

LES VARIATIONS
DANS LA FERMENTATION DES GLUCIDES
PAR *SALMONELLA GALLINARUM* ET *SALMONELLA PULLORUM*.
LEUR INTÉRÊT DIAGNOSTIQUE.

par

ROBERT NEEL. LÉON LE MINOR et HOSSEIN TASLIMI.*

(*Institut Pasteur, Paris. Institut Razi, Iran.*)

Le comportement biochimique des germes du groupe *Salmonella gallinarum-Salmonella pullorum* a fait l'objet de très nombreuses études, pour la plupart d'ailleurs relativement anciennes.

Il en est résulté la description d'un certain nombre d'espèces, variétés ou types, sur lesquels les auteurs ne sont souvent pas d'accord en raison des critères biochimiques adoptés par les uns et rejetés par les autres. Parmi les travaux les plus récents, citons ceux de Pacheco et Rodriguès (1), Kauffmann (2), Delpy et Rastegar (3), Lucas et collaborateurs (4).

Finalement Kauffmann (5) résume la question en n'admettant l'existence que d'une seule espèce sérologique, *Salmonella gallinarum-pullorum* (1, 9, 12 : — : —), avec les deux types biochimiques classiques, *S. pullorum* et *S. gallinarum*, entre lesquels se situent un certain nombre de variantes biochimiques intermédiaires, sans qu'il soit besoin de donner à chacune d'entre elles un nom spécial.

Mais proposer une classification ou admettre l'existence de variantes biochimiques implique pour les critères retenus comme base de classification, ou l'absence de variation, ou l'existence de variations dans certaines limites bien définies.

* Ann. I. Pasteur, 87, 1954, 749-753

C'est ainsi que, si l'on retient le comportement vis-à-vis d'un glucide déterminé, la variation ne pourra porter que sur des différences d'intensité ou de rapidité de la fermentation, autrement dit il s'agira d'une variation dans le positif.

Aussi Pacheco et Rodriguès (1) et Delpy et Rastegar (3) se sont-ils attachés à montrer que :

1° si des résultats discordants, voire même opposés, avaient été obtenus par divers expérimentateurs pour des souches identiques et à des époques différentes, cette discordance ou opposition était due à l'emploi de techniques non comparables (composition du milieu de culture, indicateur de réaction).

2° la transformation d'un type en un autre n'était pas possible, justifiant ainsi l'individualité des variations proposées.

Or, nous avons observé un certain nombre de faits, relatifs notamment à l'utilisation des glucides, et qui sont en opposition avec les conclusions précédentes.

Nous n'avons pas en vue ici le pouvoir gazogène, dont la fixité est des plus discutables : production de gaz avec certains glucides et absence avec d'autres (1, 3), perte de cette fonction par conservation et réapparition au cours de repiquages (constatations personnelles), augmentation d'un pouvoir gazogène faible et tardif après passage *in vivo* (3), obtention de souches gazogènes à partir de souches non gazogènes (Smith et Ten Broek Doyle), là encore par passage *in vivo* (1, 3). Il est d'ailleurs assez paradoxal de vouloir se baser sur la production de gaz pour séparer deux variétés de *S. gallinarum* et de *S. pullorum*, alors que pour d'autres types bien individualisés sérologiquement et normalement gazogènes on a isolé des souches agazogènes, sans en faire pour cela des variétés spéciales. Nous ne citerons comme exemple que les variantes agazogènes de *Salmonella* type Dublin que nous avons eu l'occasion de rencontrer.

Nous ne voulons considérer au contraire que des variations indiscutables observées dans la fermentation de trois glucides sur lesquels repose essentiellement le diagnostic des variétés et types de *S. gallinarum-S. pullorum*, c'est-à-dire d'abord la dulcité, ensuite le maltose et le xylose. Nous y joignons aussi la mannite, à propos de laquelle, nous avons fait des observations analogues avec une des deux souches mannite-négatives que nous avons isolées dans un même foyer de typhose aviaire.

Reppelons qu'il y a quelques années, Hinshaw et ses collaborateurs (6), réétudiant 300 souches de collection de *S. pullorum* du type américain (xylose 0), qui étaient toutes à l'isolement maltose 0,

ont vu qu'un certain nombre d'entre elles, après conservation au laboratoire, donnait un pourcentage variable de subcultures fermentant plus ou moins rapidement ce glucide et que le passage *in vivo* sur dindon de 16 subcultures, provenant d'un exemplaire devenu maltose positif accélérât le processus de fermentation, à l'exception de l'une d'elles redevenue maltose négative comme la souche originelle.

