

ETUDE DE SOUCHES AMÉRICAINES, ASIATIQUES ET EUROPÉENNES DE MICROBES DU GROUPE *PULLORUM-GALLINARUM*

par L. DELPY et R. RASTEGAR.

La pullorose a fait son apparition en Iran au cours de 1955 à la suite de l'importation de volailles du Japon et de Russie. A cette occasion, nous avons étudié comparativement les souches isolées sur place et 15 souches typiques, d'origine étrangère, parmi lesquelles le *Bacterium sanguinarium* original de Moore. Ces dernières souches ont été mises à notre disposition par MM. Truche, de l'Institut Pasteur de Paris, le professeur Rodrigués, de l'Institut Oswaldo-Cruz, et Donatien de l'Institut Pasteur d'Alger, à qui nous adressons l'expression de notre gratitude.

Le tableau I donne les caractéristiques des souches iraniennes ou étrangères que nous étudions. Nous nous proposons de justifier, au cours de ce travail, les déterminations proposées, par anticipation, dans la troisième colonne.

I. — CONSTITUTION DU GROUPE *PULLORUM-GALLINARUM* TERMINOLOGIE.

Les travaux publiés sont nombreux, mais le plus souvent fragmentaires et parfois contradictoires. Depuis le mémoire d'Hadley Eldwin et Caldwell (1918), les auteurs restent divisés. Pour les uns, le groupe est constitué par une série de microbes possédant des caractères différentiels nets et permanents, et qui doivent être regardés sinon comme des espèces, tout au moins comme des variétés bien distinctes.

TABLEAU I. — Liste des diverses souches étudiées au laboratoire d'Hessarek.

DÉSIGNATION employée dans ce travail	PROVENANCE et désignation d'origine	DÉTERMINATION proposée
K-772	Iran: Moelle osseuse de poussins morts de maladie naturelle.	<i>S. pullorum</i> A.
H-22	Iran: Moelle osseuse de poussins infectés expérimentalement.	<i>S. pullorum</i> A.
HB-1		
HB-2		
HB-3		
Taub	Institut Pasteur de Paris: <i>pullorum</i> « Taub ».	<i>S. pullorum</i> A.
Bourgeois	Institut Pasteur de Paris: <i>pullorum</i> « Bourgeois ».	<i>S. pullorum</i> A.
Alger	Institut Pasteur d'Alger: <i>B. pullorum</i> .	<i>S. pullorum</i> A.
P-3	American type culture collection <i>pullorum</i> . 114.	<i>S. pullorum</i> A.
V. B.	Institut Pasteur de Paris: <i>pullorum</i> . V. B.	<i>S. pullorum</i> B.
Adam	Institut Pasteur de Paris: <i>pullorum</i> « Adam ».	<i>S. pullorum</i> B.
P-1	<i>pullorum</i> , souche A'16, de Rettger (1916).	<i>S. pullorum</i> B.
Gosset	Institut Pasteur de Paris: <i>pullorum</i> « Gosset ».	<i>S. intermedius</i> B.
P-14	Rijksseruminrichting Rotterdam (P ^r Reese): <i>pullorum</i> Adelshop.	<i>S. intermedius</i> B.
P-28	Hanovre (P ^r Miessner): souche H. 1.009 (Gaz +).	<i>S. intermedius</i> A.
G-27	<i>Bacterium sanguinarium</i> (souche originale de Moore)	<i>S. gallinarum</i> .
Petrot	3 souches de l'Institut de Paris: <i>B. gallinarum</i> .	<i>S. gallinarum</i> .
Bourdé		
Sauvaitre		
<p><i>Nota</i> : Nous avons laissé aux souches qui nous ont été envoyées par M. le professeur Rodrigués, les désignations : P-1, P-14, P-28, G-27, employées par Pacheco et Rodrigués dans leurs travaux, afin de faciliter la comparaison entre leurs résultats et les nôtres.</p>		

Ces microbes sont :

1^o *Bacterium gallinarum*, Klein, 1889. Synonymes principaux : *B. sanguinarium*, Moore, 1895 ; *B. typhi-gallinarum*, Pfeiler et Rhese, 1913 ; *B. typhi-gallinarum alcalifaciens*, Pfeiler, 1917 ; *Eberthella sanguinaria*, Bergey et al., 1925 ; *Salmonella gallinarum*, Bergey et al., 1934 ; *Salmonella pullorum*, Kauffmann, 1931 ; *Shigella gallinarum*.

2^o *Bacterium pullorum*, Rettger, 1909. Synonyme : *Salmonella pullorum*. Bergey et al., 1934.

Cette dernière espèce a été subdivisée en :

- a) *B. pullorum* A (gazogène). Hadley et al., 1918.
- b) *B. pullorum* B (non gazogène), Hadley et al., 1918.
- c) *B. pullorum intermedius*, Pacheco et Rodrigués, 1935.

Signalons encore les variétés : *B. gallinarum* gazogène, de Beck et Eber (1935). *B. gallinarum* Duisbourg, de Kauffmann,

et les souches « Uebergang » de Beck et Eber. Leur identité sera étudiée par la suite.

Beaucoup d'autres auteurs n'admettent que les deux espèces *pullorum* et *gallinarum*, allant parfois jusqu'à les placer dans deux genres différents (*Salmonella* et *Shigella*), mais considèrent les variétés mentionnées plus haut, comme des souches anormales, dépourvues de tout caractère permanent, sans fixité aucune.

Enfin, il est des « unicistes » qui ne reconnaissent qu'une espèce *Salmonella gallinarum*, ou (Kauffmann) *S. pullorum*. On sait qu'au Congrès Vétérinaire de Londres (1930) ce point de vue avait été défendu par Manninger, Klimmer et Haupt, tandis que Beaudette et Panisset, sans suivre entièrement Hadley et ses collaborateurs, admettaient l'existence des deux espèces.

Le Congrès de New-York ne nous a point donné de précisions nouvelles.

En France, Truche, dans ses diverses publications reconnaît les deux espèces principales. Il en est de même pour Verge, et pour Rochaix, Tapernoux et Couture. Par contre, Lesbouyries (1934) accepte les deux *pullorum* A et B et confirme leurs caractères différentiels.

Nous pouvons ranger dans la littérature française, les notes de Pacheco et Rodrigués, publiées au cours des dernières années, dans les comptes rendus de la Société de Biologie. Ces auteurs, reprenant l'ensemble des recherches déjà publiées, étudient les raisons de certaines divergences et concluent de leurs expériences que *gallinarum*, *pullorum* A, B et *intermedius* constituent des types fixes et bien distincts.

Quant à la position du groupe dans la classe des Schizomycètes, elle est encore très indécise si l'on en juge tout au moins par les noms génériques attribués aux microbes. En France, on les qualifie de *Bacterium* ou de *Bacillus* mais en prenant ces mots dans leur sens le plus large, et sans leur attribuer la valeur générique précise qu'ils ont dans la classification américaine. Récemment, cependant, Hauduroy et ses collaborateurs dans leur « Dictionnaire » adoptent la classification de Bergey, et rangent les *pullorum-gallinarum* dans le genre *Salmonella*.

À l'étranger, c'est le nom générique *Salmonella* qui est généralement employé. Certains auteurs emploient aussi *Bacterium*, au sens précis ou au sens large, et même *Bacillus*, évidemment au sens large. Certains classent *gallinarum* dans le genre *Shigella*, et *pullorum* dans le genre *Salmonella*, ce qui semble tenir pour certain que *pullorum* est toujours gazogène et que *gallinarum* ne l'est jamais.

L'intérêt que présente l'emploi de noms précis est évident : l'emploi des noms *Salmonella* ou *Bacterium*, permet de ne pas énumérer toute la série de caractères qui entrent dans la définition de ces genres. Encore, faut-il que ces définitions soient généralement admises.

Si l'on admet la valeur des classifications basées sur la structure antigénique des bactéries, et en particulier la classification adoptée par la Société internationale de microbiologie à la suite des travaux de White et de Kauffmann, *pullorum* et *gallinarum* sont des *Salmonella* du groupe D (*S. typhi*). *Pulorum* et *gallinarum* sont à vrai dire parfaitement distinctes des autres *Salmonella*, puisqu'elles ne comportent que l'antigène O, thermostable. White établit d'ailleurs pour elles le type *Meta-Salmonella* et, dans sa définition du genre, fait place à des espèces sans phase mobile pérित्रиче, et qui ne produisent pas de gaz aux dépens du glucose.

