

INFECTIONS BACTÉRIENNES CHEZ LES ÉCREVISSSES

Entérobactériacées

Deuxième note : *Citrobacter, Enterobacter.*

par C. TOUMANOFF

Chef de Service à l'Institut Pasteur

Dans une note antérieure (1), nous avons relaté l'existence chez les écrevisses de mortalités dues aux *Proteus*.

Chez ces Crustacés en captivité, malades ou mourants, nous avons constaté d'autres bactéries gram négatif, pouvant provoquer des affections mortelles.

Ces bactéries, isolées du sang dans la région péricardiale, ont été étudiées d'une manière approfondie, afin de bien connaître leur identité, et, comme dans le premier travail, procéder aux essais de leur effet pathogène sur des écrevisses saines.

Apparemment ces affections présentaient les caractères des septicémies, qui peuvent, chez les *Astacidés*, être discrets, avec la présence dans le sang de la région péricardiale de bactéries peu nombreuses, difficiles à détecter, ou même apparemment absentes.

L'isolement des germes a été effectué dans les conditions indiquées dans la première note. Nous avons retenu tout spécialement les cas où les bactéries ont été isolées en culture pure.

Dans ce travail, nous rapporterons sept cas d'infection par les bactéries gram négatif, et, comme dans tous les cas d'infection par *Proteus*, le même germe fut décelé chez des écrevisses provenant d'endroits géographiquement éloignés les uns des autres, et prélevées certainement dans des biotopes différents.

En ce qui concerne les symptômes qui accompagnent ces affections lorsqu'ils ont pu être observés, ils furent les mêmes que ceux dans les cas des *protéoses* ; en effet, il est difficile de saisir la période d'agitation qui est généralement d'une très courte durée.

Du point de vue de l'aspect extérieur, une particularité a été notée chez les écrevisses malades, surtout les *Astacus leptodactylus* : les écrevisses normales des lots nombreux de cette espèce que nous avons reçus

(1) *Bulletin français de Pisciculture*, n° 219, 31 décembre 1965.

ont été invariablement d'une couleur vert clair, rarement plus ou moins foncé, et, exceptionnellement, très légèrement bleuâtre, et cela, quelle que soit leur origine géographique. Dans trois cas sur sept de cette série d'observations, nous avons constaté chez les écrevisses malades le bleuissement des téguments, bleuissement concomitant avec leur affaiblissement, qui conduisait à la mort. Les écrevisses mortes étaient ainsi d'un beau bleu ciel ou bleu foncé. Ce bleuissement constitue souvent chez *A. leptodactylus*, et aussi chez *A. pallipes pallipes*, le signe précurseur d'une infection à issue fatale.

L'isolement des germes a conduit à conclure que, dans cinq cas sur sept, nous étions en présence d'une infection due à une entérobactérie pouvant être classée dans le même genre, et, dans les deux autres cas, d'une entérobactérie d'un autre genre, ainsi que d'une entérobactérie aberrante.

Nous présentons ci-après les caractéristiques des cas d'infection que nous avons groupés dans cette publication.

I. PREMIER CAS. — *Astacus leptodactylus*, provenant de Tchécoslovaquie, qui a séjourné au laboratoire pendant deux mois avant de devenir malade : agitation accompagnée de chutes sur le dos, avec apparente difficulté à se retourner et se remettre sur ses pattes. Bleuissement progressif des téguments jusqu'à ce que l'écrevisse devienne entièrement bleue.

Le germe isolé (dénommé souche G.) est une bactérie gram négatif dont les dimensions varient de 0,5 à 5 μ (exceptionnellement).

Ses caractères sont indiqués sur le tableau ci-dessous.

SOUCHE I (G.)

Définition	Petites bactéries gram — 0,5 à 5 μ .
Bouillon ordinaire	Bonne culture uniforme, ondes moirées, dépôt s'élevant en spirale.
Gélose ordinaire	Culture moyenne, blanche, brillante ; odeur caractéristique.
Pomme de terre	Culture faible, beige, brillante.
Gélose à l'œuf	Lécithinase — g ++.
Gélose profonde VF	Anaérobic facultatif.
Gélose nutritive au rouge neutre.	Léger pâlissement du milieu. g +++.
Gélose-sérum et catalase	Culture moyenne, lisse, brillante, en film léger ; Catalase O.
Esculine	—.
Gélatine nutritive	Liquéfaction O.
Mannitol-Mobilité	+ mobilité + ; état frais : mobiles — ciliature péritriche.
Glucose-Lactose-SH ₂	Glucose + lactose + SH ₂ ++ g +++.
Lait tournesolé	Pâlissement du milieu ; digestion O.
Petit lait tournesolé	Milieu rose violacé.
Simmons	+ (sauf culot) + en 10 jours.
Sérum coagulé	Légère liquéfaction.
Sérum Loeffler	Liquéfaction O.
Milieu Clark Lubbs	R.M. + A.M.C. —

Nitrites	+
Urée-Indole	—
Tryptophane désaminase	—
β galactosidase	+
Oxydase	—
L. D. C.	—

Métabolisme des Glucides

Glucose	+ g +	Dulcitol	+
Galactose	—	Adonitol	(±)
Lévulose	+	Tréhalose	+ g
Xylose	+ g +	Dextrine	+ g +
Arabinose	+ g +	Inositol	(±)
Saccharose	—	Salicine	(±)
Lactose	+ g +	Sorbitol	+ g
Maltose	+	Rhamnose	+ g +
Amidon	(±)	Raffinose	(±)
Glycérine	+		
Mannitol	+		

* H. et L. 25°. Glucose + g + + +. Lactose + g +. Sacch. (±) g O.

