

INFECTIONS BACTÉRIENNES CHEZ LES ÉCREVISSSES

Troisième note (1) : *Pseudomonaceae* = *Pseudomonas alcaligenes*

MONIAS 1928 et *Alcaligenes* (*Bacillus faecalis alcaligenes*

PETRUSCHKY 1896) et quelques bactéries proches : *Incertae sedis*

par C. TOUMANOFF.

Parmi les écrevisses qui nous ont été envoyées pour examen, plusieurs provenaient de Florac, en Lozère, où une tentative d'élevage de *Astacus pallipes pallipes* fut entreprise, mais s'est soldée par un échec qui, sans être dû entièrement à des maladies, fut néanmoins accompagné de quelques mortalités, dont certaines attestaient les caractères de la septicémie.

Ces mortalités ont été accompagnées de *Citrobacter* et autres Coliformes, et aussi de *Proteus*.

Nous avons observé également chez quelques écrevisses de l'espèce précitée, chez un *A. leptodactylus*, originaire de Tchécoslovaquie, un *A. fluviatilis* de Meurthe-et-Moselle, et enfin des *Orconectes limosus* du Lac d'Annecy, des mortalités accompagnées de bactéries n'attaquant pas les glucides, et présentant entre elles certaines similitudes.

L'étude de ces bactéries a permis de séparer les mortalités accompagnées de la présence dans le sang des écrevisses :

1° De bactéries n'attaquant pas les glucides, et pouvant être incorporées dans les genres *Alcaligenes* et *Pseudomonas* (*Ps. alcaligenes*) ; et,

2° De bactéries ayant la même propriété fondamentale, mais ne correspondant pas, par l'ensemble de leurs caractères, à ces genres, et que nous désignerons sous le nom de bactéries *Incertae sedis*.

(1) Les deux notes précédentes concernant les entérobactériacés des écrevisses (*Bulletin français de Pisciculture*, nos 219 du 31 déc. 1965 et 221 du 30 juin 1966), ne constituent pas nécessairement la fin des observations se relatant à l'action de ce groupe bactérien sur les astacidés. Nous avons, en effet, observé de nouveau quelques affections dues aux entérobactérie.

Des études complémentaires se sont avérées nécessaires pour étudier les nouveaux cas observés. Afin de ne pas retarder la mise au point de nos observations, nous présentons ainsi cette note qui devrait, par la suite, être complétée par d'autres travaux concernant les pseudomonacées en rapport avec les mortalités des astacidés divers.

I. — BACTÉRIES POUVANT ÊTRE INCORPORÉES DANS LES GENRES ALCALIGÈNES ET PSEUDOMONAS

Les caractères cultureux de ces formes sont représentés dans les tableaux ci-après.

	Souche IV a Petites bactéries gram. — 0,5 à 5 μ monotriches	Souche I a Petites bactéries gram. — 0,5 à 5 μ lophotriches
Bouillon ordinaire	Très bonne culture uni- forme, ondes moirées	Bonne culture, trouble, uniforme, ondes moi- rées
Gélose ordinaire	Culture blanche, brillante, film léger adhérent peu à peu à la gélose, pousse dans eau de condensa- tion.	Culture moyenne blan- che, brillante, odeur caractéristique, pig- ment vert en 3 ou 4 jours
Pomme de terre	Culture pauvre, milieu légèrement beige	Croissance faible, beige, brillant
Gélose à l'œuf	Lécithinase 0	Lécithinase 0
Gélose profonde VF	Anaérobie facultatif	Aérobie stricte
Gélose nutritive au rouge neutre	Virage 0, gaz 0	Virage 0, gaz 0
Gélose-sérum et catalase .	Bonne culture lisse, bril- lante, catalase 0	Bonne culture blanche, lisse, brillante, cata- lase (\pm) faible
Esculine	0	0
Gélatine nutritive	Liquéfaction 0	Liquéfaction 0
Mannitol-Mobilité	Mannitol 0, Mobilité (\pm)	Mannitol 0, Mobilité + (en surface seulement)
Glucose, Lactose, SH ₂ . . .	Glucose 0, Lactose 0, SH ₂ 0	Glucose (\pm) faible, Lactose 0, SH ₂ 0
Lait tournesolé	Virage 0, Digestion 0	Virage 0, Digestion 0
Petit lait tournesolé	Milieu bleu intense	Milieu bleu intense
Simmons	Citrate + (sauf culot)	Citrate + (sauf culot)
Sérum coagulé	Liquéfaction 0	Pas de liquéfaction
Sérum Loeffler		
Milieu Clark Lubbs	R. M. 0, A. M. C. 0	R. M. 0, A. M. C. 0
Nitrites	0	0
Urée et Indole	Urée 0, Indole 0	Urée 0, Indole 0
Tryptophane désaminase	0	0
β galactosidase	0	0
Oxydase	+	+
L D C	0	0

