Académie royale des Sciences d'Outre-Mer

CLASSE DES SCIENCES NATURELLES ET MÉDICALES

Mémoires in-8°. Nouvelle série. Tome XII, fasc. 4. Koninklijke Academie voor Overzeese Wetenschappen

KLASSE VOOR NATUUR- EN GENEESKUNDIGE WETENSCHAPPEN

Verhandelingen in-8°. Nieuwe reeks. Boek XII, aflev. 4.

Contribution à la connaissance des Entérobactéries du groupe Providence basée sur l'étude de 200 souches isolées au Kivu

PAR

G. VAN ROS

Ancien Médecin-Directeur de Laboratoire (Bukavu)



Rue de Livourne, 80A, BRUXELLES 5 Livornostraat, 80A, BRUSSEL 5

1961

PRIX: F 75



Académie royale des Sciences d'Outre-Mer

CLASSE DES SCIENCES NATURELLES ET MÉDICALES

Mémoires in-8°. Nouvelle série. Tome XI, fasc. 4.

Koninklijke Academie voor Overzeese Wetenschappen

KLASSE VOOR NATUUR- EN GENEESKUNDIGE WETENSCHAPPEN

Verhandelingen in-8°. Nieuwe reeks. Boek XI, aflev. 4.

LA DENSITÉ DE LA POPULATION DANS LE BAS-FLEUVE ET LE MAYUMBE

par

G. FORTEMS

ERRATA

- p. 97 Ajouter au tableau concernant Boma, le Secteur Assolongo:

Assolongo	Kingalo	63,8	37,2	43,7
	Malela	10,9	10,4	8,9
	Sandi	21.6	21.6	21.6

- In fine. Carte de densité de population par groupements.
- 1º Titre : lire : Carte de densité de population rurale par groupements.
- 2º Légende : à compléter

11111	Frontière
	Limite de territoire
	Limite de secteur
	Limite de groupement

- In fine. Carte de répartition de la population.

Légende à compléter :

0	•
1. 1-1-1-1-1	Limite de densité de population rurale
2	Limite d'extension orientale des sables néogènes
3. 0 0 0 0 0 0	Limite d'extension méridionale de la forêt du Ma- vumbe
4. III III III III III	Limite d'extension orientale des Savanes édaphiques
5. ———	Isohyète

Contribution à la connaissance des Entérobactéries du groupe Providence basée sur l'étude de 200 souches isolées au Kivu

PAR

G. VAN ROS

Ancien Médecin-Directeur de Laboratoire (Bukavu)

Mémoire présenté à la Séance du 19 novembre 1960.

Rapporteurs: MM. A. Dubois et J. Jadin.

Contribution à la connaissance des Entérobactéries du groupe *Providence* basée sur l'étude de 200 souches isolées au Kivu

I. Introduction

Le groupe des *Providence* s'est imposé à notre attention à l'occasion des nombreuses coprocultures effectuées au Laboratoire médical provincial du Kivu (1877 coprocultures en 1959). La fréquence élevée des isolements d'Entérobactéries appartenant à ce groupe était frappante, notamment à partir de selles d'aspect pathologique desquelles aucun autre germe réputé pathogène n'était isolé et dont l'examen parasitologique ne montrait rien de particulier.

D'autre part une publication seulement a, à ce jour, été consacrée aux *Providence* du Congo : il s'agit d'une note par VAN OYE et SCHOETTER [61]* traitant de souches appartenant à ce groupe, isolées dans l'Ituri.

Il a alors été décidé de rechercher de la manière la plus complète possible les *Providence* se trouvant dans les échantillons soumis pour culture au laboratoire de Bukavu et d'étudier un nombre suffisant de ces souches pour arriver à connaître de façon satisfaisante la fréquence des différents types et leurs particularités.

Durant l'année 1959, 224 isolements de *Providence* ont été obtenus; une étude, la plus complète possible, a été effectuée des réactions biochimiques de 200 de ces souches et de leur classification, ainsi que de la sérologie, du pouvoir pathogène et de la sensibilité aux antibiotiques d'un grand nombre d'entre elles.

II. DÉFINITION DU GROUPE PROVIDENCE

En 1943, Stuart, Wheeler, Rustigian et Zimmerman [56] décrivaient une bactérie répondant à la définition de la famille des *Enterobacteriaceae* dont ils avaient isolé 23 souches dans la

(*) Les chiffres entre [] renvoient à la bibliographie in fine.

ville américaine de Providence, capitale de l'État de Rhode Island. Ils dénommèrent provisoirement ce microbe Anaerogenic paracolon 29911.

