

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.

(Suite [1] et fin)

II. — BACTÉRIES *INCERTAE SEDIS* N'ATTAQUANT PAS LES GLUCIDES ET AYANT DES CARACTÈRES ABERRANTS

S'il nous a paru possible de rattacher une de nos souches au genre *Alcaligenes* et quelques autres au genre *Pseudomonas*, plus précisément à l'espèce *Pseudomonas alcaligenes* un certain nombre de bactéries isolées d'écrevisses malades ne fermentant et n'oxydant pas les glucides, doivent être considérées comme *Incertae sedis*.

Nous avons placé dans cette catégorie les souches C, P et M dont les caractères cultureux sont présentés dans les tableaux ci-dessous :

SOUCHE C

Isolement :

A. leptodactylus (Tchécoslovaquie).

Malades.

Bâtonnets gram —, formes grêles, 0,1 à 1,5 μ , ciliature lophotriche (2 cils).	
Bouillon ordinaire	Culture nulle.
Gélose ordinaire	Culture faible.
Pomme de terre	Culture faible, mate, blanche. Pas de modification du milieu.
Gélose à l'œuf	Lécithinase 0. Bonne culture lisse, brillante.
Gélose profonde V. F.	Aérobie stricte.
Gélose nutritive au rouge neutre	Gaz 0. Pas de modification.
Gélose-sérum et catalase	Culture moyenne, mate, blanche. Aspect granuleux. Catalase 0.
Esculine	(±) faible (1/6 supérieur du milieu).

(1) Voir *Bulletin français de Pisciculture*, n° 227, du 31 décembre 1967.

Gélatine nutritive	Pas de liquéfaction.
Mannitol. Mobilité	Mannitol 0. Mobilité 0.
Glucose. Lactose. SH ²	Lactose 0. Glucose 0. SH ² 0.
Lait tournesolé	Digestion 0. Virage 0.
Petit lait tournesolé	Virage 0.
Simmons	Citrate 0. Pas de culture.
Sérum coagulé : }	Très léger début de liquéfaction.
Sérum Loeffler „ }	
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	0.
L D C	0.
Hugh et Liefson	0.

SOUCHE M

Astacus leptodactylus (bleue)
(Tchécoslovaquie).

<i>Morphologie</i> : Petites bactéries gram —, 1 à 5 μ, ciliature monotriche.	
Bouillon ordinaire	Bonne culture homogène, ondes moirées. Dépôt s'élevant en spirale.
Gélose ordinaire	Bonne culture lisse, brillante et blanche.
Pomme de terre	Culture moyenne, blanche et brillante.
Gélose à l'œuf	Lécithinase (+), léger blanchissement en surface à la base de la pente inclinée. Culture rose orangé (48 h).
Gélose profonde V. F.	Anaérobie facultatif.
Culture nutritive au rouge neutre	Virage 0. Gaz 0.
Gélose-sérum et catalase	Bonne culture lisse, brillante, blanche. Catalase 0.
Esculine	0 (traces en 48 h).
Gélatine nutritive	0.
Mannitol. Mobilité	Mannitol 0. Mobilité +.
Glucose. Lactose. SH ²	Lactose 0. Glucose (illisible). SH ² + + +.
Lait tournesolé	Virage +. Digestion 0.
Petit lait tournesolé	Milieu bleu pâle.
Simmons	Citrate 0. Pas de culture.
Sérum coagulé	Début de liquéfaction; la culture devient rosâtre en 72 h.
Sérum Loeffler	id.
Milieu Clark Lubbs (en 72 h)	R.M. 0. A.M.C. 0 (32° - 37°).
Nitrites (en 48 h)	+ +.
Urée. Indole	Urée 0. Indole 0.
Tryptophane désaminase	0.
β galactosidase	0.
Oxydase	+
L D C	0.
Hugh et Liefson	0.

SOUCHE P

Astacus fluviatilis
(Meurthe-et-Moselle).