Les divers auteurs qui ont repris les travaux de White et de Kauffmann, confirment que *pullorum* et *gallinarum* sont, de par leur antigène O, du même groupe antigénique que le bacille typhique et l'*enteritidis*. Pacheco et Rodriguès (1936) constatent, qu'à ce point de vue, il n'y a pas de différence entre les cinq types du groupe.

La présence chez *pullorum* d'une fonction antigénique spéciale (Aoki, 1928) n'a pas été confirmée. Il en est de même pour l'antigène qui serait commun à *pullorum* et au paratyphique A.

Enfin, personne n'a réussi jusqu'ici à différencier, par leurs réactions antigéniques les divers représentants du groupe. Si White et la Société internationale de microbiologie reconnaissent les deux espèces *pullorum* et *gallinarum*, c'est en tenant compte des caractères biochimiques qui séparent ces deux espèces.

Ces diverses considérations, nous conduisent à adopter pour la dénomination des microbes du groupe *pullorum-gallinarum*, le nom générique *Salmonella* tel qu'il est défini par White [A system of bacteriology] (1) et la Commission des *Salmonella* de la Société internationale

(1) *Définition du genre Salmonella* : Vaste genre de bacilles Gram-négatifs et non sporulés, présentant des caractères sérologiques communs. Leurs dimensions habituelles sont 0,4 à 0,6 μ , mais ils forment parfois de courts filaments. Ils présentent, sauf quelques exceptions une phase pérित्रиче mobile sous laquelle ils se présentent normalement. Dans l'ensemble, ils possèdent les caractères tinctoriaux et morphologiques du bacille typhique. Ils ne fermentent ni le lactose, ni le saccharose ; ne coagulent pas le lait, ne liquéfient pas la gélatine et ne produisent pas d'indol. Ils attaquent régulièrement le glucose, et le plus souvent avec gaz. Toutes les espèces connues sont pathogènes pour l'homme et les animaux ou bien pour l'homme ou les animaux. (Traduit de White, in A system of Bacteriology, IV, p. 86.).

de microbiologie. Les recherches personnelles que nous allons exposer ont eu pour but de vérifier si l'étude des caractères culturaux et biochimiques confirme les résultats de l'étude de la structure antigénique, c'est-à-dire ne permet de reconnaître, avec Kauffmann, que *Salmonella pullorum*, ou si, au contraire, il existe plusieurs espèces ou variétés, ayant une structure antigénique commune ce qui serait conforme à l'opinion soutenue, en dernier lieu, par Pacheco et Rodrigués.

II. — ISOLEMENT DES SOUCHES (2).

En partant de carcasses, d'œufs et d'excréments provenant des élevages infectés, nous avons isolé plusieurs souches qui se sont révélées identiques. Elles sont représentées ici par la souche type K-772.

Avec ces souches nous avons procédé à des inoculations expérimentales et isolé une nouvelle série, comprenant entre autres H-22, HB-1, HB-2 et HB-5, qui seront étudiées dans le présent travail. Chacune de ces souches a été étudiée à plusieurs reprises, après des périodes de conservation à la glacière de quelques semaines, à plusieurs mois.

Pour les premiers isollements, en partant de matériel suspect ou infecté, nous avons eu recours aux techniques suivantes :

Carcasses: Ensemencement en bouillon peptone de la moelle osseuse (Truche), du sang du cœur, ou de la pulpe hépatique.

Œufs : Ensemencement de la substance vitelline en bouillon peptone.

Excréments : Ensemencement en bouillon peptone ou en bouillon au vert brillant.

Lorsque ces premières cultures se sont montrées positives en vingt-quatre heures nous avons différencié les *Salmonella*, des *Pasteurella* et de *B. coli*, dont la présence doit toujours être suspectée, par les épreuves résumées dans le tableau II.

TABLEAU II.

	<i>Salmonella</i>	<i>Pasteurella</i>	<i>B. coli</i>
	—	—	—
Mobilité	0	0	+
Eau de levure	+	0	+
Milieu de Cerrutti	+	0	+
Indol	0	+	+
Lait (coagulé)	0	0	+
Gélose au vert brillant	+ (24 h.).	+ (8 j.).	+ (8 j.).

(2) Nous donnons *in fine* des renseignements sur les milieux employés.

La mobilité étant souvent difficile à apprécier, en raison des mouvements de culbute actifs que présentent certaines souches de microbes « immobiles », nous avons utilisé l'ensemencement par piqûre en gélose demi-solide (Klimmer et Haupt, 1929). *B. coli* donne en vingt-quatre heures des colonies éparses dans la totalité du milieu, tandis que les germes immobiles ne poussent qu'au long de la piqûre. A côté de l'ensemencement en eau de levure, préconisé par Truche, nous pratiquons l'ensemencement dans le bouillon de Cerruti : il arrive en effet que les *Pasteurella* poussent en eau de levure, si le repiquage comporte une quantité assez importante de bouillon peptone : par ailleurs, si cette quantité est trop faible et le nombre de germes repiqués peu élevé, il arrive que les *Salmonella* ne poussent pas.

Quand il est nécessaire de pratiquer de nombreux isolements, avec la seule intention de rechercher la présence ou l'absence des *Salmonella* du groupe *pullorum*, il suffit d'ensemencer sur gélose au vert brillant, soit directement, soit après un passage en bouillon additionné de ce colorant.

La gélose au vert brillant a été utilisée par de nombreux auteurs pour l'étude des microbes des affections aviaires. Citons Stalfseth et Mallmann (1928), Thorp et Same (1928), Kerr (1950), Verge et Thiulin (1951), Pacheco et Rodrigués (1956). Il est prouvé que les solutions de vert brillant doivent être de préparation récente : Kerr, estime qu'elles ne sont plus utilisables après sept jours, Verge et Thiulin après deux ou trois jours. Nous recommandons d'utiliser des solutions préparées extemporanément.

La concentration en colorant varie selon les auteurs. Nous avons préparé des géloses additionnées de vert brillant dans les proportions suivantes : 1/100, 1/500, 1/1.000, 1/10.000, 1/50.000 et avons ensemencé dans des conditions identiques, toutes nos souches *pullorum-gallinarum*, et des souches authentiques (Institut Pasteur de Paris) de Bacille typhique, de paratyphiques A et B, de bacille du côlon, de staphylocoque doré, ainsi que des souches iraniennes de *Pasteurella*. Les cultures ont été observées quotidiennement pendant quinze jours. Le tableau III, présente les résultats obtenus. Nous ne mentionnons pas les géloses vert brillantées à 1/100, qui manquent de solidité et sont malaisément utilisables.

TABLEAU III. — Action du vert brillant sur quelques espèces microbiennes.

	PROPORTIONS DE VERT BRILLANT			
	1/500	1/1.000	1/10.000	1/50.000
<i>S. typhi</i>	0 (15 j.).	0 (15 j.).	0 (15 j.).	+ R. (24 h.).
<i>S. paratyphi</i> A.	+ (7 j.).	+ R. (36 h.).	+ R. (24 h.).	+ R. (24 h.).
<i>S. paratyphi</i> B.	+ R. (24 h.).	+ R. (24 h.).	+ R. (24 h.).	+ R. (24 h.).
<i>E. coli</i>	0 (15 j.).	0 (15 j.).	0 (15 j.).	0 (15 j.).
<i>St. aureus</i>	0 (15 j.).	0 (15 j.).	0 (15 j.).	0 (15 j.).
<i>P. borisept</i>	0 (15 j.).	0 (15 j.).	0 (15 j.).	0 (15 j.).
<i>S. pullorum</i> A et B.	+ (24 h.).	+ (24 h.).	+ (24 h.).	+ (24 h.).
<i>S. gallinarum</i> (souches France).	+ R. (72 h.).	+ R. (48 h.).	+ R. (24 h.).	+ R. (24 h.).
<i>B. sanguinarium</i> de Moore.	0 (15 j.).	0 (15 j.).	+ R. (24 h.).	+ R. (24 h.).
<i>S. intermedius</i> A.	0 (15 j.).	0 (15 j.).	+ (24 h.).	+ (24 h.).
<i>S. intermedius</i> B.	0 (15 j.).	0 (15 j.).	+ R. (24 h.).	+ R. (24 h.).