II. DEUXIÈME CAS. — Le deuxième cas fut sensiblement le même que le premier. Il s'agissait d'un *Astacus leptodactylus* provenant de Tchecoslovaquie. L'écrevisse malade présentait le même aspect que dans le cas précédent, c'est-à-dire était d'un bleu intense (souche E). Le germe isolé attestait aussi les caractéristiques semblables à celles de la souche précédente ; ces caractéristiques sont exprimées dans le tableau ci-dessous.

SOUCHE II (E.)

<i>Définition</i>	Bactéries gram — 0,3 à 5 μ.
Bouillon ordinaire	Odeur caractéristique très désagréable, bonne culture trouble, uniforme du milieu, ondes moirées, dépôt s'élevant en spirales.
Gélose ordinaire	Culture moyenne, blanche ; transparente, en film léger, odeur caractéristique très désagréable.
Pomme de terre	Croissance nulle.
Gélose à l'œuf	Lécithinase —.
Gélose profonde VF	Anaérobie facultatif.
Gélose nutritive au rouge neutre.	Virage 0 g + + +.
Gélose-sérum et catalase	Culture moyenne, brillante, blanche, film léger, catalase 0.
Esculine	—.
Gélatine nutritive	Liquéfaction 0.
Mannitol-Mobilité	Mannitol + mobilité + ; état frais : mobiles, ciliature péritriche.

* Milieu de Hugh et Leifson.

Glucose-Lactose-SH ₂	Glucose + lactose + SH ₂ ! + + g + + +.
Lait tournesolé	Digestion 0, léger pâlissement.
Petit lait tournesolé	Milieu vieux rose.
Simmons	Citrate + (sauf culot).
Sérum coagulé	Légère liquéfaction.
Sérum Loeffler	Légère liquéfaction.
Milieu Clark Lubbs	R. M. + A. M. C. ---
Nitrites	Traces.
Urée-Indole	Urée — indol —.
Tryptophane désaminase	—.
β galactosidase	+
Oxydase	—.
L. D. C.	—.

Métabolisme des Glucides

Glucose	+	Adonitol	(±)
Galactose			(+ en 48 h)
Lévulose	+ g +	Tréhalose	+ g +
Xylose	+	Dextrine	+ g
Arabinose	+	Inositol	(±)
Saccharose	—		(+ en 48 h)
Lactose	+ g + + +	Salicine	(±)
Maltose	+	Sorbitol	+ g
Amidon	(±)	Rhamnose	+ g +
Glycérine	+ g +	Raffinose	(±)
Mannitol	+		(+ en 48 h)
Dulcitol	+		

H. et L. 25°. Glucose + g + + +. Lactose + g +. Sacch. + (faibl?) g 0.

III. TROISIÈME CAS. — Ce fut celui d'une écrevisse américaine *Orconectes limosus*. Aucune modification particulière n'a été relevée dans ce cas, à l'exception d'un assombrissement des téguments (souche V 5).

Cette écrevisse provenait du lac d'Annecy.

Les caractères de la souche isolée sont présentés ci-dessous.

SOUCHE III (V 5)

<i>Définition</i>	Petites bactéries gram — 0,3 à 3 μ.
Bouillon ordinaire	Très bonne culture homogène, ondes moirées.
Gélose ordinaire	Bonne culture lisse, brillante, blanche.
Pomme de terre	Bonne culture jaune beige, brillante.
Gélose à l'œuf	Lécithinase — g + + + (culture blanche en 3 semaines).
Gélose profonde VF	Anaérobie facultatif.
Gélose nutritive au rouge neutre.	Virage 0 g + + + (virage + en 15 jours).
Gélose-sérum et catalase	Bonne culture lisse, brillante, blanche, en pellicule transparente; catalase + +.
Esculine	— (légèrement + en 3 semaines).
Gélatine nutritive	Liquéfaction 0.

Mannitol-Mobilité	Mannitol + mobilité +++ ; état frais : très mobiles, ciliature péritriche.
Glucose-Lactose-SH ₂	Glucose + g +++. Lactose + g ++. SH ₂ ++.
Lait tournesolé.....	Pâlisement du milieu ; digestion 0 (virage ½ du milieu en 15 jours).
Petit lait tournesolé	Rose sale transparent.
Simmons	(±) (+ en 6 jours).
Sérum coagulé	Légère liquéfaction.
Sérum Loeffler	Liquéfaction incomplète.
Milieu Clark Lubbs	A. M. C. — (à 32° et 37°) R. M. + (32° et 37°).
Nitrites	+ (faible).
Urée-Indole	Uréase — indole —.
Tryptophane désaminase	—.
β galactosidase	—.
Oxydase	—.
L. D. C.	—.