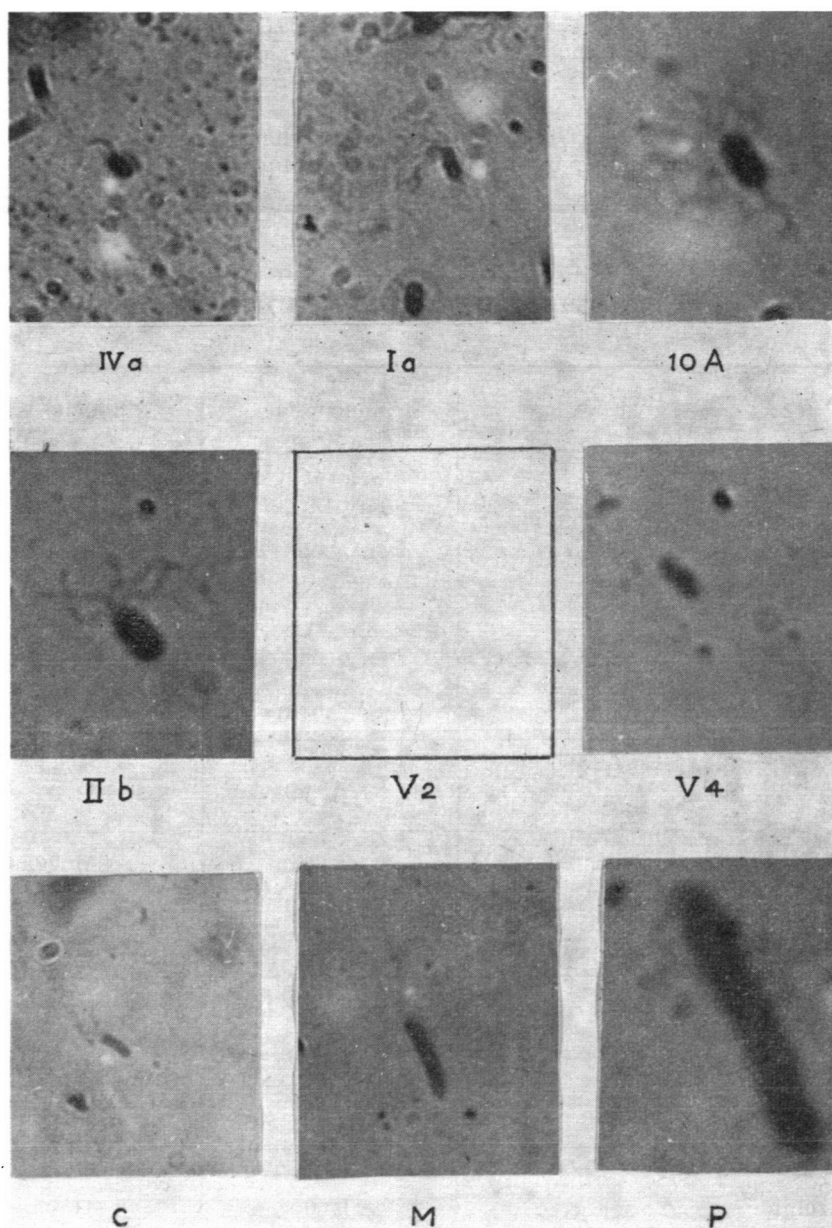
Morphologie : Petites bactéries fines et courtes gram —, 1 à 5 μ ,
ciliature monotriche.

Bouillon ordinaire	Culture moyenne. Ondes moirées.
Gélose ordinaire	Bonne culture, lisse, brillante.
Pomme de terre	Culture très faible.
Gélose à l'œuf	Lécithinase 0.
Gélose profonde V. F.	Anaérobie facultatif.
Gélose nutritive au rouge neutre	Virage 0. Gaz 0.
Gélose-sérum et catalase	Culture comme sur gélose ordinaire. Cata- lase faible.
Esculine	0.
Gélatine nutritive	0.
Mannitol. Mobilité	Mannitol 0. Mobilité ++.
Glucose. Lactose. SH ²	Illisible. Lactose 0, SH ¹ +++ (zone glu- cose envahie par SH ²).
Lait tournesolé	Virage +. Digestion 0.
Petit lait tournesolé	Couleur bleu transparent.
Simmons	Citrate 0.
Sérum coagulé	Début de liquéfaction.
Sérum Loeffler	Début de liquéfaction.
Milieu Clark Lubbs	R.M. 0. A.M.C. 0.
Nitrites	+++.
Urée. Indole	Urée 0. Indole 0.
Tryptophane désaminase	0.
β galactosidase	0.
Oxydase	+
L D C	0.
Hugh et Liefson	0.