Matériel et Méthode. — Nous ne mentionnons ici que les souches qui ont fait l'objet d'une étude approfondie :

Les unes ont été isolées en Iran : n° 18, 515 et 516 : *S. gallinarum* et n° 583 : *S. pullorum*.

Les autres nous ont été aimablement envoyées par le Dr Lucas, de l'Ecole d'Alfort : n° 633 : *S. pullorum* type B de cet auteur et n° 636 : *S. gallinarum* type IV de la même classification (4).

L'action sur les glucides a été recherchée sur milieu à l'eau peptonée, classiquement utilisée pour les *Enterobacteriaceae* et les *Salmonella* en particulier :

Peptone	10 g.
Chlorure de sodium	5 g.
Glucide	10 g.
Eau distillée	1 l.
Bleu de bromothymol sodique 1/500 Q. S.	
pH : 7,3 à 7,4.	

Le glucide stérilisé par filtration et l'indicateur sont ajoutés après stérilisation du milieu à 110°. L'ensemencement, après contrôle de stérilité, est pratiqué à partir d'une colonie isolée sur gélose ordinaire inclinée. Les tubes sont capuchonnés et conservés à l'étuve pendant au moins trente jours.

Seul est considéré comme positif le virage au jaune franc, la teinte bleu-vert étant considérée comme négative à l'instar des tubes restés bleus.

Après deux ans de conservation au laboratoire, la vérification des propriétés biochimiques des souches a montré que, pour chacune d'elles, un des quatre glucides énumérés plus haut, et non attaqué au moment de l'isolement, était fermenté par un certain nombre de subcultures dans un délai variable, mais toujours plus ou moins lentement. Par une série d'isollements suivis de repiquages en E. P. glucide, il a été possible d'exalter le pouvoir fermentaire apparu au cours de la conservation et d'obtenir finalement des souches glucide + 1.

Après une nouvelle période de conservation d'un an au laboratoire, les caractères biochimiques de la variante obtenue ont été à nouveau vérifiés pour contrôler la stabilité de l'action observée.

Nous n'avons pas essayé de cultiver sur milieu, où le glucide aurait été la seule source de carbone, une souche glucide négative.

Résultats. — 1° Avec les souches de collection nous avons observé les résultats suivants :

Souche 636 : dulcité 0 et xylose 0.

Nous avons obtenu deux variantes :

636/60 dulcité + 1 xylose 0
636/64 dulcité 0 xylose + 1,4

Souche 633 : maltose 0.

Elle a donné une variante :

633/38 maltose + 1.

N. B. — Signalons à ce propos que, dans la nature, on a isolé tous les intermédiaires entre les souches 0 et + (2, 4, 7).

Souche 18 : xylose 0.

Elle a donné une variante :

18/25 xylose + 4.

Souche 515 : mannite 0.

Elle a donné une variante :

515/17 mannite + 1.

Cette souche ainsi que la souche 516, isolées d'un même foyer de typhose aviaire, possédaient la propriété exceptionnelle pour une *Salmonella* de ne pas faire fermenter la mannite (la fermentation du mannitol est classiquement parallèle à celle du glucose, excepté pour *S. typhi suis*). Comme exception, on ne connaît qu'une souche de *S. enteritidis* (Badger) qui n'attaque pas la mannite et *S. banana* qui la fermente lentement [Kauffmann (5)]. Mais alors que 515 a présenté des phénomènes de variation, la souche 516 est restée mannite négative.

En résumé les constatations précédentes, ainsi que celles faites par Hinshaw et ses collaborateurs (6), peuvent être condensées dans le tableau I.

TABLEAU I.

<i>Salmonella</i>	Dulcite	Maltose	Xylose
<i>Pullorum</i> (Hinshaw et coll.) .	0	0 ↓ + R ↓	0
<i>Pullorum</i> { 636 636/60	0 ↓ + 1 ↓	+ 1,2	0
<i>Pullorum</i> { 636 636/64	0	+ 1,2	0 ↓ + 1,4 ↓
<i>Gallinarum</i> { 633 633/38	+ 1,2	0 ↓ + 1 ↓	+ 1,2
<i>Gallinarum</i> { 18 18/25	+ 1	+ 1	0 ↓ + 4 ↓
Pour mémoire : <i>gallinarum</i> 515 mannite 0 ↓ 515/28 mannite + 1 ↓			

La lecture de ce tableau montre tout de suite qu'on peut donc passer par variation de *S. pullorum* (variété américaine) à *S. gallinarum*, autrement dit d'un type :

Dulcite 0 maltose 0 xylose 0.

au type :

Dulcite + maltose + xylose +.