Metabolisme des Glucides

Glucose	+ g +	Dulcitol	+ g
Galactose	+ g +	Adonitol	—
Lévilose	+ g +	Tréhalose	+ g +++
Xylose	+	Dextrine	(±) g 0
Arabinose	+		(+ en 48 h)
Saccharose	—	Inositol	—
Lactose	+ g +++	Salicine	—
Maltose	+ g	Sorbitol	+ g ++
Amidon	+ g +	Rhamnose.....	+ g 0
Glycérine	+ g ++	Raffinose	—
Mannitol	+ g +		

H. et L. 25°. Glucose + g +. Lactose + g +. Sacch. + faible g 0.

IV. QUATRIÈME CAS. — Ce fut celui d'une écrevisse provenant du lac d'Annecy. Il s'agissait d'une écrevisse américaine *Orconectes limosus*, qui ne présentait pas de particularités quant aux symptômes, ni de changement apparent de l'aspect extérieur pendant la maladie et *post-mortem* (D 3).

Les caractères de la souche isolée sont présentés dans le tableau ci-dessous.

SOUCHE IV (D 3)

<i>Définition</i>	Petites bactéries gram — 0,3 à 2 μ.
Bouillon ordinaire	Culture moyenne, homogène.
Gélose ordinaire	Bonne culture lisse, blanche, brillante.
Pomme de terre	Bonne culture brillante, beige.
Gélose à l'œuf	Lécithinase —.
Gélose profonde VF	Anaérobie facultatif.
Gélose nutritive au rouge neutre.	Virage 0 g + (en surface) (10 jours virage 2/3)
Gélose-sérum et catalase	bonne culture catalase 0.

Esculine	— (traces en 1 mois).
Gélatine nutritive	Liquéfaction 0.
Mannitol-Mobilité	+ et ++ ; état frais : très mobiles, ciliature péritriche.
Glucose-Lactose-SH ₂	Glucose + g + + +. Lactose + g + +. SH ₂ —.
Lait tournesolé.....	Digestion 1/3 du milieu en 1 mois. Virage presque total en 72 heures.
Petit lait tournesolé	Milieu rose vif .
Simmons	Citrate +.
Sérum coagulé	Début de liquéfaction.
Sérum Loeffler	Début de liquéfaction.
Milieu Clark Lubbs	R. M. + (à 32° et 37°) A. M. C. — (32° et 37°).
Nitrites	+
Urée-Indole	Uréase — indole —.
Tryptophane désaminase	—.
β galactosidase	+
Oxydase	—.
L. D. C.	—.

Métabolisme des Glucides

Dulcitol	—	Galactose	+ g
Adonitol	—	Lévuiose	+
Tréhalose	+ g +	Xylose	+
Dextrine	+ g 0	Arabinose	+ g
Inositol	—	Saccharose	+
Salicine	—	Lactose	+ g
Sorbitol	+ g +	Maltose	+ g
Rhamnose.....	+ g +	Amidon	+
Raffinose	+ g 0	Glycérine	+
Glucose	+ g	Mannitol	+ g

H. et L. 25°. Glucose + g +. Lactose + g 0. Sacch. + g +.

V. CINQUIÈME CAS. — Il concernait une écrevisse capturée dans la Seine (*Orconectes limosus*). (H.)

Les caractères de la souche isolée sont présentés dans le tableau ci-dessous.

SOUCHE V (H.)

<i>Définition</i>	Petites bactéries gram — 0,5 à 4 μ.
Bouillon ordinaire	Bonne culture uniforme, ondes moirées, dépôt blanc, odeur nauséabonde.
Gélose ordinaire	Culture moyenne, blanche, brillante, lisse.
Pomme de terre	Culture moyenne beige, brillante.
Gélose à l'œuf	Lécithinase — g +.
Gélose profonde VF	Anaérobie facultatif.
Gélose nutritive au rouge neutre.	Virage 0 g + + + (virage 1/2 inférieure en 8 jours).
Gélose-sérum et catalase	Bonne culture blanche, brillante, catalase 0.
Esculine	— (traces en 72 heures).

Gélatine nutritive	Pas de liquéfaction.
Mannitol-Mobilité	+ et +; état frais : très mobiles, ciliature péritriche.
Glucose-Lactose-SH ₂	Glucose + g + + +. Lactose + g + + +. SH ₂ —.
Lait tournesolé	Pâlisement (± en 48 h) digestion 0 (1/4 en 3 semaines).
Petit lait tournesolé	Rose vif.
Simmons	Citrate + (sauf culot) (+ en 6 jours).
Sérum coagulé	Léger début de liquéfaction (idem en 1 mois).
Sérum Loeffler	Bon début de liquéfaction (idem en 1 mois).
Milieu Clark Lubbs	A. M. C. — R. M. +.
Nitrites	+
Urée-Indole	— et —.
Tryptophane désaminase	—.
β galactosidase	+
Oxydase	—.
L. D. C.	—.

Métabolisme des Glucides

Glucose	+ g	Glycérine	+ g 0
Galactose	+ g	Mannitol	+ g 0
Lévulose	+ g	Dulcitol	+ g 0
Xylose	+ g 0	Adonitol	—
Arabiose	+ g 0	Tréhalose	+ g
Saccharose	(±)	Dextrine	+ g 0
Lactose	+ g +	Inositol	—
Maltose	+ g	Salicine	—
Amidon	+ g 0	Sorbitol	+ g
Glycérine	+ g 0	Rhamnose	+ g 0
		Raffinose	—

H. et L. 25°. Glucose + g + + +. Lactose + g très faible. Saccharose + g 0.

Dans les cinq cas précités, nous étions en présence d'infections dues à des bactéries gram-négatif, oxydase négative, donc des *Entérobactériacés*.