Nota : j., jour; h., heure; R., réduction du vert brillant.

Nos résultats, contrôlés à plusieurs reprises, montrent que la concentration optima est 1/10.000. Cette concentration permet en vingt-quatre heures, une prolifération nette de tous les *pullorum*, *intermedius* et *gallinarum*. Les paratyphiques A et B poussent également, dans le même espace de temps. Aucun des autres microbes ne cultive, même après quinze jours. Les concentrations à 1/500 et 1/1.000 retardent la culture du paratyphique A et de certaines souches de *gallinarum*; elles empêchent totalement la culture du *B. sanguinarium* (souche originale de Moore) et de tous les *intermedius*.

La concentration à 1/50.000 laisse pousser, en vingt-quatre heures, le bacille typhique et, d'après Verge et Thiculin, laisserait, après trois ou quatre jours, pousser certains *B. coli*. Elle offre donc moins de sécurité que la concentration de 1/10.000, que nous avons définitivement adoptée.

Nous verrons ultérieurement que l'aspect des colonies sur les géloses au vert brillant permet, dans une certaine mesure, la différenciation des divers représentants du groupe *pullorum-gallinarum*.

Signalons que Kerr (1950) a pu, sur milieu au vert brillant, isoler *S. pullorum* de carcasses putréfiées de poulets morts depuis un mois.

Les milieux différentiels de Staffseth et Mallmann (1928) et de Truche, Staub et Bauche (1954) donnent, avec plusieurs souches de *Salmonella* aviaires, des résultats difficiles à interpréter.

III.—CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES.

Nos diverses souches sont indifférenciables par l'examen microscopique des éléments. Ces *Salmonella* immobiles sont de petits bâtonnets à extrémités arrondies, de 2 à 4 μ s, présentant souvent la coloration bipolaire. Les éléments, généralement isolés, peuvent former de courtes chaînettes et, sur gélose, présentent fréquemment des formes incurvées. Dans les cultures âgées, on trouve des coccobacilles, des formes en massue et des chaînettes.

Les cultures jeunes permettent d'observer d'actifs mouvements de culbute, tout au moins dans certains cas, mais jamais de mouvements de translation.

Ces microbes sont nettement Gram négatifs.

IV. — CARACTÈRES CULTURAUX.

a) BOUILLON PEPTONE. -- On observe quelques variations dans les cultures de premier isolement, puis, après repiquage, toutes les souches se comportent de façon identique, à une exception près (P. 5).

En dix à quinze heures se produit un trouble uniforme, avec ondes soyeuses, qui atteint son maximum vers la fin du deuxième jour et, dans l'ensemble, est plus accentué lorsqu'il s'agit de *S. gallinarum*. Une seule souche, *S. pullorum* P. 5, ne trouble pas le milieu, mais donne d'emblée un sédiment granuleux. Ce phénomène, qui a été constamment observé pendant dix-huit mois, ne correspond pas à un aspect particulier sur gélose et les cultures ne présentent ni l'aspect, ni les réactions du type «Rough».

Exceptionnellement, on observe l'apparition d'une pellicule très mince, ou seulement d'une collerette. Vers la fin de la première semaine, ou plus tard, le milieu commence à s'éclaircir par sédimentation et, à partir du quinzième jour, les microbes constituent un dépôt qui, par agitation, se soulève en un nuage cohérent parsemé de grains opaques.

L'odeur des cultures n'a, en général, rien de caractéristique. Certaines souches de *S. pullorum* dégagent une odeur de poulet rôti assez agréable.

b) EAU PEPTONÉE. — Les caractères sont les mêmes qu'en bouillon peptone, mais les cultures sont plus pauvres.

c) GÉLOSE NUTRITIVE. — Sans prétendre que l'examen des cultures sur gélose suffit pour différencier les trois espèces: *pullorum*, *gallinarum*

et *intermedius*, nous pensons que l'examen des colonies fournit de très utiles indications. La plupart des auteurs conseillent l'emploi de milieux spéciaux pour accentuer les différences morphologiques de *pullorum* et de *gallinarum* (milieu de Drigalsky, de Holt-Harris et Teague, etc.). Cependant, Taylor (1916), Beck et Eber (1917), Lerche (1929), Lesbouyries (1954), ont signalé les différences d'aspect, sur gélose simple, des colonies de *pullorum* et de celles de *gallinarum*. Dans l'ensemble, nous sommes tout à fait d'accord avec ces auteurs. *S. pullorum* A., quelle que soit la souche, donne des colonies extrêmement fines, transparentes, peu adhérentes à la gélose, bombées et, pendant les premiers jours, difficiles à bien voir sous un éclairage normal. *S. pullorum* B. se présente sous le même aspect. Les colonies de *S. gallinarum* sont bien plus grandes (1 à 2 millimètres en vingt-quatre

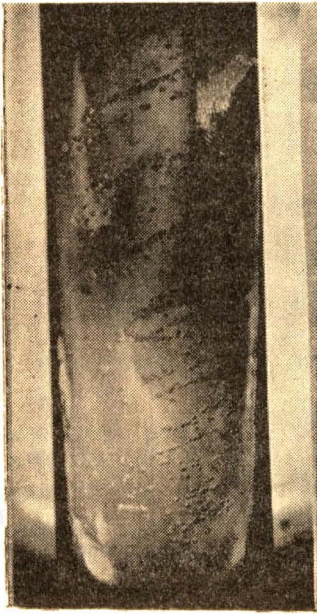


FIG. 1.

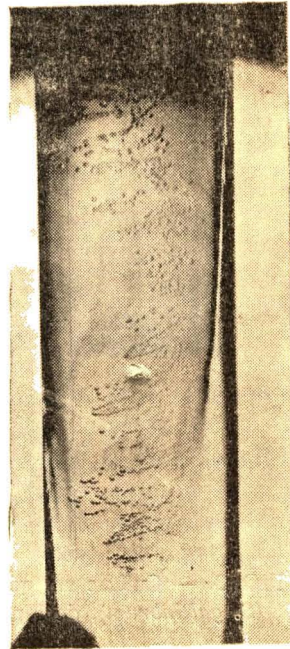


FIG. 2.

FIG. 1. — Culture sur gélose de quarante-huit heures de la souche K 772 (*S. pullorum* A.), d'Iran. Gross. : 1,6.

FIG. 2. — Culture sur gélose de quatre jours, de la souche K 772 (*S. pullorum* A.), d'Iran. Gross. : 1,6.

heures) blanc grisâtre, bien visibles. *S. intermedius* présente des colonies du type *gallinarum* (fig. 1, 2, 3).

Lorsque la culture vieillit (4-5^e jour), les colonies de *gallinarum*

deviennent en général confluentes, constituant une nappe grasse et continue. Cette nappe continue s'observe exceptionnellement avec *pullorum*. Par contre, cette espèce présente fréquemment une évolution vers le type mucoïde : on voit se former des colonies de grande taille, parfois constituées par la fusion de colonies plus petites. Ces grandes colonies, d'abord bombées et brillantes, circulaires, ne tardent pas à s'ombiliquer, en même temps qu'elles semblent « couler » vers la périphérie, où apparaît un anneau « mucoïde » à contours irréguliers, en flaque. Cette particularité a déjà été signalée à propos de *gallinarum* par Gressel (1927). Étant donné que nos souches *gallinarum* poussent sur gélose de façon exubérante, et que les colonies se fusionnent

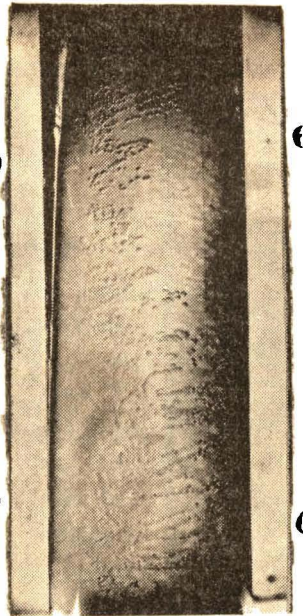


FIG. 3. — Culture sur gélose de 24 heures de la souche Petrot (*S. gallinarum*), de l'Institut Pasteur de Paris. Gross. : 1,6.

rapidement en nappe, nous avons eu moins de facilité pour observer la transformation mucoïde, si elle existe.