Métabolisme des glucides.

Sucres	Souches		
	C	M	P
Glucose	0	0	0
Galactose	0	0	0
Lévilose	0	0	0
Xylose	0	0	0
Arabinose	0	0	0
Saccharose	0	0	0
Lactose	0	0	0
Maltose	0	0	0
Amidon	0	0	0

Aspect des différentes souches décrites



*Nota : Les cils très fins des bactéries de la souche V2
ne permettent pas la photographie*

Glycérine	0	0	0
Mannitol	0	0	0
Dulcitol	0	0	0

Pour la souche M :

H et L = négatif (glucose, lactose et saccharose) ; inositol, dextrine, sorbitol, raffinose, rhamnose, tréhalose, salicine, adonitol sans action au bout de 24 h. Action oxydative 48 h après : inositol \pm ; dextrine + ; sorbitol + ; raffinose + ; rhamnose + ; tréhalose + ; adnitol +.

Pour la souche P :

H et L = inositol, dextrine, sorbitol, raffinose, rhamnose, tréhalose, salicine, adonitol ne sont pas attaqués, même sous forme oxydative.

ACTION DES SULFAMIDES

	Souche M	Souche P
Amidozol	TS 42	R 0
Nalidixine	TS 54	TS 42
Adiazine	S 26	R 0
Justamil	S 26	R 0
Rufol	S 28	R 0
Furadoïne	TS 49	SM 26
Nibiol	TS 49	S 32
Sultirène	S 30	R 0
Furoxane	TS 43	SM 27
Uractyl	TS 36	FS 15
Thiazomide	R 0	R 0

TS = très sensible FS = faible sensibilité
 S = sensible R = résistante
 SM = sensibilité moyenne

Comme on peut le voir dans le premier des tableaux, la souche C est très spéciale. En effet, cette souche, qui n'agit pas sur les glucides, pousse très mal sur la gélose ordinaire, ne pousse pas du tout en bouillon. Par contre, elle pousse bien sur la gélose au jaune d'œuf, et donne une culture moyenne sur la gélose-sérum.

Elle ne pousse pas sur le milieu de Simmons, ni sur les milieux d'épreuves d'antibiotiques ou de sulfamides. Elle réduit faiblement les nitrates, ne présente pas d'oxydase. Dans l'ensemble, cette souche est très spéciale, et n'est classée comme proche d'*Alcaligenes* et de *Pseudomonas alcaligenes* qu'uniquement en tenant compte de son comportement à l'égard des glucides.

La souche P, isolée de l'*Astacus fluviatilis* provenant de Meurthe-et-Moselle, qui est mobile, présentant des cils monotriches, s'apparente à *Pseudomonas alcaligenes*.

En effet, cette souche, qui n'attaque pas les glucides, même sous forme oxydative, est caractérisée par une formation intense de SH₂, une forte réduction des nitrates, et est « citrate négative » en milieu de Simmons, ce qui l'écarte des *Pseudomonas*.

La souche M, qui n'exerce pas d'action, même oxydative, sur les hydrates de carbone, produit comme sur le milieu de Hugh et Leifson, une action oxydative tardive sur certains glucides. Par la réaction très légère de lécithinase, réduction rapide et forte des nitrates, cette souche « citrate négative productrice de SH₂ », ne trouve pas de place parmi les bactéries gram négatif ne fermentant pas les glucides et oxydase positive ; toutefois, par sa ciliature, monotriche, elle s'apparente plutôt à *Pseudomonas alcaligenes* qu'à *Alcaligenes*.