L'ensemble de leurs caractères nous a permis de les classer dans le genre *Citrobacter*.

Les infections accompagnées chez les écrevisses de cette espèce sont donc assez fréquentes.

Toutefois, nous avons pu constater parmi les écrevisses mortes, un *Astacus leptodactylus* provenant de Tchécoslovaquie, dont le sang contenait un *Enterobacter cloacae* (souche 0), et une écrevisse américaine *Orconectes limosus*, porteuse d'une bactérie qui, soumise à M. LE MINOR (1), fut reconnue inclassable, et intermédiaire entre *Serratia* et *Enterobacter liquifaciens*.

(1) Nous remercions notre collègue, le D^r LE MINOR, d'avoir bien voulu confirmer nos déterminations de la souche 0.

Voici les descriptions de la première, puis de la seconde de ces souches, sous rubrique : Cas VI (souche D 5) et Cas VII (souche 0).

SOUCHE VI (D 5)

<i>Définition</i>	Petites bactéries gram — 0,3 à 3 μ .
Bouillon ordinaire	Bonne culture homogène.
Gélose ordinaire	Bonne culture brillante, blanche.
Pomme de terre	Bonne culture brillante, beige.
Gélose à l'œuf	Lécithinase + (en 10 jours) g ++.
Gélose profonde VF	Anaérobie facultatif.
Gélose nutritive au rouge neutre.	Virage 0 g ++ (virage + en 3 semaines).
Gélose-sérum et catalase	Bonne culture blanche, lisse, brillante, catalase 0.
Esculine	+
Gélatine nutritive	Liquéfaction totale en 48 heures.
Mannitol-Mobilité	+ et ++; état frais : mobiles, ciliature monotriche.
Glucose-Lactose-SH ₂	Glucose + g ++. Lactose + SH ₂ —.
Lait tournesolé	Virage 0 digestion 0 (virage + et digest. 2/3 en 1 mois).
Petit lait tournesolé	Pâlisement du milieu.
Simmons	+
Sérum coagulé	Début de liquéfaction } Accentuée
Sérum Loeffler	Début de liquéfaction } en 3 semaines.
Milieu Clark Lubbs	R. M. + (à 32° et 37°) A. M. C. + (à 32°) (±) (à 37°).
Nitrites	+
Urée-Indole	— et —.
Tryptophane désaminase	—.
β galactosidase	+
Oxydase	—.
L. D. C.	+

Métabolisme des Glucides

Glucose	+	Mannitol	+
Galactose	+	Dulcitol	—
Lévulose	+	Adonitol	—
Xylose	+	Tréhalose	+ g 0
Arabinose	+	Dextrine	+ g 0
Saccharose	+	Inositol	+ g 0
Lactose	(±)	Salicine	+ g 0
	(+ en 6 j.)	Sorbitol	+ g 0
Maltose	+	Rhamnose	—
Amidon	+	Raffinose	+ g 0.
Glycérine	(±)		
	(+ en 48 h)		

H. et L. 25° Glucose + g 0. Lactose + g 0. Sacch. + faible g 0.

SOUCHE VII (O)

<i>Définition</i>	Petites bactéries gram — 0,3 à 2 μ .
Bouillon ordinaire	Culture moyenne, uniforme, faible dépôt.
Gélose ordinaire	Bonne culture blanche.
Pomme de terre	Culture moyenne, beige, brillante.
Gélose à l'œuf	Lécithinase —.
Gélose profonde VF	Anaérobie facultatif.
Gélose nutritive au rouge neutre.	Virage 0 g 0.
Gélose-sérum et catalase	Bonne culture blanche. Catalase 0.
Esculine	—.
Gélatine nutritive	Liquéfaction 0.
Mannitol-Mobilité	Mannitol + mobilité + état frais : très mobiles, ciliature péritriche.
Glucose-Lactose-SH ₂	Glucose + g +++ . Lactose + g ++ . SH ₂ —.
Lait tournesolé	Virage 0 digestion 0.
Petit lait tournesolé	Milieu rose vif, transparent.
Simmons	Citrate + (sauf culot) + en 72 heures.
Sérum coagulé	} Très faible liquéfaction.
Sérum Loeffler	
Milieu Clark Lubbs	R. M. + A. M. C. —.
Nitrites	Traces.
Urée-Indole	Urée — indole +.
Tryptophane désaminase	—.
β galactosidase	+
Oxydase	—.
L. D. C.	—.

Métabolisme des Glucides

Glucose	+	Dulcitol	—
Galactose	+ g	Adonitol	(+)
Lévilose	+	Tréhalose	+ g
Xylose	+ g +	Dextrine	—
Arabinose	(+)	Inositol	(+)
Saccharose	—	Salicine	—
Lactose	(+)	Sorbitol	+ g
Maltose	+	Rhamnose	+
Amidon	(+)	Raffinose	(+)
Glycérine	+		
Mannitol	+ g +		

H. et L. 25°. Glucose + g ++. Lactose + g ++. Sacch. (+) g 0.

ANTIBIOGRAMMES

Le comportement de nos souches de *Citrobacter* à l'égard des antibiotiques est exprimé sur les tableaux ci-après.

Comme on le voit par ces tableaux, il y a une ressemblance quant à l'effet des antibiotiques sur diverses souches de *Citrobacter*.

