a obtenu des cultures du *Trichomonas* de l'intestin humain en se servant d'un milieu au blanc d'oeuf et à la solution de Locke. En ajoutant au milieu quelques gouttes de sérum ovin ou humain, on accélère la multiplication du *Trichomonas*, mais au détriment de la durée de la culture. L'auteur avait obtenu aussi des „lignées pures“ de *Trichomonas intestinalis*.

On sait que les *Trichomonas* présentent de grandes variations de taille; les mêmes variations existent pour la „lignée pure“. Jamais de kystes n'ont été observés.

Il ressort de ce qui précède que maints travaux ont déjà été consacrés à l'étude de la culture du *Trichomonas intestinalis* sur des milieux artificiels, mais si l'on compare les résultats obtenus par les divers savants, on est en mesure de constater qu'il manque actuellement encore une méthode incontestable et pratique.

Les recherches dont nous allons donner l'exposé ci-dessous avaient pour but l'étude des facteurs qui favorisent la croissance du *Trichomonas intestinalis* in vitro.

L'espèce *Trichomonas intestinalis* qui nous servait pour les recherches avait été recueillie chez une malade à Dorpat. Celle qui en était porteuse, était une jeune fille âgée de 7 ans. Cette malade présentait les symptômes pulmonaires de la tuberculose, souffrant d'une diarrhée tenace, considérée et traitée comme symptôme de la tuberculose intestinale. La malade maigrissait progressivement, tombait dans un véritable état de marasme et décéda le 10 avril 1923. L'autopsie n'a pas été faite.

Les matières fécales recueillies le 20 mars ont été examinées au microscope entre lame et lamelle. Notre attention s'était portée sur les parasites très mobiles qui nous paraissaient bien répondre à la description du *Trichomonas*. Les recherches à l'ultramicroscope nous ont permis de définir la structure de ces parasites. Les matières fécales ont été conservées à 37° C. pendant 6 jours. Dans ces conditions les parasites ont conservé sa mobilité pendant 4 jours. A partir du quatrième jour on constatait une diminution rapide du degré de mobilité, et le 6-e jour les parasites ont disparu des matières fécales.

Dans les selles maintenues à la température du laboratoire le *Trichomonas* ne se conserve pas vivant au delà de 2 jours; la dessiccation lui est fatale. On voit donc que la vitalité du *Trichomonas intestinalis* diminue rapidement dans des milieux extérieurs. Il semble aussi que, dans des conditions naturelles, la survie du *Trichomonas* soit assez limitée.

De ces matières fécales fraîches, nous avons, à l'aide d'une pipette, introduit de 2 à 3 grosses gouttes dans divers milieux usuels, mais les essais de culture furent absolument négatifs.

Notre première série d'expériences nous montra que le *Trichomonas intestinalis* ne se cultive dans aucun des milieux usuels.

Après diverses tentatives nous avons obtenu une multiplication de ces parasites dans un mélange à parties égales de liquide d'ascite et de solution physiologique. En vingt-quatre heures de séjour à l'étuve à 37° C., apparaissait une culture du *Trichomonas intestinalis*, associée à des cocci et des bâtonnets. Le développement nous en a paru plus lent à la température du laboratoire. Repiquée dans le même milieu, cette culture nous a

donné une nouvelle génération. En faisant les repiquages tous les deux jours, nous avons obtenu plusieurs passages. Enfin la culture s'éteignit étouffée par les impuretés bactériennes.

De multiples passages ne permettent pas un acclimatement capable de faire obtenir une culture dans des milieux usuels.

La culture du *Trichomonas intestinalis* ne réussit pas dans le liquide d'ascite employé tout pur ni dans un mélange à parties égales de liquide d'ascite et d'eau distillée.

La conclusion qui s'impose, d'après ces expériences, c'est que l'influence du chlorure de sodium peut être favorable à la nutrition du *Trichomonas intestinalis*.

Le *Trichomonas intestinalis* ne pousse pas dans les milieux légèrement acides et préfère ceux à qui l'on confère une réaction neutre ou légèrement alcaline. C'est pourquoi ce parasite ne pousse pas dans tous les milieux additionnés de glucose ou de lactose, parce que la fermentation des sucres donne naissance à des acides.