Des germes analogues furent étudiés la même année par Sachs [48] qui les classa parmi les *Shigellae*, les désignant comme des souches mannitol-négatives des types B 81 et B 105.

En 1945, Bergey [2] classa des bactéries similaires sous le nom de *Bacterium wakefield* et les considéra comme des variétés de *Shigella flexneri* ne fermentant pas le mannitol.

La même année Maclennan également désigna des bactéries analogues sous le nom de Shigella type P 25.

En 1947, EWING ET GRARATTI [19], étudiant les *Shigellae* du bassin méditerranéen, isolèrent plusieurs souches identiques à celles de Sachs et analogues au *Paracolon 29911* de STUART et collaborateurs.

Kauffmann [28] en 1951 proposa pour tous les germes analogues au paracolon de Stuart le nom de groupe Providence et érigea ce groupe en genre Providencia en 1953 [29].

En 1954 paraît une étude du groupe par EWING, TANNER et DENNARD [20] qui demeure fondamentale et dont les données sont reprises dans les manuels de Kauffmann [30] et d'EDWARDS et EWING [15]. Se basant sur les caractères de 611 souches provenant de toutes les régions des États-Unis et de nombreux pays étrangers, ainsi que sur ceux des souches décrites par STUART, ils étudient les milieux d'isolement, la fréquence et les caractères biochimiques du groupe. Ils y distinguent 31 types biochimiques divisés en 2 grands groupes et 125 types sérologiques résultant de la combinaison de 56 groupes antigéniques 0 avec 28 antigènes flagellaires et 2 antigènes capsulaires.

En 1954 également, SINGER et BAR-CHAY [53] avancent des arguments en faveur de l'inclusion du groupe *Providence* parmi les *Proteus*, mettant en lumière l'absence de différence fondamentale entre ce groupe et *Proteus rettgeri* et cela bien que les *Providence* soient dépourvus d'uréase.

Ces arguments sont repris et largement étendus par BUTTIAUX et collaborateurs [6] qui étudient de façon minutieuse les souches isolées par eux dans le Nord de la France. S'appuyant sur des tests biochimiques récents, ils confirment de façon convaincante l'opi-

nion de SINGER et BAR-CHAY et proposent pour le groupe le nom de *Proteus stuartii*.

Shaw et Clarke [51] justifient toutefois, par des raisons de priorité, une autre dénomination, celle de *Proteus inconstans*, Ornstein ayant donné en 1921 le nom de *Bacillus inconstans* à une bactérie identifiée *a posteriori* comme étant un *Providence*. Cette dénomination est acceptée par la dernière édition du manuel de Bergey [3] qui donne aux souches appartenant au groupe *Providence* le nom de *Proteus inconstans* (Ornstein, 1921; Shaw and Clarke, 1955).

La question de la taxonomie du groupe Providence a été ensuite discutée par plusieurs auteurs en relation avec la classification des Proteus et Ewing [18], étudiant les principales propositions faites, propose un schéma de compromis où une tribu des Proteae est subdivisée en genre Proteus et Morganella, les Providence étant inclus comme espèce Morganella inconstans à côté des Morganella morganii et Morganella rettgeri.

En 1958, le Sous-Comité des Entérobactériacées du Comité de Nomenclature de l'Association Internationale des Sociétés de Microbiologie a présenté au VII^e Congrès international de Microbiologie un rapport publié dans l'International Bulletin of Bacteriological Nomenclature and Taxonomy [27] proposant une définition du groupe. Ce dernier est défini ainsi:

« Le groupe *Providence* consiste en bactéries mobiles se conformant à la définition de la famille des *Entérobactériacées* et ayant les caractéristiques suivantes :

```
Gaz à partir du glucose : variable;
Lactose : O;
Sucrose : variable;
Mannitol : variable;
Dulcitol : O;
Salicine : O;
Adonitol : variable;
Inositol : variable;
Indol : +;
Rouge de méthyle : +;
Voges-Proskauer : O;
Citrate d'ammonium : +;
Hydrogène sulfuré : O;
Uréase : O;
Liquéfaction de la gélatine : O;
```

6 CONTRIBUTION À LA CONNAISSANCE DES ENTÉROBACTÉRIES

- Croissance en milieu au KCN:+;
- Désaminase de la phénylalanine : +;
- Malonate de sodium : O.