ACTION DES ANTIBIOTIQUES

	Souche P	Souche M	Souche C
Streptomycine	L 10	S 24	
Ampicilline.....	S 22	S 22	
Oxacilline	R 0	R 0	
Spiramycine (rovamycine).....	S 23	S 17	
Kitasamycine	L 15	S 15	
Auréomycine	L 15	L 13	
Terramycine	L 12	L 12	
Polymyxine	L 8	L 12	
Novobiocine	L 10	R-0	

	Souche P	Souche M	Souche C
Rifamycine S. V.	L 10	L 10	
Pénicilline	R 0	R 0	
Thiophénicol	S 30	S 25	
Bacitracine.	L 8	R 0	
Novobiocine (vulcamycine d. h.) .	R 0	L 10	
Colymycine	S 17	S 17	
Diméthoxy-pénicilline	L 10	R 0	
Staphylomycine	L 11	L 10	
D. M. T. C.	S 16	S 15	
Chloramphénicol	S 34	S 31	
Kanamycine-Kanamycine	S 26	S 22	
Erythromycine	S 27	S 19	
Néomycine	S 25	S 22	
Framycétine	S 26	L 22	
O léan domycine	L 12	L 10	
Pristinamycine (pyostacine)	L 14	L 13	
Tétracycline.	S 17	L 14	
Paranomycine (humatine)	S 25	S 21	
Fucidine			
Céphalothine			
Céphaloridine.			

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

La souche C ne pousse pas sur le milieu d'épreuve aux antibiotiques.

INFECTIONS EXPÉRIMENTALES

Les infections expérimentales des écrevisses ont été effectuées de la même manière qu'au cours de l'épreuve de l'effet pathogène des *Proteus* et *Citrobacter*.

L'injection de suspensions bactériennes dans la cavité péricardiale a provoqué la mort des écrevisses dans certains cas au bout de 24 heures (souches I a, II b et IV a) ou bien en 4-5 jours (souche C).

L'infection *per os* a donné des résultats différents de ceux obtenus par injection.

C'est ainsi que l'infection *per os* a provoqué chez les écrevisses des mortalités qui se sont échelonnées avec la souche C de 8 à 10 jours ; avec les souches II b et I a, de 20 à 26 jours, et avec la souche IV a de 15 à 23 jours.

Les écrevisses qui reçurent la souche 10 A (qui fut déterminée comme appartenant au genre *Alcaligenes*) ne mouraient pas avant 20 jours, et le plus fréquemment entre 20 et 26 jours.

Avec la souche V 2 l'injection des cultures provoque la mort rapide, généralement en 24 heures ; l'administration des suspensions *per os* les tuait au plus tôt en 11 jours, et elles survivaient parfois trois mois ou davantage.

Il en fut à peu près de même pour la souche V 4, la mort des écrevisses survenait en 24 heures par injection, et s'échelonnait de 18 à 75 jours à la suite de la contamination *per os*.

Nos souches C, M et P alcaligènes *incertae sedis* se sont avérées également pathogènes pour les écrevisses américaines par injection dans la cavité générale, et sans effet sensible à la suite de leur administration *per os*.

C'est ainsi que la souche M tuait les écrevisses par injection par la cavité générale en 24 heures, la souche P en 5 jours, et la souche C en 3-4 jours.

Per os, les souches M, P et C tuaient les écrevisses en 2 jours, 2 jours et demi et 8 jours à 1 mois respectivement.

On ne saurait pas ainsi considérer ces souches comme très pathogènes pour l'*Orconectes limosus*, utilisé dans nos expériences.

On peut dire que toutes les souches déterminées comme *Pseudomonas alcaligenes*, celles rapportées au genre *Alcaligenes* et aussi *Incertae sedis*, ne fermentant pas les glucides, se sont montrées pour ainsi dire dépourvues d'effet pathogène pour les écrevisses à la suite de leur administration *per os*, dans les conditions expérimentales, mais pathogènes par injection.

RÉSUMÉ ET CONCLUSION

Il résulte des faits qui ont été exposés dans ce travail que chez les écrevisses malades ou mourantes on peut constater la présence dans le sang de la région péricardiale de bactéries à gram négatif n'ayant aucune action, même oxydative, sur les glucides.

Parmi les bactéries isolées, une forme a été rattachée au genre *Alcaligenes* (que certains classent dans la tribu des *Salmonelleae*) et plusieurs *Pseudomonaceae* proches de l'espèce *Pseudomonas alcaligenes* MONIAS (1928).

Nous avons constaté toutefois que certaines de ces bactéries ne correspondent pas à la définition de néotype de *Pseudomonas alcaligenes*, telle qu'elle est présentée dans un travail relativement récent par HUGH et IKARI (1965).

