

NOTE TECHNIQUE.

La centrifugation des trypanosomes et spirochètes

PAR

A. DUBOIS.

On désire parfois obtenir des trypanosomes ou spirochètes en grand nombre et isolés des globules de l'hôte. La méthode suivante m'a donné satisfaction, tant au point de vue de la rareté des globules sanguins que de la bonne vitalité des parasites. Elle est basée sur le fait que le sérum de bœuf est un milieu de conservation favorable pour ces organismes et d'autre part agglutine fortement les globules rouges de souris (*). Ceux-ci sont dès lors facilement séparés par centrifugation fractionnée.

Voici le détail d'une opération, avec numération :

Une souris infectée de *Trypanosoma evansi* est chloroformée et le sang du cœur prélevé à la pipette est mélangé à du citrate de soude à 3 % (le volume des 2 liquides est noté). On peut aisément compter les trypanosomes après dilution et dans le cas présent ils sont 320.000 au mm.c. de sang et on en a prélevé 160 millions, représentant environ la moitié du total chez la souris.

Le sang citraté est immédiatement (pour éviter l'action de la consommation du glucose) dilué à 10 cc. avec : Sérum de bœuf 1 volume, Ringer 3 volumes, Glucose ad. 2,5 % (**). On laisse se faire l'agglutination à la glacière (10-30 minutes). Puis le produit est centrifugé à 1000 tours et le culot de globules jeté.

Le liquide surnageant, riche en trypanosomes et pratiquement exempt de globules peut servir à des essais divers. A condition de le diluer suffisamment (< 1000 trypanosomes par mm.c.) les trypanosomes y survivront très bien, également les spirochètes. Pour ceux-ci la dilution de sérum est faite avec 6 vol. de Ringer glucosé, et vu la rareté relative des parasites le sang d'une souris est dilué de 3 cc. seulement. Si maintenant on désire les trypanosomes concentrés on centrifuge le liquide 15 minutes à 5000 tours, jette le sérum, lave avec du Ringer glucosé et recentrifuge une seconde fois, obtenant un culot quasi blanc.

Dans l'exemple cité on a remis le culot en suspension dans 1 cc. de Ringer glucosé et on a, au mm.c. 80.000 trypanosomes et 300 gl. rouges, plus des plaquettes (en tout 80 millions de trypanosomes). Après cette deuxième centrifugation les flagellates sont peu mobiles, faute de glucose, dans le culot, mais ils reprennent leur mobilité par dilution dans un milieu favorable.

(*) Le sang de cobaye n'est pas agglutiné, celui de rat l'est moins fortement que celui de souris.

(**) Sérum de bœuf filtré sur Seitz Ek, conservé en ampoules et chauffé 30 minutes à 56°.

Ringer : H₂O 1000 g. Na Cl. 6 gr. KCl, CaCl₂, NaH CO₃ aa 100 mg.

Si l'on désire faire des essais de conservation *in vitro* il faut opérer aseptiquement, éviter la 2^e centrifugation et diluer suffisamment avec le milieu nutritif.

Telle quelle cette technique est très aisée et peut se comparer avantageusement à celle utilisée par Van Goidsenhoven et Schoenaers (*).

J'ai jugé inutile d'essayer d'ajouter des substances hémolytiques car il resterait, après cela, les stromas. Obtenir en partant d'un animal infecté des trypanosomes tout à fait débarrassés de globules (en particulier plaquettes) est impossible.

Institut de Médecine Tropicale Prince Léopold, Anvers.

Samenvatting. — Het met 3 % gecitrateerd besmet muizenbloed wordt verdunt met een mengsel runder serum Ringer en glucose en nadien gedurende 10 tot 30 minuten in ijskast gesteld.

Het midden is voordeelig voor het leven der parasieten en agglutineerd de erythrocyten. Deze bezinken dan gemakkelijk door langzaam centrifugeeren. Zoo bekomt men de flagellaten bijna zonder mengsel met roode bloedbollen en welbehouden levenskracht.

NECROLOGIE.

Nous avons appris le décès de Mr. le Professeur E. Marchoux, survenu à Paris le 19 août 1943.

Le Professeur Marchoux était membre d'honneur de notre société depuis 1937. Une notice biographique concernant l'activité scientifique du savant disparu paraîtra ultérieurement.

*
**

Nous avons également eu connaissance du décès de Mr. le Professeur P. Mühlens.

Le Professeur Mühlens était le troisième directeur de l'Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten de Hambourg, où il avait succédé à F. Fülleborn.

(*) Van Goidsenhoven et Schoenaers. L'isolement des trypanosomes par centrifugation fractionnée du sang. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, 1942, t. XXII, p. 213.