Sans avoir recours à des milieux particuliers, nous avons vu couramment, sur certaines cultures en gélose, des divers types, apparaître des colonies filles (colonies secondes, *papillae*). Ces colonies filles ont été observées avec d'autres microbes et décrites. Pour ce qui est des *Salmonella* aviaires, Pacheco et Rodrigués (1936), donnent une excellente photographie de colonies filles produites par la souche *intermedius* P-14. Nous avons vu se former des structures identiques sur des géloses un peu anciennes de *gallinarum*, *pullorum* et *inter-*

medius. Rappelons qu'Edwards (1952) signale que toutes ses cultures de *pullorum* donnent plus ou moins tardivement des colonies filles (fig. 4).

Par repiquage, ces colonies secondes nous ont toujours donné des colonies du type normal.



FIG. 4. — Colonies sur gélose, vieilles de trente jours de la souche H22 (*S. pullorum* A.), présence de colonies filles typiques. Gross. : 30.

Nous n'avons jamais observé l'apparition de la variante « Rough ».

d) GÉLOSE AU VERT BRILLANT. — Au cours de nos recherches sur l'utilisation du vert brillant pour l'isolement des souches, nous avons remarqué que sur les géloses additionnées de ce colorant, les caractéristiques morphologiques des colonies sont accentuées : ainsi, les colonies de *pullorum* se montrent plus fines encore que sur gélose ordinaire, tandis que celles de *gallinarum* restent aussi larges et riches.

D'autre part, *pullorum*, qui ne réduit pas le vert, présente des colonies colorées, sur fond vert, tandis qu'avec *gallinarum* et *intermedius* on assiste, dès que la culture est bien partie, à la décoloration progressive du milieu, les colonies elles-mêmes devenant grisâtres.

Enfin, si l'on se reporte au tableau III, on remarquera que sur la gélose additionnée de 1/500 de vert brillant, ou de 1/1.000, seuls les *pullorum* A et B et certains *gallinarum* peuvent pousser. Les premiers étant facilement différenciables par la taille des colonies et l'absence de réduction, on voit que la gélose au vert brillant, en même temps

qu'elle facilite l'isolement des souches. fournit des renseignements utiles sur leur identité spécifique.

e) GÉLATINE NUTRITIVE. — Sur gélatine, les colonies ont à peu près le même aspect que sur gélose.

V. — RÉACTIONS BIOCHIMIQUES.

a) INDOL. — N'est produit par aucune souche.

b) POUVOIR PROTÉOLYTIQUE. — La gélatine n'est jamais liquéfiée, soit qu'on cultive plusieurs jours à 18°, soit qu'on refroidisse le milieu après avoir cultivé quarante-huit heures à 37°.

c) LAIT ET PETIT LAIT. Le lait n'est jamais coagulé, même après un mois d'étuve, et tous les auteurs sont d'accord sur ce point. C'est là, croyons-nous la seule indication vraiment utile que fournisse ce milieu. Pour le reste, nous pensons avec Manninger, Pacheco et Rodrigués, et d'autres, que la composition du lait est trop inconstante pour que ce milieu puisse être employé avec profit à la différenciation de microbes aussi voisins que les *Salmonella*, aviaires.

Sous ces réserves, nous avons observé, d'une façon générale, que *S. gallinarum* et *S. Pullorum* donnent le double virage, acide-alkali. Il y a cependant de nombreuses nuances. Par exemple, la souche de Moore (*gallinarum* G-27) détermine d'abord une faible acidité (peut-être aux dépens du glucose) puis une alcalinisation de surface, tandis qu'au fond du tube le milieu reste rose. Les autres souches de *gallinarum* donnent une alcalinisation seconde plus précoce, et intéressant toute la hauteur du milieu. Manninger (1928) discutant les résultats de divers auteurs exprime l'opinion que l'alcalinisation est fonction de l'activité végétative des souches, ce qui nous paraît très vraisemblable, puisque cette alcalinisation provient sans doute de l'attaque des protéines. Pacheco et Rodrigués ont observé, avec les mêmes souches des résultats très variables. Toutes leurs souches déterminent l'acidification, parfois suivie du virage alcalin. Leur *intermedius* P-7, alcalinise d'emblée.

On sait que Truche (1954) attribue à *S. gallinarum* la propriété de faire apparaître d'emblée un voile bleu en surface, or, entre nos mains les souches Petrot, Bourdè et Sauvatre déterminent le double virage.

En petit lait (préparé au laboratoire), seuls les *pullorum* nous ont

donné des résultats constants: ils acidifient rapidement (premier-deuxième jour) et le virage alcalin n'a pas été observé. En résumé, et malgré l'avis contraire de plusieurs bactériologues dont l'opinion mérite la plus grande attention, nous pensons que le lait et le petit lait (y compris le milieu de Petruschky) donnent des indications qui peuvent être faussées par diverses circonstances indépendantes de l'espèce microbienne.

d) PRODUCTION D'HYDROGÈNE SULFURÉ. — Ici encore, la littérature nous montre de nombreuses divergences. Truche, constate que *gallinarum* noircit la gélose au plomb plus activement que *pullorum* qui parfois même serait sans action. Rochaix, Tapernoux et Couture (1935) obtiennent le noircissement avec 2 souches de *pullorum* sur 4. Vaccaro (1932), étudie 5 souches de *pullorum* qui ne noircissent pas. Klimmer et Haupt (1927), voient un noircissement plus actif avec *pullorum*. Pacheco et Rodrigués (1936), écrivent que le pouvoir sulfuri-gène est fonction du milieu employé, et le prouvent en passant leurs souches sur 7 milieux différents: leurs résultats montrent que chaque type du groupe, se comporte toujours de la même façon dans le même milieu, mais que si on change de milieu les résultats peuvent être inversés.

Nous avons repris partiellement leurs expériences, et avons constaté:

1^o Que dans la gélose au sous-acétate de plomb, *pullorum*, *gallinarum* et *intermedius*, déterminent un noircissement net, mais plus ou moins rapide selon les souches. Une souche de *pullorum* A Iranien (HB-3), n'a d'abord donné aucun noircissement, même après un mois d'étuve à 37^o, mais reprise six mois plus tard, cette souche a noirci lentement la gélose .

2^o Qu'en milieu de Bailey-Lacey ensemencé par piqûre le long de la paroi du tube toutes les souches, sauf les *intermedius* (non gazogènes) déterminent un noircissement net.

Par conséquent, le milieu de Bailey-Lacey, peut servir à différencier avec certitude *l'intermedius* non gazogène, des autres types du groupe. Les différences de souche à souche sont bien moins importantes que dans la gélose au plomb.

e) ACTION SUR LE ROUGE NEUTRE. — D'une façon générale, les bactéries « gazogènes » sont également capables de rendre le rouge neutre fluorescent. Ainsi, *S. paratyphi* B gazogène fait apparaître la fluorescence dans les milieux au rouge neutre, tandis que *S. typhi* non gazogène ne modifie pas ces milieux. En ce qui concerne *S. pullorum* et *S. gallinarum*, la relation précédente a été confirmée par Beck et

Èber (1929). D'autre part, Cilli (1952). note que *S. gallinarum* n'altère pas le rouge neutre.

Si certains auteurs considèrent que l'épreuve du rouge neutre permet de différencier *S. Pullorum* de *S. gallinarum*, ce ne peut être qu'en admettant que *S. pullorum* est toujours gazogène et que toutes les souches non gazogènes sont «par définition» des *gallinarum*. Nous sommes loin de partager cette opinion, et nous considérons que l'épreuve du rouge neutre ne fait que confirmer les recherches relatives à l'existence du pouvoir gazogène. Dire qu'une souche rend fluorescents les milieux au rouge neutre, c'est dire qu'elle est gazogène. Comme il est indispensable, pour la détermination des microbes du groupe, de rechercher le pouvoir fermentatif de ces microbes sur les sucres, l'épreuve du rouge neutre fait double emploi. Notons cependant que lorsque des souches sont très faiblement gazogènes (comme notre K-772), la production de gaz peut se manifester plus lentement que l'altération du rouge neutre.