	Souche 10 A Bactéries gram négatif Coloration bi-polaire Péritriches	Souche II b Lophotriches ; formes à 2 ou 3 cils polaires Petites bactéries gram négatif, 1 à 5 μ
Bouillon ordinaire	Culture moyenne, uni- forme. Dépôt s'élevant en spirales	Bonne culture, trouble, uniforme du milieu, ondes moirées
Gélose ordinaire	Culture moyenne, blanche, brillante	Culture moyenne, blan- che, brillante, odeur caractéristique, pig- ment vert en 3 ou 4 jours
Pomme de terre	Culture très faible, beige.	Croissance moyenne, beige, brillant
Gélose à l'œuf	Lécithinase 0	Lécithinase 0
Gélose profonde VF	Aérobie stricte	Anaérobie stricte
Gélose nutritive au rouge neutre	Virage 0, gaz 0	Virage 0, gaz 0
Gélose-sérum et catalase.	Culture moyenne, brillante lisse, catalase 0	Bonne culture blanche, lisse, catalase (\pm) faible
Esculine	Traces en surface	0
Gélatine nutritive	Début de liquéfaction	Liquéfaction 0
Mannitol. Mobilité	Mannitol 0, Mobilité + (en surface seulement)	Mannitol 0, Mobilité + (en surface seulement)
Glucose, Lactose, SH ₂	Glucose 0, Lactose 0, SH ₂ 0	Glucose 0, Lactose 0, SH ₂ 0
Lait tournesolé	Virage 0, Digestion 0	Virage 0, Digestion 0
Petit lait tournesolé	Virage 0	Milieu bleu intense
Simmons	Citrate 0	Citrate + (sauf culot)
Sérum coagulé	Début de liquéfaction	Pas de liquéfaction
Sérum Loeffler	Très bon début de liqué- faction sans progression	Pas de liquéfaction
Milieu Clark Lubbs	R. M. 0., A. M. C. 0	R. M. 0., A. M. C. 0
Nitrites	0	0
Urée et Indole	Uréase 0, Indole 0	Uréase 0, Indole 0
Tryptophane désaminase	0	0
β galactosidase	0	0
Oxydase	0	+
L D C	0	0

Métabolisme des glucides.

Sucres	Souches			
	I a	II b	IV a	10 A
Glucose	(\pm)	(\pm)	(\pm)	—
Autres sucres	Les autres sucres sont —			

	Souche V 2 <i>Orconectes limosus</i>
Morphologie. Cocobacille 1 à 4 μ	Chainettes de 10 μ Monotriches
Bouillon ordinaire	Culture faible, uniforme
Gélose ordinaire	Culture moyenne, blanche, aspect granuleux.
Pomme de terre	Culture nulle
Gélose à l'œuf	Lécithinase 0
Gélose profonde VF	Aérobie stricte
Gélose nutritive au rouge neutre	Léger virage. Gaz 0
Gélose-sérum et catalase	Culture moyenne, aspect granuleux et brillant ; catalase : très faible
Esculine	0
Gélatine nutritive	Liquéfaction 0
Mannitol-Mobilité	0, + très mobiles
Glucose, Lactose, SH ₂	Glucose 0, Lactose 0, SH ₂ 0
Lait tournesolé	Léger pâlissement
Petit lait tournesolé	Bleu intense, pellicules gris-bleu
Simmons	+ (sauf culot)
Sérum coagulé	Bon début de liquéfaction qui ne progresse pas un mois après
Sérum Loeffler	d°
Milieu Clark Lubbs	R. M. 0, A. M. C. 0
Nitrites	+ (faible)
Urée, Indole	Urée 0, Indole 0
Tryptophane désaminase	0
β galactosidase	0
Oxydase	+
L D C	0

Métabolisme des glucides.

Sucres	Souche V 2
Glucose	0
Galactose	0
Lévulose	0
Xylose	0
Arabinose	0
Saccharose	0
Lactose	0
Maltose	0
Amidon	0
Glycérine	0
Mannitol	0
Dulcitol	0

Le germe est sans action sur d'autres sucres et notamment rhamnose, saliciline, raffinose, adonitol, sorbitol, tréhalose, inositol.