Le rapport poursuit :

« Les souches du groupe peuvent être réparties en deux biogroupes principaux, chacun d'entre eux pouvant être divisé en un certain nombre de biotypes (Ewing, Tanner et Dennard, 1954). Les biogroupes peuvent être distingués sur la base suivante :

	Biogroupe I	Biogroupe	П
Gaz à partir du glucose :	+	0	
Action sur l'adonitol:	+	0	
Action sur l'inositol:	0	+	

Il est de plus recommandé que le groupe *Providence* soit maintenu en tant qu'entité séparée jusqu'à ce qu'un accord international soit obtenu en ce qui concerne la nomenclature et la taxonomie des groupes *Proteus* et *Providence*.

Notons enfin que le Sous-Comité reconnaissait à la date de parution du rapport 62 groupes sérologiques 0 dans le groupe *Providence*, 30 antigènes H et 156 sérotypes, soit 28 sérotypes de plus que ceux décrits en 1954 par EWING et collaborateurs [20].

III. MILIEUX DE CULTURE ET D'ENRICHISSEMENT FAVORABLES AUX PROVIDENCE — ASPECT DES COLONIES.

1º Techniques utilisées.

La grande majorité des 200 souches étudiées ici provient de coprocultures de routine. Ces dernières ont été effectuées de la manière suivante : chaque selle fit l'objet d'un ensemencement direct sur milieux Eosine-methylene blue agar (EMBA) et Salmonella-Shigella agar (SS) coulés en boîtes de Pétri, ainsi que dans deux milieux d'enrichissement; le Selenite F broth suivant Leifson et le Tetrathionate broth de la firme Difco auquel était ajouté 1 pour 100.000 de vert brillant comme le conseillent Edwards et Ewing [15], le vert brillant favorisant les Salmonella autres que S. typhi.

A partir de chacun de ces milieux d'enrichissement, des ensemencements étaient effectués sur des boîtes de SS-agar et de Bismuth Sulfite agar suivant WILSON-BLAIR. Le but principal de l'emploi de ce dernier milieu, en général utilisé dans le but d'isoler Salmonella typhi, était d'en comparer l'efficacité avec celle du SS-agar en ce qui concerne l'isolement des Providence; EWING et collaborateurs [20] considèrent en effet le milieu au bismuth sulfite comme favorable à la croissance de ces bactéries.

2º Valeur des milieux d'enrichissement.

Sur les 200 souches étudiées ici, 180 furent isolées d'échantillons traités par l'ensemble des techniques décrites ci-dessus. Le tableau I indique la répartition des isolements obtenus par ensemencements directs et à partir des deux milieux d'enrichissement; la très nette supériorité du milieu au Sélénite F sur celui au tétrathionate-vert brillant et sur l'ensemencement direct pour l'isolement des Providence y apparaît immédiatement. On peut d'ailleurs déduire des données du tableau que ces bactéries ont été obtenues 39 fois à partir de l'ensemencement direct, 58 fois à partir du tétrathionate-vert brillant et 135 fois à partir du Sélénite F broth.

Tableau I.

Efficacité des milieux d'enrichissement

Nombre de souches isolées	Isolements par ense- mencement direct	Isolements à partir du té- trathionate- vert brillant	Isolements à partir du Sélénite F
.94	0	0	+
29	.0	+	0
18	0	+	-+
15	+	0	+
13	+	0	0
8	+	+	+
3	+	+	0
180			· -

3º Valeur des milieux d'isolement.

Dans le but de vérifier si les *Providence* se développent bien sur *Bismuth sulfite agar* (EWING et coll. [20]), tous les milieux d'enrichissement ont été ensemencés à la fois sur ce milieu et sur *SSagar*. Sur 138 isolements de *Providence* obtenus, 29 seulement

l'ont été sur Bismuth sulfite et dans la plupart des cas concommitamment avec un isolement sur SS. Par contre, 109 isolements ont été obtenus sur SS seul, sans isolement sur Bismuth sulfite. La supériorité sur ce dernier du milieu SS apparaît donc incontestable; un facteur dû à l'expérimentateur pouvait certes être intervenu, car les colonies de Providence sont plus facilement reconnaissables sur SS que sur Bismuth sulfite, mais ce fait ne pourrait seul expliquer la très forte différence du nombre des isolements sur les deux milieux, d'autant plus que dans le cas présent les Providence y étaient spécialement recherchés.

4º Aspect des colonies.