Dans le but d'étudier de plus près les diverses conditions de la culture de *Trichomonas intestinalis*, il nous a paru utile de chercher à comparer l'influence de divers sels minéraux sur la multiplication de ce parasite in vitro. En premier lieu nous avons choisi le citrate de soude et le sel marin. En ce qui concerne le citrate de soude, nos essais permettent de conclure que la présence de ce sel dans un milieu de culture a une influence stimulante sur la multiplication du *Trichomonas intestinalis*.

Des essais exécutés avec du sel marin nous ont montré que ce sel favorise le développement du *Trichomonas intestinalis*, mais il semble, cependant, que l'effet soit assez limité.

A la suite de ces recherches préliminaires, nous avons préparé plusieurs mélanges qui conviennent au *Trichomonas intestinalis*. Nous envisagerons tout d'abord les mélanges suivants:

- Milieu A. Liquide d'ascite — 7,0 c. c.
 - Sol. de sel marin 1% — 2,5 c. c.
 - Sol. de citrate de soude 2% — 0,5 c. c.
 - Sol. de chlorure de sodium 0,85% — 0,5 c. c.

- Milieu B. Liquide d'ascite — 7,0 c. c.
 - Sol. de sel marin 1% — 0,5 c. c.
 - Sol. de citrate de soude 2% — 0,5 c. c.
 - Sol. de chlorure de sodium 0,85% — 2,5 c. c.

Les solutions de ces sels ont été préparées séparément et stérilisées à $+ 115^{\circ}$ pendant vingt minutes. On ajoute au liquide d'ascite les doses nécessaires de ces solutions. Le mélange fut réparti en tubes à 10 c. c.; puis on versa dans une partie des tubes de 15 à 20 millimètres de l'huile de vaseline. Dans une série de recherches, j'ai employé ces deux milieux qui convenaient parfaitement au *Trichomonas intestinalis*. Le parasite poussait rapidement à 37° C., tandis qu'à 24° C. le développement fut plus lent. Dans le milieu sous une couche d'huile de vaseline et dans le milieu sans couche de vaseline le *Trichomonas* se cultive principalement dans les profondeurs du liquide; ce fait nous a suggéré l'idée d'envisager le *Trichomonas* comme anaérobie.

C'est dans le milieu B que nous avons entretenu le *Trichomonas intestinalis* pendant 40 jours, en faisant des repiquages tous les deux jours. Le milieu A nous a paru moins favorable.

Au 20-me passage le développement était devenu faible, ce qui nous força à admettre que le milieu B n'est pas assez favorable à la nutrition du *Trichomonas intestinalis*.

Forcés de chercher d'autres méthodes de culture, nous avons, à différentes reprises, modifié la composition du milieu dans les recherches suivantes.

En remplaçant dans le milieu B le liquide d'ascite par le sérum sanguin de l'homme ou de différents animaux, les résultats de culture sont entièrement négatifs. Le sérum sanguin semble être un mauvais aliment pour le *Trichomonas intestinalis*. Nous avons constaté que tous les liquides d'ascite ne doivent pas être envisagés comme nutritifs au même degré pour ce parasite.

De nombreuses expériences nous ont amené à la conclusion que le chlorure de magnésie a une influence stimulante sur le développement du *Trichomonas*. C'est pourquoi nous avons recommencé systématiquement les cultures de *Trichomonas* dans le milieu suivant:

Milieu C. Liquide d'ascite 5,0 c. c.

Sol. de chlorure de sodium 0,85%—3,5 c. c.

Sol. de chlorure de magnésie 1,21%—0,5 c. c.

Sol. de citrate de soude 2% — 0,5 c. c.

Les résultats obtenus avec le milieu C ont été remarquables. Après 24 heures de séjour à l'étuve à 37° C., on obtient un bon

développement de *Trichomonas intestinalis*. La multiplication est plus lente à la température du laboratoire. C'est dans ce milieu C que nous avons déjà obtenu 105 passages en faisant des repiquages tous les jours. Les parasites sont très mobiles et présentent de grandes variations de taille. Dans les cultures de 24 heures, on voyait un nombre de sujets en état de division binaire (Fig. N° 2 et 6, pl. I). Toutes les tentatives faites par nous pour éliminer les parasites des impuretés bactériennes sont restées infructueuses.