On note par exemple que les cinq souches étudiées sont totalement résistantes : o léan domycine, érythromycine, kytasamycine ; résistantes ou manifestant une sensibilité limite (S. V 5 D 3) contre pristinamycine

<i>Antibiotiques</i>	G	E	V ₅	D ₃	H	D ₅	O
Streptomycine	L 10	L 15	L 13	S 19	S 19	S 20	S 21
Ampicilline	L 9	R 0	* L 13	R 0	R 0	L 10	S 18
Oxacilline	R 0	R 0	L 8	L 7	R 0	L 8	L 9
Spiramycine (rovamycine)	R 0	R 0	L 9	L 7	R 0	L 8	L 8
Kitasamycine	R 0	R 0	R 0	R 0	R 0	L 8	R 0
Auréomycine	L 12	L 10	L 15	S 23	L 10	L 8	S 23
Terramycine	L 15	S 20	L 9	S 22	S 17	L 11	S 20
Polymyxine	L 12	L 13	L 9	L 10	L 10	L 10	L 14
Novobiocine	R 0	R 0	L 10	R 0	R 0	L 8	R 0
Rifamycine S. V.	R 0	R 0	L 9	R 0	R 0	L 8	R 0
Pénicilline	R 0	R 0	L 10	R 0	R 0	L 8	R 0
Thiophénicol	R 0	L 10	L 20	S 18	L 13	L 10	S 15
Bacitracine	R 0	R 0	L 10	R 0	R 0	L 8	R 0
Novobiocine (vulcamicine d. h.)	R 0	R 0	L 11	L 7	R 0	L 8	L 8
Colimycine	S 18	S 18	S 15	S 17	S 18	S 15	S 18
Diméthoxy-pénicilline	R 0	R 0	L 9	R 0	R 0	L 7	L 8
Staphylomycine	R 0	R 0	L 9	L 8	R 0	L 7	R 0
D. M. T. C.	L 12	L 14	R 0	S 20	L 10	L 11	S 21
Chloramphénicol	L 13	L 13	S 15	S 24	L 15	S 15	S 20
Kanamycine-Kamycine	S 18	S 22	L 10	S 20	S 20	S 22	S 17
Erythromycine	R 0	R 0	R 0	R 0	R 0	L 10	R 0
Néomycine	S 20	S 21	S 15	S 15	S 16	S 22	S 16
Framycétine	L 15	S 20	S 16	S 18	L 15	S 21	S 18
O léan domycine	R 0	R 0	R 0	R 0	R 0	L 7	R 0
Pristinamycine (pyostacine)	R 0	R 0	L 8	L 7	R 0	L 8	L 10
Tétracycline	L 15	L 13	L 19	S 20	L 14	L 8	S 20
Paranomycine (humatine)	S 17	S 18	L 14	L 7	S 18	L 9	L 14

R = résistante ;
L = limite ;
S = sensible.

(*) Quelques colonies dans la zone d'inhibition.

et staphylomycine (limite S. V 5 et D 3), ampicilline, oxycilline, polymixine, novobiocine, pénicilline, bacitracine, dimétoxy-pénicilline. Elles sont, par ailleurs, toutes sensibles à la néomycine, sensibles ou limites à la framycétine, tétracycline, paranomycine et chloramphénicol, et enfin manifestant de la résistance (V 5) et la sensibilité limite jusqu'à la sensibilité totale en ce qui concerne D. M. T. C.

La souche D 5 (que nous avons communiquée à M. LE MINOR en nous rendant compte de ses caractères aberrants) fut définie par ce spécialiste comme « Entérobactérie inclassable entre *Serratia* et *Entérobacter liquefaciens* ». Elle s'est comportée à l'égard des antibiotiques d'une manière plus ou moins semblable aux *Citrobacter*. La différence consistait, en fait, à ce que cette souche ne manifestait pas la résistance totale contre certains antibiotiques auxquels étaient résistants les *Citrobacter*.

On ne peut ainsi déduire une règle générale en ce qui concerne l'antibiogramme des divers *Citrobacter*.

Notons aussi que la souche 0, qui est d'après LE MINOR, un *Enterobacter cloacae*, a un antibiogramme un peu spécial, car elle fait ressortir la sensibilité la plus manifeste de cette souche à l'égard des antibiotiques qui n'ont qu'une action limitée ou sont sans action sur le *Citrobacter*.

ACTION DES SULFAMIDES

<i>Sulfamides</i>	G	E	V ₅	D ₃	H	D ₅	O
Amidozol . .	S. 33	S. 34	T. S. 50	S. M. 20	T. S. 41	S. 33	S. M. 20
Nalidixique .	S. M. 28	S. M. 26	S. 32	S. M. 30	S. 33	T. S. 36	S. 30
Adiazine . . .	S. 31	T. S. 36	T. S. 44	S. M. 28	T. S. 36	S. 32	S. M. 24
Justamil . . .	T. S. 35	T. S. 38	T. S. 46	S. M. 26	T. S. 39	S. M. 19	F. S. 18
Rufol	S. 30	S. 30	T. S. 46	S. M. 30	T. S. 38	T. S. 35	S. M. 26
Furadoïne . .	S. M. 21	F. S. 19	S. 30	S. M. 27	S. M. 25	F. S. 10	F. S. 17
Nibiol	F. S. 13	F. S. 12	S. M. 25	S. M. 20	F. S. 19	S. M. 30	S. M. 26
Sultirène . . .	T. S. 38	T. S. 40	T. S. 50	S. M. 30	F. S. 41	S. M. 21	S. M. 23
Furoxane . .	S. M. 20	S. M. 20	S. 32	S. 34	S. 30	F. S. 10	S. M. 24
Uractyl	S. 35	T. S. 36	T. S. 40	T. S. 35	T. S. 40	T. S. 40	S. M. 28
Thiazomide .	S. 35	S. 30	T. S. 40	S. 34	T. S. 38	S. 30	F. S. 19