Souche V 4 <i>Orconectus Limosus</i> (Lac d'Annecy)	
Morphologie	Bactéries 1 à 5 μ Monotriches
Bouillon ordinaire	Croissance très faible
Gélose ordinaire	Bonne culture, blanche, brillante
Pomme de terre	Bonne culture, couleur jaune, brillante
Gélose à l'œuf	Pas de lécithinase
Gélose profonde VF	Aérobie stricte
Gélose nutritive au rouge neutre	Gaz 0, Virage 0
Gélose-sérum et catalase	Bonne culture, lisse, brillante, blanche, pelli- cule opaque. Catalase : très faible
Esculine	0
Gélatine nutritive	Liquéfaction 0
Mannitol, Lactose, SH ₂	(±), 0 0
Mannitol, Mobilité	0 + (en surface)
	État frais, très mobiles
Lait tournesolé	Digestion 0, Virage 0
Petit lait tournesolé	Pâlisement du milieu
Simmons	+ (sauf culot)
Sérum coagulé	Début de liquéfaction
Sérum Loeffler	Début de liquéfaction
Milieu Clark Lubbs	R. M. 0, A. M. C. 0 (32° et 37°)
Nitrites	0
Urée, Indole	Urée +, Indole 0
Tryptophane désaminase	0
β galactosidase	0
Oxydase	+
L D C	0

ANTIBIOGRAMMES

Les tableaux spéciaux montrent l'action sur nos diverses souches des antibiotiques et sulfamides, que nous avons précisée pour toutes les bactéries isolées au cours des mortalités des Astacidés.

Comme on peut le voir, sur cinq souches soumises à l'action des antibiotiques, trois furent sensibles à la Streptomycine, Kanamycine-kamycine, Néomycine, Framycétine et Paranomycine. Des différences de détail ont été observées quant au comportement de ces souches vis-à-vis d'autres antibiotiques.

En ce qui concerne la souche 10 A, elle présente, comme on peut en juger par les chiffres du tableau, un antibiogramme très individualisé.

En effet, elle s'est avérée sensible à l'égard de Ampicilline, Spiramycine et Diméthoxy-pénicilline, et, par contre, résistante à la Kanamycine-kamycine et Paranomycine (humatine).

Par ailleurs, on observe entre diverses souches des différences de détail qu'il serait fastidieux d'énumérer.

Quant à la cinquième souche (C), elle ne pousse que faiblement et très lentement sur le milieu spécial pour l'épreuve de l'effet des antibio-

tiques, et son antibiogramme ne put ainsi être établi. Elle ne pousse pas non plus sur le milieu d'épreuve pour l'action des sulfamides, comme du reste les souches II b et V 2 et leur comportement à l'égard des sulfamides n'a pû également être établi.

Quant à la souche V 2, elle a un antibiogramme qui, tout en attestant une certaine individualité, ne saurait être classé comme exceptionnel.

Il en est de même en ce qui concerne la souche V 4, dont le comportement à l'égard des antibiotiques est néanmoins quelque peu différent de celui de la souche V 2.

En effet, on remarque que la souche V 4 manifeste un certain degré de sensibilité à l'égard des antibiotiques contre lesquels la souche V 2 manifeste une résistance totale (Cf. tableau p. 12).

Nos souches réagissent différemment à l'égard des antibiotiques, et on ne saurait pas ainsi retenir un antibiogramme spécifique.

SULFAMIDES

Sur un tableau spécial est exprimée l'action des divers sulfamides sur trois de nos souches.

On aperçoit que les souches I a et IV a, que nous avons classées comme *Pseudomonas alcaligenes*, présentent sensiblement les mêmes réactions, à l'exception de l'effet du Nibiol contre lequel la souche I a est légèrement sensible, et la souche IV a entièrement résistante.

En ce qui concerne la souche qualifiée d'*Alcaligenes* (souche 10 A), sa sensibilité au Rufol la distingue des deux souches de *Ps. alcaligenes*, résistante à ce sulfamide, dont elle se différencie, d'autre part, par sa complète résistance au Sultirène, auquel sont sensibles les deux souches de *Pseudomonas*. Par ailleurs, on n'observe aucune différence notable quant à l'action des autres sulfamides.

Comme nous l'avons déjà dit, la croissance des souches C, II b et V 2 sur le milieu aux sulfamides étant nulle, l'action de ceux-ci sur ces souches n'a pû être étudiée.