Le mélange de sels minéraux du milieu C, employé dans une solution sans liquide d'ascite, ne peut pas servir à la nutrition de *Trichomonas*. Un faible développement des parasites, constaté dans cette solution et seulement après un premier repiquage, semble dû à des parcelles de substances albumineuses, apportées par les 4—5 gouttes de culture ayant servi à l'ensemencement.

Dans les cultures obtenues avec le milieu C nous avons constaté une grande quantité de kystes. L'enkystement se produit particulièrement vite dans les tubes sans vaseline.

Pour étudier les étapes de l'enkystement il faut examiner au microscope une goutte de culture, entre lame et lamelle. Quand le liquide vient à s'évaporer lentement, le parasite s'enkyste, à la façon d'une Amibe.

Ce résultat semble être en contradiction avec les résultats obtenus par Brumpt, Hogue, Chatton, Dobell et O'Connor. Nous avons vu, dans les pages précédentes, que jamais de kystes de *Trichomonas intestinalis* n'ont été observés dans les cultures obtenues par les savants mentionnés plus haut. Brumpt écrit sur cette question: „*Trichomonas intestinalis* ne semble pas s'enkyster dans le corps de l'Homme. Les prétendus kystes de *Trichomonas*, considérés par beaucoup de savants comme l'aboutissant de phénomènes autogamiques, n'ont rien à faire avec ces Flagellés. L'enkystement de *Trichomonas* est encore inconnu. Si ces parasites de l'Homme s'enkystent, le fait doit se produire rarement.“

En tous cas, mes recherches me forcent à admettre que le *Trichomonas intestinalis* s'enkyste dans certaines circonstances, surtout dans les cultures obtenues dans le milieu C. Bien entendu, nous ne considérons pas la question comme épuisée et nous continuerons nos travaux.

Les recherches relatées ci-dessus démontrent que le milieu C, proposé par nous, peut être considéré comme assez favorable au développement de *Trichomonas intestinalis*. Nous avons la conviction qu'il peut servir au diagnostic des maladies protozoaires de l'intestin humain. Nous en avons la preuve en ce que nous allons signaler.

Un jeune enfant présenta une diarrhée tenace, considérée comme un symptôme suspect de la tuberculose intestinale. On constata dans les matières fécales examinées au microscope des parasites peu mobiles, dont la nature nous semblait douteuse. A l'aide d'une pipette nous avons mis 3 grosses gouttes de matières fécales fraîches dans le milieu C. En vingt-quatre heures de séjour à l'étuve à 37° C. apparaissait une culture de parasites très mobiles et caractéristiques. On a pu y constater une espèce de *Trichomonas intestinalis*. De ces parasites nous avons déjà obtenu 35 passages, en employant le milieu C pour les repiquages.

II. Coloration de *Trichomonas intestinalis* sur frottis et à l'état frais.

Le *Trichomonas intestinalis* est assez difficile à fixer et à colorer. Les procédés ordinaires ne donnent que de mauvaises préparations où les parasites sont extrêmement déformés. Pour la coloration sur frottis conviennent uniquement des procédés spéciaux qui nous permettent de conserver les détails de leur structure. La méthode de Giemsa nous a donné, cependant, de bons résultats. Pour atteindre ce but il faut: fixer les frottis préparés de culture, avant dessiccation successivement dans des vapeurs de l'acide osmique et dans de l'alcool absolu. Colorer pendant 2-3 heures dans un bain obtenu par le mélange de dix gouttes de solution Giemsa dans 10 centimètres cubes d'eau distillée, puis laver à l'eau distillée et sécher.

Par cette méthode le cytoplasme se colore en bleu plus ou moins vif, le noyau se teint en violet vif, la vésicule nutritive reste incolore. Les flagelles sont difficiles à colorer. Le parasite coloré conserve sa forme assez typique.

La coloration à l'état frais permet d'étudier facilement les parasites vivants. Pour cette méthode on emploie des solutions colorantes aqueuses très faibles. Pour la coloration du Tricho-

monas intestinalis en culture nous avons employé les solutions suivantes: rouge neutre à 1 p. 2000, bleu de méthylène à 1 p. 5000, éosine à 1 p. 1000. Dans ce but il faut: porter sur la lame une goutte de culture du *Trichomonas intestinalis*, à côté de la culture placer une goutte de solution colorante, mélanger, couvrir d'une lamelle et examiner au microscope pendant 10 - 20 minutes.