S. = sensible ;
 T. S. = très sensible ;
 S. M. = sensibilité moyenne ;
 F. S. = faible sensibilité.

En ce qui concerne les sulfamides, nous avons constaté que quatre souches sur cinq de *Citrobacter* (G, E, V 5 et H) ont été très sensibles à amidozol, justamil, sultirène, et, qu'en plus, la souche E manifesta la plus forte sensibilité à l'égard d'uractyl, V 5 vis-à-vis d'uractyl et tiazomidhe, D 3 pour uractyl, et la souche H fut particulièrement sensible à l'égard de justamil, rufol, sultirène, uractyl et thiazomide.

La souche indéfinie D 5 fut très sensible à l'action des nalidixique, rufol, uractyl et thiazomide.

Comme on peut le voir par notre tableau (p. 127), l'*Enterobacter cloacae* n'a manifesté une sensibilité particulière contre aucun sulfamide, qui, tous, n'exerçaient contre lui qu'une action moyenne.

DONNÉES ACTUELLES CONCERNANT LE ROLE PATHOGÈNE DU CITROBACTER ET DES BACTÉRIES VOISINES

Il est généralement admis que les entérobactéries du genre *Citrobacter* sont les saprophytes inoffensifs de l'homme et des animaux supérieurs.

On a noté cependant que les représentants du genre *Citrobacter* peuvent se rencontrer chez les humains atteints de diarrhée, en l'absence de tout agent pathogène reconnu. Néanmoins, le doute subsistait et subsiste encore quant au rôle que pourrait jouer le *Citrobacter* dans certaines affections intestinales.

C'est pour cette raison qu'au cours de ces dernières années, des études ont été entreprises pour préciser sur le plan antigénique et sérologique, et aussi du point de vue expérimental, l'action pathogène possible des *Citrobacter*.

L'expérimentation, qui consistait en l'absorption de cultures vivantes isolées de malades atteints de diarrhée, n'a donné que des résultats négatifs. Il reste toutefois encore des investigations à effectuer, afin d'établir le pouvoir pathogène des *Citrobacter*. On est convaincu actuellement que les *Citrobacter* se comportent chez l'homme comme d'autres saprophytes banaux.

S'il en est ainsi en ce qui concerne l'homme et les animaux supérieurs, il n'en est pas de même quant aux insectes qui ont été reconnus comme étant parasités par les bactéries du groupe « Paracolon aérobacter » dans lequel était inclus entre autres le *Citrobacter*.

En effet, STEINHAUS, en 1949-1951, a noté que le *Cocobacillus acridiorum* d'Herelle est une bactérie coliforme. LYSENKO a désigné ce germe comme *Cloaca cloacae* var. *acridiorum*.

Enfin, BUCHER, en 1959, place ce microorganisme en *Cloaca* type A, en se référant surtout à la taxonomie des Entérobactéries retenues par le Sous-Comité des Entérobactériacés (Rapport de 1958). Il indique cependant que la dénomination de LYSENKO est plus correcte sur le plan de la nomenclature bactérienne générale.

Personne n'ignore l'importance des épizooties de Sauterelles dans diverses parties du globe dues à cette bactérie coliforme ; il s'agit là d'un premier exemple de l'action pathogène de ce germe coliforme.

Au cours de nos recherches sur la pathologie des insectes, nous avons eu l'occasion (PESSON, TOUMANOFF et HARARAS) d'étudier les épizooties bactériennes dans les élevages d'insectes xylophages (*Ryncolus porcatus* GERMAIN, *Scolytus scolytus* FABRICIUS, *Scolytus (Scolytochelus) multistriatus* MARSHAM).

Au terme de cette étude, nous avons conclu que ces épizooties étaient dues à des *Paracolon*, et plus particulièrement en ce qui concerne *Rhyncolus porcatus* d'une infection par la deuxième bactérie que nous avons dénommée *Paracolobactrum rhyncoli* ; dans le deuxième cas d'une maladie due à un germe du genre *Aerobacter* que nous avons désigné sous le nom d'*Aerobacter scolyti* observé chez les larves du petit Scolyte de l'orme, et enfin une Entérobactérie désignée sous le nom d'*Escherichia Klebsiella formis*, qui s'est avérée pathogène à la fois pour les larves de *Rhyncolus* et de *Scolytus*.

Il n'y a pas doute ainsi que chez les Invertébrés et notamment chez les Insectes, les bactéries coliformes peuvent être pathogènes au même titre que d'autres bactéries ou bacilles qui ne sont que les saprophytes de l'homme ou des animaux supérieurs.

Les animaux aquatiques présentent les mortalités associées avec la présence dans leurs organes de para-colons divers.