Pacheco et Rodríguez (1955). se sont livrés à d'intéressantes recherches sur les conditions d'apparition de la fluorescence, en fonction du milieu. Ils concluent :

a) Que le phénomène n'est pas la conséquence de l'attaque du glucose par les microbes, mais résulte d'une action directe sur le colorant .

b) Que le glucose a plutôt une action empêchante.

c) Que l'anaérobiose a un rôle nettement favorisant.

Ayant adopté les techniques conseillées par ces auteurs, nous n'avons pas obtenu exactement les mêmes résultats, et nous avons repris l'étude de la question avec quelque détail.

Une cause de malentendus nous semble devoir résulter de la désignation des milieux employés, par un nom d'auteur. En ce qui concerne le rouge neutre, on parle couramment du milieu de Rothberger, mais le contexte prouve que ce milieu est actuellement préparé selon des formules assez différentes. Le milieu original (Rothberger, 1898 et 1899) est, sauf erreur de notre part, une gélose nutritive, de composition non précisée, additionnée d'une solution saturée de rouge neutre à raison de III à IV gouttes par 10 cent. cubes.

Il n'est pas question d'addition de sucres dans des proportions déterminées mais il est évident que le milieu étant à base de macération de viande, il en contient toujours une certaine quantité. Par conséquent, les modifications du milieu original de Rothberger, celles de Savage ou de Shaeffler, par exemple qui sont caractérisées par

l'addition de glucose, ne diffèrent pas essentiellement du milieu original comme le texte de certains travaux pourrait le laisser supposer.

En fait, toutes les recherches relatives à l'altération fluorescente du rouge neutre ont été faites en milieux renfermant une quantité plus ou moins grande de sucres (5): Pacheco et Rodrigués sont à notre connaissance les premiers, à signaler que l'altération du rouge neutre est totalement indépendante de l'action du microbe sur le glucose, et que la présence de ce sucre est plutôt nuisible. Pour vérifier ces conclusions nous avons préparé les milieux suivants :

A. *Bouillon peptone avec rouge neutre Merck en solution à 1 p. 100 et :*

Gélose, 8 p. 1.000	1
Sous vaseline	2
Gélose, 8 p. 1.000 et glucose, 1 p. 1.000	3
Gélose, 8 p. 1.000 et glucose, 1 p. 100	4

B. *Eau peptonée avec rouge neutre Merck en solution à 1 p. 100 et :*

pas d'autre substance	5
pas d'autre substance, mais sous vaseline.	6
Gélose, 8 p. 1.000	7
Gélose, 8 p. 1.000 et maltose, 1 p. 100	8
Gélose, 8 p. 1.000 et dextrine, 1 p. 100	9
Gélose, 8 p. 1.000 et glucose, 1 p. 100	10

Notre milieu 1. est le milieu original de Rothberger, le milieu 3. est une formule fréquemment utilisée (Institut Pasteur de Paris), le milieu 4 est le Rothberger-Shaeffler, le milieu 6 est le milieu B de Pacheco et Rodrigués (1935), le milieu 8 est le milieu A de Pacheco et Rodrigués (1935), les milieux 2, 5, 7, 9 et 10 sont formulés par nous.

Les conclusions générales de nos expériences (répétées à plusieurs reprises) sont que toutes les souches gazogènes déterminent la fluorescence des milieux 1, 2, 3, 4, 8 et 10. Le phénomène est plus net et plus rapide dans les milieux sous vaseline. Les milieux sans bouillon et sans sucres, ainsi que ceux qui sont additionnés de dextrine ne deviennent pas fluorescents.

Peu satisfaits de cette discordance entre nos résultats et ceux de Pacheco et Rodrigués, nous avons repris les cultures avec d'autres rouges neutres (Microcolor, R. A. L.). Les résultats n'ont pas varié.

(3) Nous n'avons pas pu avoir connaissance des travaux originax de Roचाix et Duffourt (1910) portant sur le mécanisme de la réaction au rouge neutre.

Nous avons alors préparé une série de tubes de milieu 6 (particulièrement recommandé par Pacheco et Rodrigués). Les tubes 1 à 20 furent ensemencés avec un *pullorum* gazogène, les tubes 21 à 30, ne furent pas ensemencés, et tous furent portés à l'étuve. Le dixième jour, *aucun des tubes ne présentait la moindre fluorescence*. Nous avons alors ajouté quelques gouttes d'une solution stérile de glucose aux tubes 1 à 10 et 21 à 25, sans rien ajouter aux autres. Deux jours plus tard, une fluorescence nette apparaissait dans les tubes 1 à 10, tandis que les autres n'étaient pas modifiés.

L'expérience, recommencée avec d'autres souches, a montré que toutes les souches gazogènes se comportent de façon identique, tandis que les souches non gazogènes de *pullorum*, *gallinarum* et *intermedius* n'altèrent jamais le colorant, si ce n'est par suite des modifications du pH.

Pour rechercher l'action empêchante du glucose, nous l'avons ajouté au bouillon peptone, en proportions croissantes. Avec 7 p. 100 de glucose on arrive à ralentir l'apparition de la fluorescence, mais non à la supprimer.

En résumé, nous sommes d'accord avec Pacheco et Rodrigués, sur le rôle favorisant de l'anaérobiose. Nous constatons aussi que l'altération du rouge neutre est indépendante de la fermentation du glucose ou du maltose puisque le *gallinarum* qui fermente le maltose ne produit pas la fluorescence, et que *pullorum* rend fluorescents les milieux au maltose bien qu'il n'attaque pas ce sucre. Cependant, la présence de glucose ou de maltose dans les milieux nous est apparue indispensable. Le fait que l'augmentation de la proportion de glucose ralentit la fluorescence, semble montrer que ce sucre n'agit pas par ses propriétés réductrices.

Les moyens dont nous disposons ne nous ont pas permis d'aller plus avant dans l'étude de cette question.

f) ACTION SUR LES HYDRATES DE CARBONE. — L'étude des fermentations sucrées présente une grande importance pour la détermination des *Salmonella* aviaires. On sait que Smith et Ten Broeck (1915) ont pu différencier *S. gallinarum* de *S. pullorum* par la différence de leur action sur le maltose. Ces auteurs avaient déjà constaté des «variations» du pouvoir gazogène, mais c'est, croyons-nous, Rettger et Koser (1917), qui montrèrent les premiers l'importance de la fonction gazogène, pour la différenciation des microbes du groupe. Ils confirment également le travail de Smith et Ten Broeck, en ce qui concerne la fermentation du maltose par *gallinarum*.

En 1918, Hadley, Elkins et Caldwell, publient leur important mémoire et montrent que l'absence de pouvoir gazogène ne suffit pas à caractériser *gallinarum* : il y a en effet des *pullorum A*, gazogènes, et des *pullorum B*, non gazogènes. D'après les auteurs, *pullorum A* ne serait pathogène que pour les poussins, tandis que B le serait pour les poussins et les poules. Hadley et ses collaborateurs, considéraient naturellement que leurs types présentaient des caractères constants et fixes.

Pour ne prendre que des travaux récents, Rochaix, Tapernoux et Couture (1935), écrivent que les « fermentations sucrées sont sujettes à des variations souvent importantes ». Cernaianu (1934) au contraire possède des souches isolées depuis cinq ans qui gardent constamment cette propriété de produire ou non du gaz sur le même milieu avec le même sucre. Enfin, Pacheco et Rodrigués, non seulement confirment les travaux de Hadley et al., mais reconnaissent une troisième espèce (ou type) non gazogène, qu'ils nomment *intermedius*.

En ce qui concerne l'attaque de certains sucres, il n'est pas douteux que les différences entre les résultats obtenus, s'expliquent souvent par des différences de technique. Par exemple, si Spray et Doyle (1921), puis Hendrickson (1927) ont pu déclarer que *pullorum* peut fermenter le maltose, dans les milieux à base de sérum de cheval, c'est que le sérum de cheval renferme une maltase capable de dissocier le maltose en glucose. Ce phénomène déjà observé par Ten Broeck (1920) à l'occasion d'études sur le bacille dysentérique, est étudié à nouveau en ce qui concerne le *gallinarum*, par Pacheco et Rodrigués (1936).