Les parasites vivants, colorés par le rouge neutre se montrent sous l'aspect suivant: le cytoplasme, la membrane ondulante et le noyau restent incolores. Dans le cytoplasme on note la présence de granules de dimensions diverses qui sont teintés en rose vif ou en brun. Ces granules, dont l'aspect et le nombre varient, sont situés presque exclusivement entre le noyau et la partie postérieure du parasite.

Le rouge neutre passe généralement pour un colorant peu nocif pour les parasites, c'est pourquoi le *Trichomonas intestinalis* reste de 20 à 30 minutes mobile dans cette solution colorante.

La coloration vitale par le bleu de méthylène nous a donné des résultats moins intéressants. Le cytoplasme du parasite vivant se colore en bleu plus ou moins vif. Les vacuoles (2 - 3) restent incolores. Le protoplasme de kystes se teinte en bleu vif et montre de vacuoles incolores. Le bleu de méthylène est nocif pour le *Trichomonas intestinalis*.

Par l'éosine à 1 p. 1000 le cytoplasme du parasite vivant se colore en rose pâle, tandis que celui de kystes se teinte en rose vif. Les parasites conservent leur mobilité pendant 20 - 30 minutes dans cette solution colorante.

Les figures N^o 5, 6, 7, 8 et 9 pl. I. donnent une idée de ces parasites colorés à l'état frais.

III. Culture du *Balantidium coli*.

Le *Balantidium coli* est un parasite de gros intestin et semble ne pouvoir vivre que dans un milieu alcalin ou neutre. Ces infusoires sont rapidement tués par le suc gastrique ou celui de l'intestin grêle. La survie de *Balantidium coli* est assez limitée en dehors du corps. Dans les matières fécales ces parasites ne conservent pas leur mobilité au delà de 4 - 6 heures.

Au contraire, le *Balantidium coli* est très résistant dans l'organisme, et il y semble avoir une grande longévité. Chez le

porc l'infection dure plusieurs années. Belfrage a signalé chez l'Homme une infection contractée au moins vingt ans plus tôt. Ce parasite se développe avec une grande rapidité dans les infections expérimentales comme l'ont montré Brumpt et Walker.

Strong, Musgrave, Solowiew, Klimenko et Askazy ont démontré la facilité avec laquelle ce parasite pénètre dans la paroi du gros intestin.

Les données précédentes nous expliquent, surtout, pourquoi les tentatives, faites par divers savants, pour obtenir une culture du *Balantidium coli* dans un milieu artificiel, sont restées infructueuses.

On sait, cependant, que la culture des infusoires a été déjà réalisée par Sangiorgi. En cultivant des selles humaines dans de l'eau peptonée il a obtenu une multiplication du *Balantidium minutum* et du *Nyctotherus faba*.

Le *Balantidium coli hominis* a été cultivé par Barret et Jarbrough (1921), en utilisant un milieu composé d'une partie de sérum humain inactivé et de seize parties d'eau physiologique à 0,5 pour 100. Ces savants ont obtenu onze passages en trente-deux jours en présence de bactéries diverses. Dans ces cultures ils ont observé des formes en voie de division transversale et des parasites enkystés. Nous avons tenté la vérification de ces données, sans réussir.

De nouvelles recherches sur la culture du *Balantidium coli* dans le milieu C, dont la composition a été donnée dans le premier chapitre, nous ont permis d'étudier le développement du *Balantidium coli* en dehors de l'organisme.

Le parasite qui nous servait dans nos recherches avait été recueilli chez un malade âgé de 26 ans. Celui qui en était porteur présentait une diarrhée persistante. Les matières fécales fraîches examinées au microscope nous montrèrent une grande quantité de *Balantidium coli* très mobiles. De ces matières fécales nous avons à l'aide d'une pipette introduit 3 grosses gouttes dans le milieu C, réparti en tubes.