Du point de vue de la sensibilité aux sulfamides, la souche V 4 atteste des particularités notables. C'est ainsi qu'elle manifeste une forte sensibilité à l'égard de l'Amidozol et du Nalidixique, une sensibilité moyenne contre certains autres sulfamides, et qu'elle montre une sensibilité, quoique faible, à la Furoxane, contre lesquels ont une sensibilité totale les deux souches classées comme *Pseudomonas alcaligenes* (I a, IV a), ainsi que la souche rapportée au genre *Alcaliges* (10 A).

ACTION DES ANTIBIOTIQUES

	SOUCHES			
	I a	II b	IV a	10 A
Streptomycine	S 20	S 25	L 14	S 18
Ampicilline	R 0	R 0	R 0	S 17
Oxacilline	R 0	R 0	R 0	R 0
Spiramycine (rovamycine)	R 0	R 0	R 0	S 20
Kitasamycine	R 0	R 0	R 0	L 16
Auréomycine	L 9	L 10	R 0	L 10
Terramycine	L 15	S 22	R 12	L 12
Polymyxine	L 8	S 20	L 8	L 8
Novobiocine	R 0	R 0	L 7	R 0
Rifamycine S. V.	R 0	L 8	R 0	L 8
Pénicilline	R 0	L 8	R 0	L 13
Thiophénicol	L 8	L 11	L 7	L 13
Bacitracine	R 0	L 11	R 0	R 0
Novobiocine (vulcamycine d. h.) ...	R 0	R 0	L 7	R 0
Colymycine	L 12	S 22	L 12	L 9
Diméthoxy-pénicilline	R 0	R 0	R 0	L 12
Staphylomycine	R 0	R 0	L 7	L 8
D. M. T. C.	L 10	S 18	L 10	L 10
Chloramphénicol	L 8	L 8	L 7	L 8
Kanamycine-Kamycine	S 24	S 42	S 18	R 0
Erythromycine	R 0	L 8	L 7	L 12
Néomycine	S 19	S 26	S 19	L 14
Framycétine	S 17	S 28	S 18	L 8
O léan domycine	L 8	R 0	R 0	L 8
Pristinamycine (pyostacine)	R 0	R 0	R 0	L 13
Tétracycline	L 13	L 13	L 8	L 12
Paranomycine (humatine)	S 20	S 29	S 16	R 0

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

ACTION DES ANTIBIOTIQUES

	Souche V 2	Souche V 4
Streptomycine	L 10	L 11
Ampicilline	R 0	R 0
Oxacilline	R 0	L 8
Spiramycine (rovamycine)	R 0	L 12
Kitasamycine	R 0	L 10
Auréomycine	L 13	S 20
Terramycine	S 16	S 18
Polymyxine	S 18	S 18
Novobiocine	R 0	S 18
Rifamycine S.V.	R 0	L 7
Pénicilline	R 0	L 7
Thiophénicol	L 13	L 21
Bacitracine	L 15	L 8
Novobiocine (vulcamycine d. h.)	L 12	S 15
Colymycine	S 22	S 25
Diméthoxy-pénicilline	L 8	R 0
Staphylomycine	R 0	L 13
D. M. T. C.	L 13	S 23
Chloramphénicol	S 16	S 27
Kanamycine-Kamycine	S 20	S 25
Erythromycine	R 0	L 13
Néomycine	S 25	S 16
Framycétine	S 23	S 16
O léan domycine	R 0	L 8
Pristinamycine (pyostacine)	R 0	S 15
Tétracycline	L 15	S 20
Paranomycine (humatine)	S 18	L 14

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

ACTION DES SULFAMIDES

	Souche I a	Souche IV a	Souche V 4	Souche 10 A
Amidozol ...	F. S. 15	F. S. 17	T. S. 35	T. S. 36
Nalidixine ...	S. M. 20	S. M. 21	T. S. 44	F. S. 16
Adiazine.....	S. M. 20	F. S. 19	S. M. 23	S. M. 27
Justamil.....	S. M. 21	S. M. 25	S. M. 26	S. 31
Rufol	R. 0	R. 0	S. 30	F. S. 15
Furadoïne ...	R. 0	R. 0	S. 12	R. 0
Nibiol	F. S. 10	R. 0	S. 30	R. 0
Sultirène	F. S. 16	F. S. 10	S. 32	R. 0
Furoxane ...	R. 0	R. 0	F. S. 9	R. 0
Uractyl	S. M. 25	S. 30	S. 34	F. S. 15
Thiazomide ..	F. S. 15	F. S. 18	S. 30	F. S. 10

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

N. B. — Culture nulle sur les milieux à sulfamides pour les souches II b, C
et V 2.

Comme on peut en juger par le tableau concernant les caractères culturels de nos bactéries, il s'agit de bactéries à gram négatif, sans action sur les glucides, aérobies strictes (I a et II b) ou anaérobies facultatives (IV a), qui ressembleraient au premier abord à la définition d'*Alcaligenes*.