En ce qui nous concerne, nous avons pu observer des « variations » indiscutables dans l'action de nos souches sur les sucres. Mais ces variations sont quantitatives, consistant en des différences d'intensité ou de rapidité dans le pouvoir fermentatif ou le pouvoir gazogène. Ce sont en somme des variations dans le positif. Nous n'avons pas pu constater qu'une souche gazogène cessât de l'être, ni qu'une souche attaquât un jour le maltose, et fût sans action trois mois plus tard.

On sait que Smith et Ten Broeck (1916), Doyle (1921), ont observé la transformation d'une souche non gazogène, en souche gazogène, après un passage *in vivo*, et la persistance du pouvoir gazogène ainsi acquis. L'observation suivante nous paraît, à ce sujet, intéressante :

OBSERVATION. Notre souche K-772, fut isolée d'un poussin mort de maladie naturelle. Étudiée d'après la technique courante, et observée pendant une dizaine de jours, elle ne se montra pas gazogène. Après avoir infecté avec cette souche, de jeunes poussins, nous isolâmes des carcasses, nos souches H et HB (qui, par conséquent ne sont autres que la souche K-772, passée *in vivo*). A notre grande surprise, elles se montrèrent nettement gazogènes. La souche K-772, fut alors reprise, cultivée en introduisant dans les milieux des éprouvettes à gaz, de Durham, et observée pendant un mois à 37°.

Le quatorzième jour, la production de gaz commença dans le xylose, et se poursuivit dans le glucose et le mannose (seizième jour), l'arabinose (vingt-troisième jour) et enfin le galactose (vingt-sixième jour). Le pouvoir gazogène était donc certain mais se manifestait lentement. Cette souche K-772 a été communiquée à trois laboratoires étrangers, spécialisés dans l'étude des microbes aviaires. L'un d'eux la détermina *pullorum A* (gazogène), l'autre *pullorum B* (non gazogène), et, grâce aux explications qui précèdent, ceci est parfaitement explicable. Le troisième laboratoire ne s'est pas prononcé.

TABLEAU IV. -- Action sur

SOUCHES		ARABINOSE		XYLOSE		RHAMNOSE		GLUCOSE		LEVULOSE		GALACTOSE		MANNOSE	
		A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G
<i>Pullorum</i> gazogène	A. K772.	+	23	3	14			+	16	+	0	+	26		
	HB1.	+	4	+	2			+	+	+	3	+	2		
	HB2.	+	2	+	2			+	2	+	3	+	2		
	HB3.	+	2	+	2	+	4	+	2	2	5	+	2	+	0
	H 22.	+	2	+	+			+	+	+	4	+	+		
	P 3 ..	+	5	+	1	+	0	+	3	+	0	+	3	+	0
	Alger.	2	0	3	16	+	0	+	30	3	16	+	16	+	0
	Taub. Bourg.	+	6 2	2 +	2 2	3	0	+	2 +	4 +	0 2	+	6 3	+	0
<i>Pullorum</i> non gazogènes	B. P1 ..	+	0	+	0	+	0	+	0	2	0	+	0	+	0
	Adam.	+	0	+	R			+	0	+	0	+	0		
	V. B. .	+	0	5	0			+	0	+	0	+	0		
<i>Gallinarum</i>	Petrot.	+	0	+	0			3	0	+	0	+	0		
	Bourdé.	+	0	+	0	6	0	+	0	+	0	+	0	+	0
	S. . .	+	0	3	0			+	0	+	0	+	0		
	G27.	+	0	+	0	7	0	+	0	+	0	+	0	+	0
<i>Intermedius</i>	B. P 14.	+	0	0	0	7	0	+	0	+	0	+	0	+	0
	Gosset	+	0	0	0			+	0	+	0	+	0		
A. P 28	+	2	0	0	8	0	+	0	+	5	9	2	+	2	

Signification des signes employés: +, signifie réaction positive dans les vingt-quatre heures; 0, combien de jours. la réaction s'est produite; R, Veut dire réduction; A, veut dire acide; G, veut dire gaz.

Un autre exemple est fourni par la souche P.28. Cette souche nous a été très aimablement envoyée par M. le professeur Pacheco, qui l'avait reçue en 1930 du professeur Miessner, de Hanovre. Elle appartient, comme nous l'avons déjà dit au type que Beck et Eber ont appelé *gallinarum gazogène*.

D'après Pacheco et Rodrigués, cette souche ne donne le gaz qu'aux dépens du dulcitol, alcool qui est fermenté sans gaz par les divers *gallinarum* et *intermedius*. Or, entre nos mains, la souche P-28 a donné une bulle de gaz (parfaitement visible avec le tube de Durham), après quarante-huit heures, dans l'arabinose, le galactose, le mannose, le maltose, le dulcitol, et le mannitol. Le gaz est apparu le quatrième jour dans l'amidon, le cinquième dans le lévulose, et le huitième dans le sorbitol. De tous ces sucres, le galactose se distingue par une production de gaz plus abondante.

Une autre souche, qui nous a été envoyée par M. Donatien, de l'Institut Pasteur d'Alger, est aussi très faiblement gazogène : la première bulle n'apparaît pas avant le quinzième jour, en xylose, lévulose, et galactose. Ce n'est que le trentième jour que le gaz est visible en mannitol et glucose. Il est fort possible (nous ne l'avons pas recherché) qu'après passage *in vivo*, cette souche devienne fortement gazogène.

les hydrates de carbone.

MALTOSE		SACCHAROSE		LACTOSE		RAFFINOSE		AMIDON		DEXTRINE	INULINE	GLYCÉROL		DULCITOL		MANNITOL		SORBITOL		MANNITOL	ERYTHRITOL	INOSITOL	SALICINE
A	G	A	G	A	G	A	G	A	G			A	G	A	G	A	G	A	G				
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	0	0	0	+	16			0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19	0	0	0	+	2			0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	+	2						
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	0	0	0	+	2	2	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	0	0	0	+	3	2	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	+	3	3	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15	0	0	0	+	30	2	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	+	2	3	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	0	+	2	2	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	+	0	2	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0			0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	+	0			0	0	0	0
+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	5	0	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	5	0	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	7	6	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	9	0	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	5	0	+	0	+	0	6	0	0	0	0	0
19	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	10	0	+	0	+	0						
+	2	0	0	0	0	4	+	0	0	0	0	5	0	+	2	+	2	8	8	0	0	0	0

signifie que la réaction n'a pas été constatée même après un mois; les chiffres indiquent après

Ces différences dans l'intensité ou la rapidité d'une fonction méritent certainement d'être signalées, mais n'ont pas d'intérêt pour la détermination des souches. Une souche est gazogène ou ne l'est pas. Il est très possible qu'une souche qui ne donne qu'une bulle de gaz dans un certain sucre, en quinze jours, évolue de manière à donner dans le même sucre une forte quantité de gaz en quarante-huit heures: mais nous n'avons pas observé, malgré des expériences maintes fois répétées, qu'une souche non gazogène, un *gallinarum* par exemple, donne une seule bulle de gaz, après des passages *in vivo* ou *in vitro*, ou en utilisant des milieux différents.

En ce qui concerne la fermentation proprement dite, qui se traduit par une modification du pH, les seules « variations » observées sont encore d'ordre quantitatif. Il est, à notre avis, indispensable d'utiliser comme indicateur le bleu de bromothymol, préconisé par divers auteurs, et, notamment par Cernaianu (1932). Le passage du bleu pH = 7.6, au vert, pH = 6 se fait par l'intermédiaire de teintes faciles à apprécier, par comparaison avec un témoin, sans que le développement de la culture gêne la lecture. Il n'en est pas de même avec la teinture de tournesol dont le virage est beaucoup moins franc pour de faibles variations de pH. Le bleu de bromothymol est utilisé dans le milieu de Staffseth et Mallman, ainsi que dans la gélose à l'amidon de Truche. Staub et Bauche. Lesbouyries (1934) emploie le bromo-crésol. En résumé, si l'on adopte une technique assez précise, il est possible d'éviter d'importantes causes d'erreur. L'utilisation de tubes de Durham, l'emploi du bleu de bromothymol au lieu de la teinture de tournesol, et l'observation prolongée des cultures douteuses, nous paraissent très recommandables.