En effet, d'après ces auteurs, *Pseudomonas alcaligenes* est muni d'un seul flagelle polaire, et n'a que tout à fait exceptionnellement deux flagelles. Dans notre cas, certaines bactéries rapportées à *Pseudomonas alcaligenes* ont été monotriches, dans d'autres cas monotriches mais pouvant avoir aussi deux ou trois cils polaires, et enfin, lophotriches avec trois, quatre cils polaires, ou davantage.

Nous avons indiqué dans une note antérieure que le sang d'écrevisse est caractérisé par une « importante teneur en sucres réducteurs » et que « cette circonstance réalise les conditions favorables pour le développement de certaines bactéries ». « La pullulation bacérienne chez l'écrevisse, particulièrement dans le sang, pourrait vraisemblablement entraîner des modifications parfois fâcheuses du métabolisme glucosidique. » Ajoutons que le fait même de la fermentation des sucres par certaines bactéries avec production de gaz ne doit pas rester sans effet sur l'organisme des écrevisses, quoique certaines bactéries productrices de gaz s'avèrent non pathogènes pour ces crustacés.

Cet effet, s'il se manifestait, rentrerait dans le cadre de l'action bactérienne indirecte modifiant et entravant le métabolisme général de l'animal infecté.

Il n'est pas ainsi à exclure que l'innocuité relative des souches bactériennes décrites est due au fait de l'absence de toute action ou d'action faible sur les glucides qui imprègnent les tissus des Astacidés.

BIBLIOGRAPHIE

- HUGH (R.) and LEIFSON (E.). — 1953 : The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of Carbohydrates by various Gram-negative bacteria. *Journ. Bacter.*, 66, 24-26.
- HUGH (R.) and RYSCHENKOW (E.). — 1961 : *Pseudomonas multophilia* an alcaligenes like species. *Journ. Gen. Microbiol.*, 26, 123-132.
- HUGH (R.) and IKARI (P.). — 1964 : The proposed neotype strain of *Pseudomonas alcaligenes*. Monias, 1928. *Int. Bull. Bact. Nomencl. and Taxon.*, vol. 14, n° 3, 103-107.
- IKARI (P.) and HUGH (R.). — 1963 : *Pseudomonas alcaligenes*, Monias, 1928, polar monotrichoux dextrose non-oxidizer. *Bact. Proc. Amer. Soc. Microbiol. Abstr. Ann. Meeting*, Cleveland, Ohio, p. 41.
- KLINGE (K.). — Differential Techniques and Methods of Isolation of *Pseudomonas*. *J. Appl. Bact.*, 23 (3), 442-462.
- LEHMANN (K. B.) and NEUMANN (R.). — 1927 : Bakteriologie II Band 1-876. *J. F. Lehmann*, München.
- MEZ (C.). — 1898 : Mikrospische Wasseranalyse, 1-632. *J. Springer*, Berlin.
- MILES (H.). — Red Leg in Tree Frogs caused by *Bacterium alkaligenes*. *J. Gener. Microbiolog.*, 1950, 3, 434.
- MONIAS (B. L.). — 1928 : Classification of *Bacterium alcaligenes pyocyaneum* and *fluorescens*. *J. Infect. Disease*, 43, 330-334.
- NYBERG (G.). — 1934-1935 : *Bacillus faecalis alcaligenes* Petruschky. *Zbl. Bakt.* (Abt. I orig.). 133, 443.
- PETRUSCHKY (J.). — 1896 : *Bacillus faecalis alcaligenes* (n. sp.). *Centralbt. Bakteriolog.*, 1/Abt. Orig., 19, 187-191.
- PRIBRAM (E.). — 1933 : Klassifikation der Schizomyceten., 1-143. *F. Deuticke*, Leipzig und Wien.
- STRECKER (J.). — 1917 : Untersuchungen über *Bacterium alcaligenes* L. und N. (*Bacillus faecalis alcaligenes* Petruschky). *Inaugural Dissertation at Universität Würzburg*.
- TOUMANOFF (C.). — Infections bactériennes chez les écrevisses. *Enterobactériacés*. Première note : Protéoses. *Bull. Fr. Pisciculture*, 1965, n° 219.
- TOUMANOFF (C.). — Infections bactériennes chez les écrevisses. *Entérobactériacés*. Deuxième note : *Citrobacter*, *Enterobacter*. *Bull. Fr. Pisciculture*, 1966, n° 221.
-