Chez les poissons malades atteints des affections qu'on classe comme « septicémies hémorragiques », notamment chez les Carpes, on trouve fréquemment dans le sang et dans les divers organes les représentants du genre *Aerobacter* : *A. cloacae* et *A. liquefaciens* et aussi ceux du genre *Citrobacter*.

On les trouve, à l'exclusion de tout autre germe et entre autres de *P. punctata* = *Aeromonas punctata*, ce dernier comme on le sait, incriminé d'être agent pathogène exclusif de l'affection définie sous le nom d'« hémorragie septicémique ».

La présence exclusive des coliformes dans ces formes d'hémorragies septicémiques des Carpes aberrantes, avec absence d'*Aeromonas punctata* n'est certainement pas fortuite, et on ne saurait même pas exclure leur rôle pathogène possible.

Toutefois, c'est l'infection expérimentale seule qui autorise à conclure de la virulence d'une souche bactérienne, c'est pourquoi nous avons éprouvé l'action pathogène sur les écrevisses de toutes les bactéries coliformes que nous avons isolées de ces Crustacés.

ESSAIS D'INFECTION EXPÉRIMENTALE PAR LES GERMES ISOLÉS

Les essais d'infection expérimentale effectués avec les *Citrobacter* et les formes proches d'Entérobactéries ont été conduits en utilisant la même technique d'inoculation qui a été indiquée dans la note sur les protéoses.

Nous avons adopté l'utilisation des mêmes doses afin de pouvoir comparer les résultats obtenus, en attendant d'établir, plus tard, les doses minima mortelles.

Nous avons utilisé pour nos expériences les écrevisses américaines (*Orconectes limosus*) en raison, comme nous l'avons dit antérieurement, de leur réputation d'avoir une résistance plus grande aux affections et intempéries que les espèces autochtones (*Astacus pallipes pallipes* et *Astacus fluvialilis*).

Rappelons que la dose utilisée par injection, aussi bien qu'administrée *per os*, a été d'un demi-centimètre cube d'une culture diluée dans 10 ml d'eau physiologique.

Dans l'exposé concernant nos expériences, il sera noté dans chaque cas particulier l'âge des cultures utilisées, en attendant de pouvoir réaliser les essais comparatifs avec les cultures d'âges variés, ce qui entre dans le programme de nos investigations futures.

Voici l'exposé concernant les contaminations artificielles avec diverses souches des *Entérobactéries* que nous avons isolées.

1° SOUCHE G. — Comme on l'a vu, cette souche atteste toutes les caractéristiques des *Citrobacter*. Nous l'avons utilisée en une culture de 13 jours sur gélose-sérum.

L'injection intra-péricardiale ainsi que l'introduction des suspensions bactériennes *per os* ont abouti à une mort très rapide, c'est-à-dire dans un délai de 16 à 18 h.

Le prélèvement du sang dans la région péricardiale et sa coloration par Gram et May-Grünwald n'a permis de déceler que la présence de quelques rares bactéries.

2° SOUCHE E. — La souche E a été également administrée à *Orconectes limosus* en culture de 12 jours sur gélose-sérum, à la même dose que les deux précédentes. C'était bien un *Citrobacter*. Elle s'est avérée très virulente, administrée par la voie intra-péricardiale, en provoquant la mort des écrevisses en expérience dans un délai de 24 heures.

Il n'en fut pas de même en ce qui concerne l'administration *per os*. C'est ainsi que 15 jours après, ces écrevisses ne montrèrent aucun signe pouvant laisser supposer qu'elles soient malades. Ce n'est que 45 jours plus tard qu'une écrevisse sur deux a présenté un état d'anxiété et d'agitation ; la mort survenait 24 heures après l'apparition de ces symptômes.

Dans ce cas, il n'y avait pas apparemment de bactéries dans le sang.

Une des écrevisses contaminées *per os* est demeurée vivante, et on peut conclure ainsi que cette souche ne produit pas nécessairement un effet fatal.

3° SOUCHE D 3. — Cette souche, reconnue comme les précédentes pour *Citrobacter*, a été pathogène par l'injection intrapéricardiale et fut sans aucun effet administrée *per os*.

4° SOUCHE H. — La souche H, qui ne se distingue pas d'une manière appréciable de ses congénères, était pathogène par injection dans la cavité péricardiale.

L'effet pathogène de cette souche (culture de 3 jours sur gélose-sérum) ne fut que faible par la voie buccale, provoquant la mort des écrevisses dans des délais variant de 23 jours à un mois.

5° SOUCHE V 5. — La souche V 5, comme les autres représentants de *Citrobacter*, était très virulente par injection, provoquant la mort des écrevisses en 24 heures, mais pathogène aussi par voie buccale; elle donnait lieu à une maladie lente précédée de convulsions et de paralysie peu de temps avant la mort, qui survint 45 à 50 jours après.

6° SOUCHE D 5. — Cette souche, intermédiaire entre *Serratia* et *Enterobacter liquefaciens*, est virulente, par injection, provoquant la mort en 24 heures; elle n'a exercé aucun effet sur les écrevisses américaines 35 jours après son administration *per os*.