Le tableau IV, résume les résultats obtenus en cultivant nos diverses souches à plusieurs reprises, pendant une période de dix-huit mois. Chaque chiffre représente une moyenne, mais les variations observées pour une même souche avec un même sucre sont très faibles.

S. pullorum se distingue de *S. gallinarum* et de *S. intermedius*, parce qu'il n'attaque ni l'amidon, ni le maltose, ni le dulcitol. *S. intermedius* se distingue de *S. gallinarum* parce qu'il fermente le sorbitol et ne fermente pas le xylose. La souche P. 28, doit, comme le pensent Pacheco et Rodrigués, être considérée comme un *intermedius*, et non comme un *gallinarum*, puisqu'elle ne fermente ni xylose ni sorbitol.

La mise en évidence du pouvoir gazogène, permet de reconnaître dans les espèces *intermedius* et *pullorum* deux variétés: A, gazogène et B, non gazogène. Seul *gallinarum* ne se montre jamais gazogène.

Nos résultats sont dans l'ensemble comparables à ceux de Pacheco

et Rodrigués : il existe cependant une discordance. Les souches P-1, P-3, P-14, G-27, P-28, qui, entre les mains de nos savants collègues acidifient transitoirement l'inuline, se sont montrées sans action sur ce sucre au cours de nos expériences. Nous avons repris nos souches à

	PULL A	PULL B	INT ^s A	INT ^s B	GALL
ARABINOSE	■	▤	▨	▨	▨
XYLOSE	■	▤	▨	▨	▨
RHAMNOSE	▤	▤	▨	▨	▨
GLUCOSE	▤	▤	▨	▨	▨
LEVULOSE	▤	▤	▨	▨	▨
GALACTOSE	▤	▤	▨	▨	▨
MANNOSE	▤	▤	▨	▨	▨
MALTOSE	■	▤	▨	▨	▨
SACCHAROSE					
LACTOSE					
RAFFINNOSE					
AMIDON	■		▨	▨	▨
DEXTRINE					
INULINE					
GLYCEROL	▤	▤	▨	▨	▨
DULCITOL	■	▤	▨	▨	▨
MANNITOL	▤	▤	▨	▨	▨
SORBITOL	▤	▤	▨	▨	
ADONITOL					
ERYTHRITOL					
INOSITOL					
SALICINE					



TABLEAU V.

plusieurs semaines d'intervalle, et avec des inulines d'origine différente. Si, quand on emploie comme indicateur la teinture de tournesol, la réaction peut paraître « douteuse », elle est très nettement négative avec le bleu de bromothymol.

Ce sucre est d'ailleurs assez rarement utilisé pour l'étude du groupe et ne présente pas d'intérêt pour la détermination des types : chez Pacheco et Rodrigués, il est attaqué par toutes les souches et chez nous il ne l'est par aucune. Il s'agit très probablement d'une différence dans la qualité des inulines employées.

Divers auteurs (Rettger et Koser, 1917) signalent que la dextrine est fermentée par *S. gallinarum*. Dans nos expériences, et dans celles de Pacheco et Rodrigués, elle n'a jamais été attaquée.

En résumé, nous estimons que les cultures en milieux additionnés d'hydrates de carbone fournissent un moyen simple et fidèle pour différencier les trois espèces de *Salmonella* aviaires ainsi que leurs variétés gazogènes. La clé déterminative suivante pourra être utilisée :

**Clé pour la détermination des *Salmonella* aviaires
d'après leur action sur certains hydrates de carbone.**

- | | |
|--|--------------------------|
| 1. L' <u>amidon</u> , le <u>maltose</u> et la <u>dulcite</u> sont fermentés | 2 |
| L' <u>amidon</u> , le <u>maltose</u> et la <u>dulcite</u> ne sont pas fermentés | 4 |
| 2. Le <u>xylose</u> est fermenté, le sorbitol ne l'est pas | <i>S. gallinarum</i> . |
| Le sorbitol est fermenté le <u>xylose</u> ne l'est pas | 3 |
| 3. L' <u>amidon</u> , le <u>maltose</u> et la <u>dulcite</u> sont fermentés avec
production de gaz | <i>S. intermedius</i> A. |
| L' <u>amidon</u> , le <u>maltose</u> et la <u>dulcite</u> sont fermentés sans
production de gaz | <i>S. intermedius</i> B. |
| 4. Le <u>xylose</u> , le <u>glucose</u> , le <u>galactose</u> et le <u>mannitol</u> sont
fermentés avec production de gaz | <i>S. pullorum</i> A. |
| Ces sucres sont fermentés sans production de gaz | <i>S. pullorum</i> B. |

Le tableau V. met en évidence l'action de chaque type sur les divers hydrates de carbone. Un rectangle noir marque les sucres que nous considérons comme les plus importants, et qui, à la rigueur, permettent à eux seuls la détermination. Ces sucres (xylose, maltose, amidon et dulcitol) sont soulignés dans la clé ci-dessus. Il est évident par exemple qu'il suffit de constater la production de gaz aux dépens d'un seul sucre pour être assuré qu'il s'agit d'une variété A.

Nous avons cherché à déterminer, avec cette clé les diverses souches étudiées par 32 auteurs étrangers ou français, en nous basant sur les réactions fermentatives qu'ils indiquent. Dans beaucoup de cas, toute détermination est impossible, parce que l'action sur des sucres importants n'est pas donnée ou est indiquée par + ou —. Mais, dans beaucoup d'autres cas, on arrive à une détermination précise. Par exemple, Lesbouyries (1934) donne l'action sur 14 hydrates de carbone

de souches qu'il détermine *gallinarum*, *pullorum A* et *pullorum B*. Son *gallinarum* fermente le maltose et la dulcite, mais ne fermente pas le xylose. Il n'y a pas production de gaz. Il est donc très probable qu'il s'agit d'un *intermedius B*. Par contre, pour ses *pullorum A et B*, nous arrivons à la même détermination, bien que pour plusieurs sucres, l'auteur indique: fermentation ou rien.

La création du type *intermedius* ne constitue pas une complication mais apporte beaucoup de facilité dans le classement des souches. L'insuffisance des deux espèces *pullorum* et *gallinarum* se trouve d'ailleurs démontrée dans un ouvrage récent, qui introduit dans la littérature française la classification de Bergey. Les auteurs se voient obligés de classer comme *gallinarum* des souches qui ne fermentent pas le dulcitol, et comme *pullorum* des souches qui ne fermentent pas le xylose. D'autre part (tableau I), nous lisons que la production de gaz aux dépens du glucose permet de différencier *pullorum* de *gallinarum*, et, dans le même tableau il est indiqué que la production de gaz par *pullorum* en milieux glucosés, est inconstante.

Ces contradictions, qui diminuent la valeur d'un tableau déterminatif eussent été évitées, si l'auteur avait reconnu la variété B de *pullorum*, et les deux *intermedius*.

g) ACTION SUR LE SEL DE SEIGNETTE.

Pacheco et Rodrigués (1956) ont obtenu de bons et constants résultats avec le milieu de Jordan et Hamon (1928). Ce milieu est à base de tartrate double de sodium et d'ammonium (sel de Seignette, sel de la Rochelle). Rodrigués (1951) l'a modifié par addition à chaque tube d'une couche de vaseline.

Nous avons utilisé le sel de Seignette, avec et sans vaseline, et en prenant comme indicateur le bleu de bromothymol (la teinture de tournesol nous a donné ici des résultats particulièrement mauvais). *pullorum A et B*, et *intermedius A et B* ne font pas virer l'indicateur, avec ou sans vaseline. *Gallinarum* donne en vingt-quatre-quarante-huit heures un virage acide très net. Si le milieu n'est pas couvert de vaseline on observe le double virage, et la réaction alcaline est persistante. Dans le cas contraire, le milieu reste acide.

Pacheco et Rodrigués remarquent que la souche P-28 est sans action sur le sel de Seignette, ce qui la sépare des *gallinarum*. On a vu d'autre part que l'action sur le sorbitol et le xylose rapprochent cette souche d'*intermedius*. Pour ces raisons, nous la considérons, avec les auteurs brésiliens comme un *intermedius* gazogène, ou *intermedius A*.

Le tableau récapitulatif VI représente schématiquement les réactions caractéristiques de chacun des cinq types.

Renseignements sur la préparation des milieux utilisés.