Après vingt-quatre heures de séjour à l'étuve nous avons trouvé une multiplication abondante de *Balantidium coli* et de diverses bactéries. Cette culture examinée au microscope nous montra des infusoires très mobiles et de dimensions diverses. En faisant des repiquages de tube à tube tous les jours, nous avons

obtenu six passages en sept jours. La culture du *Balantidium coli* s'éteignit étouffée par les impuretés bactériennes. Une deuxième culture faite de matières fécales recueillies chez le même malade nous a donné 5 passages en 6 jours. L'ensemencement du milieu de Barret et Jarbrough par des matières fécales fraîches nous a donné seulement deux passages.

Balantidium coli se conserve vivant dans les cultures à 37° C. pendant 3 jours. A partir du troisième jour on a pu noter une disparition rapide des infusoires mobiles et on a trouvé dans le sédiment une grande quantité de kystes. On a pu observer dans les cultures âgées de 24 heures une active reproduction transversale des infusoires donnant lieu à de petites formes. Dans les cultures de 3-e et 4-e passages il nous a été possible de trouver des procédés de la conjugaison du *Balantidium coli* (Fig. N° 14, pl II).

L'enkystement prend naissance dans des conditions qui résultent de l'inanition, du changement d'alimentation et de la température. Le parasite s'arrondit et s'entoure d'une enveloppe résistante. Ces kystes ont des dimensions diverses et mesurent de 30 à 80 μ de diamètre.

Il est intéressant de rappeler que plusieurs bactériologues (Ekecrantz, Ortmann, Roos, Shegalow et Bode) ont observé un bourgeonnement chez les *Balantidium coli*. Brumpt et Walker n'ont jamais vu le bourgeonnement signalé par les bactériologues précédemment nommés. Nous avons vu dans nos cultures de 5-e et 6-e passages des formes très intéressantes qui rappellent bien un procédé de bourgeonnement (Fig. N° 16, 17 et 18, pl. II). Ce sont évidemment les formes observées par les bactériologues nommés et décrites comme étant une reproduction par bourgeonnement. On ne peut pas encore considérer cette question comme résolue et nous trouvons l'explication ci-dessus hypothétique.

La seule interprétation qu'on puisse donner à ce phénomène, c'est que le parasite dégénère dans des conditions défavorables en donnant des formes profondément modifiées.

Il résulte de ces recherches que le *Balantidium coli* peut garder sa vitalité au dehors de l'organisme. Ce parasite est susceptible de se développer dans les milieux artificiels; il suffit qu'un milieu favorable à la nutrition du *Balantidium coli* soit trouvé. Nous considérons, pour le moment, le milieu C comme le plus favorable au développement de ces infusoires.

IV. Culture du *Tetramitus Mesnili*.

Le flagellé est très difficile à distinguer du genre *Trichomonas intestinalis* avec lequel il était très souvent confondu à l'état vivant. La vitalité de ce parasite étant, en général, de peu de durée diminue rapidement dans les milieux extérieurs. Quand le liquide dans lequel il vit vient à s'évaporer lentement, le parasite au lieu de mourir, s'enkyste.

Il se nourrit de bactéries et de déchets alimentaires divers.

La culture de ce parasite a été obtenue par Boeck, en utilisant un milieu artificiel composé d'une partie de sérum sanguin humain et quatre parties de solution de Locke légèrement dextrosée.

Tetramitus Mesnili se multiplie par division longitudinale dans l'intestin et dans les cultures. Boeck a observé dans les cultures des divisions en quatre. D'après certains savants il y aurait une division à l'intérieur du kyste; d'après d'autres cette division n'existerait pas (Kofoid, Swezy etc.). Les kystes de ce parasite peuvent vivre 232 jours; ils meurent rapidement à une température de 72° C. (Boeck).

Les malades porteurs de *Tetramitus Mesnili* sont toujours anachlorhydriques, ce qui doit favoriser la multiplication des parasites dans l'intestin.

Nous avons trouvé ce parasite dans les matières fécales d'un malade anémique et anachlorhydrique qui présenta une diarrhée persistante, parfois sanguinolente. Les selles fraîches, examinées au microscope, montrèrent une grande quantité de parasites très mobiles. Il nous a paru presque impossible de définir au microscope la nature de ces parasites. A la température du laboratoire ils ne se conservent pas mobiles au delà de 24 heures.