2° Avec une souche étudiée immédiatement après son isolement du poussin, *S. pullorum* 583, nous avons constaté les faits suivants :

Cette souche était au départ maltose-positif lentement (en vingt-six jours). En appliquant dès le premier repiquage la méthode précédente, nous avons obtenu une colonie attaquant le maltose en six jours. Puis cette propriété s'est peu à peu perdue et finalement nous n'avions plus que des subcultures n'attaquant plus le maltose.

3° Enfin, il semble intéressant d'insister aussi sur la diversité des types isolés au cours d'une même épizootie dans le même foyer: c'est ainsi que lors d'une épizootie qui décima entièrement l'élevage d'Haydarabad, comprenant plus de 3.000 têtes de volailles (jeunes et adultes), nous avons étudié en particulier quinze souches de *S. pullorum*; or, à côté de souches maltose-négatives nous avons eu des souches attaquant lentement ce glucide, une souche ne produisant pas d'H₂S, une autre attaquait rapidement le citrate...

4° Enfin, il paraît nécessaire de signaler aussi le fait que, avec un grand nombre de souches positives nous avons observé souvent des différences de un à trois jours dans la positivité: + 1 à + 3, ceci avec des glucides dont l'attaque peut être malgré tout considérée comme relativement stable: maltose, dulcité, xylose, arabinose, tandis qu'avec la sorbite principalement et le rhamnose quelquefois, des différences considérables ont été constatées: + 2 à + 10, + 8 à négatif, + 3 à + 15...

Conclusions. — Il ressort des constatations précédentes:

1° Que pour le groupe *S. gallinarum-S. pullorum* des variations considérables peuvent être observées dans les fermentations glucidiques et que l'espèce est mal définie par ses caractères biochimiques. Ceux-ci n'ont d'intérêt que s'ils sont étudiés à l'isolement d'une souche. Il faut cependant faire la réserve que l'on peut observer des variations dans certaines fermentations dès l'isolement.

2° Qu'en raison des variations précédentes et de la diversité des types isolés au cours d'une même épizootie, l'étude biochimique des germes ne peut guère servir à appuyer une enquête épidémiologique, comme c'est le cas pour de nombreuses autres salmonelles.

3° Que s'il peut être commode de conserver les deux types extrêmes *S. gallinarum* et *S. pullorum*, tous les autres types biochimiques intermédiaires décrits ne correspondent pas à une réalité, d'autant que le passage *in vivo*, comme l'a montré Hinshaw, peut aussi accélérer une fermentation comme il peut l'inactiver.

Le diagnostic de l'un ou l'autre type ne pourra parfois être posé que grâce aux caractères morphologiques des cultures (toutefois dans de nombreux types de salmonelles on rencontre des souches donnant des cultures pauvres), sérologiques (dissociation de l'antigène XII), ou à l'action des phages spécifiques.

En résumé cette instabilité dans l'action biochimique est en faveur de l'unicité de l'espèce. D'autre part, des observations de plus en plus fréquentes à l'heure actuelle montrent que volaille adulte ou

volaille jeune sont également sensibles aux deux variétés *gallinarum* et *pullorum*.

BIBLIOGRAPHIE.

1. G. Pacheco et C. Rodrigues. *Mém. Inst. Oswaldo Cruz*, 1936, 31, 591. Bibliographie.
 2. F. Kauffmann. *Zbl. Bakt.*, 1934, 132, 337.
 3. L. Delpy et R. Rastegar. *Ces Annales*, 1938, 61, 536. Bibliographie.
 4. A. Lucas, L. Andral, G. Bouley, A. Paraf et C. Quinchon. *Recueil Méd. Vét. Alfort*, 1951, 127, 547.
 5. F. Kauffmann. *Enterobacteriaceae*, 2^e éd., Copenhagen, 1954.
 6. W. Hinshaw, A. Browne et T. Taylor. *J. inf. Dis.*, 1943, 72, 197.
 7. W. Hinshaw, E. Mc Neil et T. Taylor. *Poultry Sci.*, 1944, 23, 94.
-