BOUILLON PEPTONE. — Notre bouillon est à base de peptone liquide préparée selon la technique de Legroux et Ramon (1933).

Le bouillon proprement dit est constitué par :

Macération de viande de bœuf (1.000 cent. cubes pour 1.000 grammes),	
en cent. cubes	500
Peptone liquide, en cent. cubes.	500

Ajuster au pH voulu.

MILIEU DE CERRUTI (*Rev. gén. méd. vét.*, 1931 p. 366). bouillon peptone additionné de 40 grammes de NaCl par litre.

GÉLOSE MI-SOLIDE POUR VÉRIFIER LA MOBILITÉ. — Klimmer et Haupt utilisent le bouillon gélosé à 1 p. 1.000. Nous préférons le bouillon gélosé à 3 p. 1.000, employé par Pacheco et Rodrigués.

La préparation de la gélose demi-solide de Hichten est donnée par Mulsow (1925), *J. inf. dis.*, 36., 419.

MILIEUX AUX HYDRATES DE CARBONE.

a) *Eau peptonée* :

Eau distillée	1.000
Peptone Merck ou Chapoteaut	50
NaCl.	5

Ajuster à pH : 7,4. Munir chaque tube d'une petite éprouvette renversée (tube de Durham).

b) *Solutions d'hydrates de carbone*. — Nous conservons en ampoules scellées les solutions stérilisées par filtration ou tyndallisation. Au moment de l'emploi, on ajoute à chaque tube d'eau peptonée assez de solution pour obtenir une proportion de sucre de 1 p. 100.

c) *Indicateur*. — Nous employons le bleu de bromothymol, en solution dans l'alcool

à 96° (0,4 p. 1'000). On ajoute 3 cent. cubes de cette solution à chaque 100 cent. cubes de bouillon, au moment de l'emploi.



























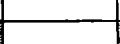

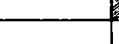


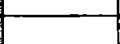
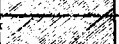
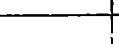
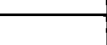

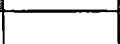



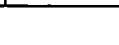
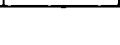



	PULL A	PULL B	INT ^s A	INT ^s B	GALL
XYLOSE					
MALTOSE					
AMIDON					
DULCITOL					
SORBITOL					
SEIGNETTE					
GAZ					
FLUORESC					
REDUCT ^{IV} .B					



TABLEAU VI.

MILIEU DE BAILEY-LACEY (*Journ. Bacter.*, 1927, 13, p. 185). — pour la préparation, assez compliquée, de ce milieu, se référer au travail original. C'est une gélose nutritive lactosée et glucosée, additionnée d'acétate de plomb et de rouge de phénol.

CONCLUSIONS.

1° Les agents de la typhose aviaire et de la diarrhée blanche des poussins (pullorose) peuvent être classés dans le genre *Salmonella* Lignières, 1900, non seulement en raison de leurs réactions sérologiques mais encore parce qu'ils présentent tous les caractères du genre, tel tout au moins, qu'il est défini par Bruce White, et la Société internationale de microbiologie.

2° Après avoir étudié comparativement pendant dix-huit mois des souches iraniennes et des souches étrangères de collection, et en nous reportant aux travaux publiés antérieurement au sujet de certaines de ces souches, nous n'avons observé que des variations négligeables de leurs caractères cultureux et de leurs réactions biochimiques. Nous estimons que s'il n'existe qu'une espèce « sérologique », *S. pullorum*, (Kauffmann), la constitution d'espèces et de variétés, basées sur les

caractères culturaux (Hadley et al. 1918) est entièrement justifiée. Nos recherches confirment, à ce point de vue, les conclusions récentes de Pacheco et Rodrigués, et nous reconnaissons les types suivants : *S. gallinarum*, *S. pullorum A*, *S. pullorum B*, *S. intermedius A*, *S. intermedius B*. Les souches isolées des poussins en Iran, présentent tous les caractères de *S. pullorum A*.

3^o L'emploi de gélose au vert brillant et d'eau peptonée au xylose, à la dulcité, au maltose et à l'amidon, permet en partant de carcasses ou d'excréments, d'isoler et de déterminer exactement les cinq types énumérés ci-dessus.

4^o La production d'hydrogène sulfuré, l'altération du rouge neutre, la fermentation du sel de Seignette ainsi que l'action sur le lait et le petit lait sont étudiées, mais n'ont qu'une importance secondaire.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BECK et EBER. *Arch. f. Wissensch. u. Prakt. Tierheilk.*, 1927, p. 56.
- [2] BECK et EBER. *Zeitschr. f. Infekt. Krank.*, 35, 1929, p. 76.
- [3] CELLI. *Bol. Inst. Sierot. Milanese*, 5, (2), p. 359.
- [4] a) CERNAIANU. *Bulletin off. Int. Epiz.*, 8, 1934, p. 241 ; b) CERNAIANU. et POPOVICI. *C. R. Soc. Biol.*, 150, 1930, p. 84.
- [5] Congrès Vétérinaire de Londres, 1930.
- [6] DOYLE. *Purd University Dep. Agr. Ext. Leaf.*, 153, 1931.
- [7] EDWARDS (P. R.). *J. of the Am. Vet. Med. Ass.*, 33, 1932, p. 891.
- [8] GRESSEL. *Deutsche Tierarztl. Woch.*, 1927, p. 267.
- [9] HADLEY, ELKINS et CALDWELL. *Rhode Island. Ag. Exp. Sta. Bull.*, 174, 1918.
- [10] HENDRICKSON (J. M.) *J. of the Am. Vet. Med. Ass.*, 70, 1927, p. 629.
- [11] KLIMMER et HAUPT. *Cent. f. Bakt. O.*, 105, 1927, p. 99.
- [12] KERR. *J. comp. Path. and Therap.*, 43, 1930, p. 77.
- [13] LERCHE. *Ztschr. f. Infek. der Haust.*, 55, 1929, p. 139.
- [14] LESBOUYRIES. *Bull. Acad. Vét. France*, 7, 1934, p. 272.
- [15] MALLMAN (W. L.), THORP (Jr. F.) et SAMES (M.) *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 73, 1928, p. 825.
- [16] MANNINGER. *Zeit. f. Infek. Krank. Haust.*, 32, 1928, p. 265.
- [17] PACHECO et RODRIGUÉS. *C. R. Soc. Biol.*, 118, 1935, p. 905; *C. R. Soc. Biol.*, 118, 1935, p. 1019; *C. R. Soc. Biol.*, 119, 1935, p. 888; *C. R. Soc. Biol.*, 121, 1936, p. 590; *C. R. Soc. Biol.*, 123, 1936, p. 715; *Memoriase do Inst. Oswaldo Cruz.*, 31, 1936, fasc. 3.

- [18] RETTGER (L. F.) et KOSER (S. A.). *J. of Med. Res.*, **35** 1917, p. 443.
- [19] ROCHAIX (A.) et COUTURE (E.). *C. R. Soc. Biol.*, **114**, 1933, p. 647.
- [20] ROCHAIX, TAPERNOUX et COUTURE. *Bull. Soc. Sci. Vét. Lyon*, **36**, 1933, p. 297.
- [21] RODRIGUÉS (C.). *Arch. do Inst. Biol.*, **4**, 1931, p. 17.
- [22] ROTHBERGER. *Cent. f. Bakt.*, **24**, 1898, p. 513-518.
- [23] SMITH et TEN BROECK (C.). *J. Med. Res.*, **31**, 1915, p. 547.
- [24] SPRAY et DOYLE. *J. of Inf. Dis.*, **28**, 1921, p. 47.
- [25] STAFSETH et MALLMAN. *Poult Sci.*, nov. 1928.
- [26] TAYLOR (N. J.). *J. of the Am. Vet. Med. Ass.*, **49**, 1916, p. 35.
- [27] TRUCHE, STAUB et BAUCHE. *Acad. Vét.*, **7**, 1934, p. 268.
- [28] TRUCHE. *Traité de microbiologie*, **2** 1934, p. 385.
- [29] VACCARO (A.) *C. R. Soc. Biol.*, **110**, 1932, p. 629.
- [30] VERGE et THIEULIN. *C. R. Soc. Biol.*, **106**, 1931, p. 521.
-