De ces matières fécales nous avons à l'aide d'une pipette introduit 3 grosses gouttes dans le milieu C. On constatait dans les tubes maintenus 24 heures à 37° C. un bon développement du parasite et des diverses bactéries. C'était dans cette culture impure que nous avons pu bien définir la structure de ce parasite et constater le genre *Tetramitus Mesnili*. Cette culture associée à des bactéries diverses, repiquée dans le milieu C a donné une nouvelle génération. Ainsi nous avons obtenu déjà 32 passages en 64 jours, en faisant des repiquages tous les deux jours. Les

parasites sont très mobiles et se conservent vivants à 37° C. pendant 3-4 jours. On trouve dans les cultures âgées de 2-3 jours une grande quantité de kystes, piriformes et réfringents.

Le parasite ne pousse pas dans un milieu légèrement acide. La dessiccation est fatale au *Tetramitus*.

En somme, on peut dire que le milieu C, proposé par nous, peut être considéré comme assez favorable à la nutrition et au développement de *Tetramitus Mesnili*.

Résumé.

En résumé, les recherches exposées dans ce mémoire ont donné les résultats suivants:

1. La présence de divers sels minéraux augmente d'une façon considérable le pouvoir nutritif d'un milieu artificiel employé pour la culture des Protozoaires.

2. Le milieu C, proposé par nous, est particulièrement favorable à la nutrition et au développement du *Trichomonas intestinalis* et *Tetramitus Mesnili*, il est moins favorable à la nutrition du *Balantidium coli*.

3. Il nous semble qu'un milieu artificiel, qui est assez favorable à la nutrition des flagellés de l'intestin humain, ne l'est pas au même degré pour des infusoires.

4. Le milieu C peut servir au diagnostic clinique des maladies protozoaires de l'intestin humain.

5. Les recherches sur la culture des protozoaires pourront avoir, outre leur intérêt théorique, une utilité pratique.

Bibliographie.

1. Askanaazy. Pathog. Bedtg. d. *Balantidium coli*. Wien. med. Woch. 1903.
2. Bode. Ueber das *Balantidium coli hominis* etc. Centralbl. f. Bakter. I Abt. Orig. Bd. 89, 1923.
3. Boyd. A Note on the cultivation of *Trichomonas intestinalis*. Journ. of Paras. t. IV, 1918.
4. Brumpt. Démonstration du rôle pathogène du *Balantidium coli*. C. R. Soc. Biol. 1909.
5. Brumpt. Précis de Parasitologie. Paris 1922.
6. Castellani. Diarrhoea from flagellates. Brit. med. journ. 1905 p. 1285.
7. Chatton. Culture indéfinie d'un *Trichomonas intestinalis* du co-baye etc. C. R. Soc. de Biol. 83, 1920.
8. Ekecrantz. Ref. von Conheim in Virchow-Hirschs Jahresber. 1869, I, S. 202.

9. Escomel. Dysenterie à Trichomonas à Arequipa. Bull. Soc. path. exot. VI, 1913, p. 120.
10. Guiart. Précis de Parasitologie. Paris 1922.
11. Hogue. The cultivation of Trichomonas hominis. Amer. Journ. of Trop. Med. 1921.
12. Klimenko. Beitr. z. Pathol. d. Balantidium coli. Beitr. z. pathol. Anat. u. allg. Path. XXXIII, 1903.
13. Lynch. Trichomonas of the Vagina and the Mouth etc. Amer. Journ. of Trop. Dis. 1915.
14. Ohira et Noguchi. The cultivation of Trichomonas of the human mouth. Journ. of exper. Med. t. XXV, 1917.
15. Roos. Die Bedeutung der Flagellaten im Magen und Darm des Menschen. Deutsch. Arch. für klin. Med. Bd. 51.
16. Sangiorgi. Sulla cultura in vitro dei Protozoi dell' intestino umano. Pathologica 1918.
17. Schegalow. Ein Fall von Balantidium coli etc. Jahresb. f. Kinderheilk. XLIX, 1899.
18. Solowiew. Balantidium coli als Erreger chron. Durchfälle. Centralbl. f. Bakt. I Abt. Bd. 29, 1901.
19. Strong and Musgrave. The clinical and pathological signification of Balantidium coli. Manille 1904.
20. Walker. Sporulation in the paras. ciliata. Arch. f. Prot. Kde. XVII, 1909.
21. Wieting. Ueber Flagellaten (Trichomonas) in den Lungen etc. Centralbl. f. Bakt. Bd. XXI.