C'est ainsi que nous avons pensé tout d'abord que nous étions en présence de bactéries du genre *Alcaligenes*, qui, comme on le sait, se rencontrent en milieu aquatique, et dont certaines souches provoqueraient même la « septicémie hémorragique des grenouilles », désignée sous le nom de « red leg disease », septicémie qui fut attribuée pendant longtemps à *Aeromonas hydrophila*.

Toutefois, la ciliature de certaines de ces bactéries n'autorise pas à les rattacher à l'*Alcaligenes* qui, comme on le sait, est péritriche.

Rappelons que KLINGE (1960), à la suite d'une révision détaillée des caractères biochimiques et morphologiques de *Pseudomonas* arrive à la définition de ce genre que voici : Bactéries gram négatif non sporogènes avec le flagelle polaire, strictement *aérobie*, le métabolisme des hydrates de carbone, s'il se manifeste, est oxydatif ; la réaction de catalase est positive, croissance en citrate d'ammonium ; KNC positive ; rouge de méthyle négative ; acétyl-méthylcarbinol négative ; uréase négative et indole négative. D'après l'auteur, les caractères dont on doit aussi tenir compte sont : liquéfaction de la gélatine, oxydation du gluconate, réduction des nitrites, acidification du glucose, arabinose, xylose, mannose et galactose ; pas d'acidification du lactose, dulcitol, adonitol et salicine.

Il remarque dans ce travail qu'il existe des souches de *Pseudomonas* qui n'attaquent pas du tout les glucides.

En effet, MONIAS (1928) a décrit une espèce bactérienne qu'il a dénommée *Pseudomonas alcaligenes*, à la base d'étude de dix souches et dont les caractéristiques sont présentées ci-dessous :

Bâtonnets droits ou recourbés à gram négatif, mobiles par des flagelles *monotriches*, ne produisant pas d'indole ; donnant une réaction alcaline avec le lait, ne fermentant aucun hydrate de carbone. Il a noté, d'autre part, que la gélatine n'est pas liquéfiée par ce germe qui ne produisait pas non plus de pigment.

NYBERG (1934-1935) a signalé l'existence de bactéries à gram négatif, lophotriches, n'attaquant pas les hydrates de carbone, qu'il rattacha au genre *Pseudomonas* en leur conférant le nom de *Ps. alcaligenes*, afin qu'elles ne soient pas confondues avec *Bacillus faecalis alcaligenes* PETRUSCHKY.

HUGH et RYCHENKOW (1961) ont décrit aussi des souches de bactéries, mais monotriches, ressemblant à *Alcaligenes* par le défaut de leur action sur les glucides, sous le nom de *Ps. multophila* n. sp.

IKARI et HUGH, en 1963, ont isolé et décrit 12 souches de *Pseudomonas alcaligenes* monotriches.

Ces souches furent isolées du foie d'un porcelet, du sang d'un patient atteint de pyrexie, de l'urine, de déjections de grenouilles, de l'eau d'un aquarium contenant des tortues, ainsi que de l'eau de mares et de rivières.

Enfin, HUGH et IKARI (1964) ont proposé un néotype de *Pseudomonas alcaligenes* (MONIAS 1928) dans le but d'améliorer leur description antérieure et d'établir la définition correcte de l'espèce *Pseudomonas alcaligenes* qui serait, d'après cette définition, monotriche.

Les données bibliographiques qui sont rapportées, ainsi que les résultats d'étude de nos bactéries, nous incitent à rattacher la souche 10 A au genre *Alcaligenes*.

La souche V 2, qui est monotriche, pourrait être assimilée à *Pseudomonas*, plus précisément à *Pseudomonas alcaligenes* MONIAS, avec cependant quelques différences de détail. Les souches IV a et I a peuvent également être rattachées à la même espèce, la première étant monotriche, comportant quelques formes à 2 ou 3 flagelles, la seconde nettement lophotriche avec 2, 3 flagelles polaires ou davantage, sans présence apparente d'individus nettement monotriches.

(A suivre.)