7° SOUCHE 0. — La bactérie désignée sous le nom de souche 0 fut déterminée comme étant *Enterobacter cloaca cloacae*. Injectée dans la cavité intra-péricardiale, elle a provoqué la mort assez rapide des écrevisses; par contre, les écrevisses infectées par voie buccale ont vécu pendant un mois. Sur deux écrevisses expérimentées de cette façon, une seule mourut au bout d'un mois. On peut donc conclure que ce germe n'est que faiblement virulent pour l'*Orconectes limosus*.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Il résulte de nos observations que les anciens paracolons appartenant aux genres *Citrobacter* et *Enterobacter* ainsi que les bactéries gram négatif *incertae sedis* peuvent accompagner les mortalités des écrevisses, au même titre que les *Proteus*, et en l'absence de tout autre germe.

Pour le moment, ce sont seulement deux genres des Entérobactériacés : *Citrobacter* et *Entérobacter* et une forme incertaine qui ont été relevés chez les écrevisses malades.

Les contaminations expérimentales démontrèrent que certaines souches sont absolument sans effet sur les écrevisses, d'autres provoquent une maladie lente, et d'autres, enfin, une affection rapide et aiguë, se terminant par la mort dans un délai très court, même lorsque l'infection fut réalisée *per os*.

Dans l'ensemble, cependant, la plupart des souches de *Citrobacter* n'ont montré qu'un faible effet pathogène sur les écrevisses, à l'exception de la souche G, qui, malgré une similitude biochimique avec certaines de ses congénères, s'est avérée très pathogène tout aussi bien *per os* que par injection intra-péricardiale. Cette circonstance conduit à la conclusion

qu'il est difficile, voire même impossible dans certains cas, de distinguer une souche bactérienne pathogène de non pathogène pour l'écrevisse, en se référant à ces caractères biochimiques en absence également de caractères distinctifs morphologiques.

Nous avons constaté au cours de cette étude que certaines souches de *Citrobacter* manifestent une individualité quant à leur comportement à l'égard des antibiotiques, mais que, dans l'ensemble, ce comportement atteste une similitude pour diverses souches. En ce qui concerne les sulfamides, la réaction des diverses souches de *Citrobacter* est plutôt uniforme.

Parmi les souches étudiées la D 5, qui est oxydase négative, présente les caractères biochimiques propres à *Serratia* et *Enterobacter liquefaciens*, mais étant monotriche, elle s'avère tout à fait aberrante et difficile à classer.

L'ensemble des caractères biochimiques des *Citrobacter* se rapprochent de ceux de la bactérie décrite sous le nom de *Bacillus pestis astaci*. En effet, toutes les souches de *Citrobacter* fermentent le lactose, glucose et saccharose et produisent SH₂. Par contre, aucun *Citrobacter* isolé des écrevisses ne liquéfie la gélatine, qui fut liquéfiée par *B. pestis astaci* fortement et rapidement, à en juger par la description de HOFER.

Il ne semble pas ainsi qu'il soit possible d'assimiler le *B. pestis astaci* à un *Citrobacter*, mais la ressemblance entre ces bactéries dénote combien, en pratique, était douteuse, surtout autrefois, la distinction des bactéries à gram négatif. Le contrôle bactériologique de la « peste d'écrevisse » était pour ainsi dire impossible dans le passé déjà lointain où l'on a observé des mortalités d'écrevisses atteintes de la « peste ».

Nous croyons que les infections à *Citrobacter* virulents devront être classées dans l'ensemble des infections cataloguées comme « peste », au même titre que les infections à *Proteus*.

BIBLIOGRAPHIE

- BUCHER (G. E.). — Non sporulating Bacterial Pathogens. In : *Insect Pathology An advanced Treatise*, vol. 2, pp. 117-149. Edit. by Steinhaus, 1963.
- HOFER (B.). — Handbuch der Fischkrankheiten. *Ver. der Allg. Fischerei-Zeitung*, München 1904.
- LYSENKO (O.). — Contribution to taxonomy of *Coccobacillus acridiorum*. *Folia Biol. (Prague)*, 4, p. 342-347, 1958.
- PESSON (P.), TOUMANOFF (C.) et HARARAS (C.). — Études des épizooties bactériennes observées dans les élevages d'insectes xylophages. *Ann. Epiphyties (Ann. Inst. Nat. Rech. Agr.)*, série C, 3, 315-328, 1955.

- SAKASAKI (R.), NAMIOKA (S.), OSADA (A.) et YAMADA (C.). — *Citrobacter (E. Freundii, Bethesda, Ballerup)*. A problem on the pathogenic role of *Citrobacter* of Enteric Bacteria. *Jap. J. Exp. Med.*, 1960, 30, p. 13-21.
- TOUMANOFF (C.), DURAND (J.) et LE CORROLLER (Y.). — Étude de la flore bactérienne accompagnant une épizootie des Carpes communes (*Cyprinus carpio L.*) dans la région du Var. *Ann. Stat. Centr. Hydrobiol. Appliquée*, 1960, 8, 191-217.
- TOUMANOFF (C.), DURAND (J.) et LE CORROLLER (Y.). — Étude d'un épizootie des Carpes dans la région d'Épinal avec indications sur la classification actuelle des bactéries gram négatives rencontrées chez les poissons d'eau douce malades ou sains. *Ann. Stat. Centr. Hydrobiol. Appliquée*, 1962, 9, 271-300.
- TOUMANOFF (C.) — Infections bactériennes chez les Écrevisses. Première note : Protéoses. *Bulletin français de Pisciculture* N° 219, 31 décembre 1965, p. 41-65, 3 fig.
-