Explication des planches.

Pl. I. Trichomonas intestinalis.

- Fig. 1. Forme habituelle.
 Fig. 2. Un parasite en voie de division.
 Fig. 3. Deux kystes.
 Fig. 4. Un parasite coloré par le procédé de Giemsa.
 Fig. 5, 6. Coloration à l'état frais par le rouge neutre.
 Fig. 7. Coloration vitale par le bleu du méthylène.
 Fig. 8. Coloration vitale par l'éosine.
 Fig. 9. Deux kystes colorés par le bleu de méthylène.

Pl. II.

- Fig. 10. Tetramitus Mesnili, forme habituelle.
 Fig. 11. 12. Deux kystes.
 Fig. 13. Balantidium coli.
 Fig. 14. Conjugaison du Balantidium coli.
 Fig. 15, 16, 17 et 18. Formes de dégénérescence (le bourgeonnement des auteurs) du Balantidium coli.
-

Planche

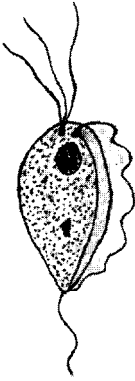


Fig. 1.

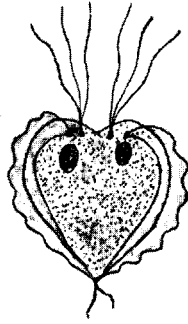


Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.



Fig. 5.

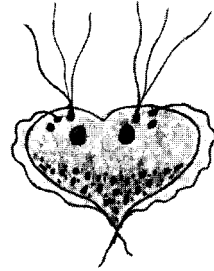


Fig. 6.



Fig. 7.



Fig. 8.



Fig. 9.

Planche II

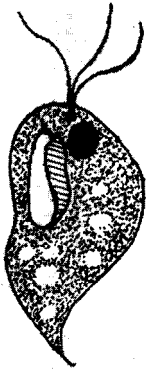


Fig. 10.



Fig. 11.

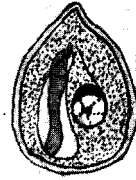


Fig. 12.

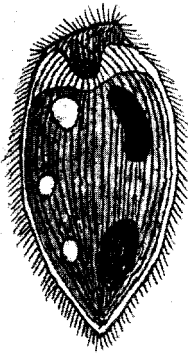


Fig. 13.

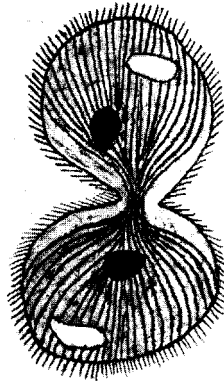


Fig. 14.

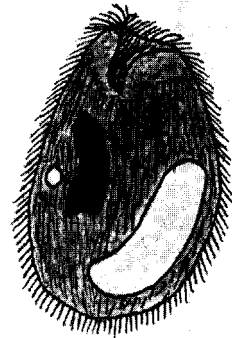


Fig. 15.

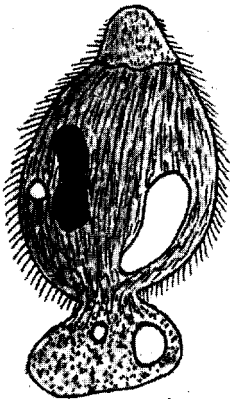


Fig. 16.

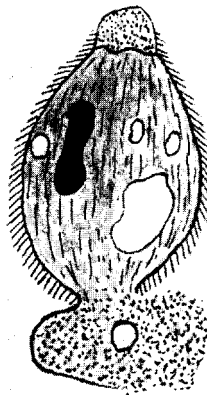


Fig. 17.

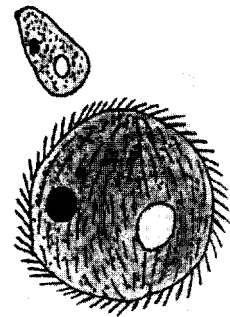


Fig. 18.