Sur gélose ordinaire, les colonies de 24 heures sont jaunâtres, rondes, convexes, humides et luisantes, à bords nets et de consistance butyrique. Les plus grandes sont légèrement centrées de beige ou de marron. La variation S-R est assez rare; les colonies rough sont plates, sèches et à bords irréguliers; cette variation ne se produit en général qu'après un certain temps d'entretien sur milieux artificiels.

Il n'a pas été observé de phénomène de swarming chez nos souches ensemencées sur gélose. Cette propriété a pourtant été signalée (BUTTIAUX, FRESNOY et MORIAMEZ [6]), et serait inconstante pour une même souche ensemencée simultanément sur plusieurs boîtes d'agar (BROOKE, [4]). Ce phénomène, qui rapproche les *Providence* des *Proteus*, est, quand il existe, plus discret que chez ces derniers.

Nous avons parfois rencontré sur une même boîte des colonies d'opacités très différentes. Cet aspect a déjà été signalé par EWING et collaborateurs [20], qui l'ont attribué à une variation KO (apparition d'antigènes capsulaires thermolabiles).

Sur Bismuth Sulfite Agar, l'aspect des colonies est peu caractéristique; les plus petites sont claires et légèrement centrées de vert-olive; en grandissant, elles se centrent progressivement de noir, tout en gardant les bords translucides. Après quelques jours elles deviennent complètement noires avec reflets métalliques.

Sur *Desoxycholate-citrate agar* les colonies sont rondes, convexes, d'un jaune blanchâtre. Les plus grandes sont centrées de brun tirant sur l'orange. Cet aspect est assez caractéristique.

L'aspect des colonies est toutefois nettement plus caractéristi-

que sur SS-agar. Les colonies smooth sont convexes, rondes, blanchâtres, de consistance butyrique et à périphérie plus translucide que le centre. Après 24 heures, les plus grandes sont nettement centrées de beige et ce phénomène s'accentue et s'étend à de nouvelles colonies si l'incubation est prolongée ; il se produit encore plus rapidement si les boîtes sont laissées à la température du laboratoire et après quelques jours la coloration est pour la plupart des souches si marquée qu'on a l'impression qu'il s'agit de la production d'un pigment. Il s'ensuit que l'isolement des Providence, déjà aisé après 24 heures d'incubation à 37°, est encore facilité si les boîtes sont laissées pendant 24 heures supplémentaires à la température ordinaire. Seuls les Proteus morganii et rettgeri, à l'exclusion de toute autre Entérobactérie, peuvent donner après 24 heures sur SS un aspect analogue. Le centrage des colonies d'Aerobacter et de Klebsiella notamment est sur ce milieu d'un brun-orange assez différent et la morphologie générale des colonies est d'ailleurs différente.

Un caractère intéressant quant au diagnostic des Providence, apparaît également sur un autre milieu extrêmement courant, le Kligler's iron agar (ou le même milieu additionné de sucrose, le Triple sugar iron agar). Comme les Providence ne produisent pas d'hydrogène sulfuré, les tubes contenant ce milieu et ensemencés d'une souche de ces bactéries, montrent après incubation un virage au jaune du culot (fermentation du glucose) sans virage de la portion inclinée (non fermentation du lactose-saccharose). Or, nous avons constaté qu'ainsi ensemencée d'un Providence (ou d'un Proteus morganii ou rettgeri), la zone supérieure prend toujours une teinte d'un rouge-brun très caractéristique et que ne donne aucune autre Entérobactérie. Ce phénomène présente un intérêt diagnostic certain, notamment pour éviter la confusion avec les Shigellae (rappelons en effet qu'initialement des souches de Providence peu ou pas mobiles avaient été confondues avec des Shigella).

Ce phénomène de brunissement est si constant qu'une souche ensemencée sur Tsia et sur milieu à l'urée (pour faire la distinction avec les *Proteus morganii* et *rettgeri*) peut sur ce seul aspect être supposée appartenir au groupe *Providence*. Les vérifications ultérieures de telles suppositions nous ont toujours montré que celles-ci étaient exactes.

Cette teinte particulière donnée aux milieux de KLIGLER ou TSIA n'a pas été signalée jusqu'à présent à notre connaissance. C'est ainsi qu'Edwards et Ewing [45] notent que sur TSIA les réactions dues à ces bactéries simulent celles des Shigellae (sauf production éventuelle d'un peu de gaz dans le culot). Une observation de Namiora et Sarazari [38] peut toutefois être rapprochée de la nôtre. Ces auteurs signalent que si on additionne le milieu de Hajna de citrate de fer ammoniacal comme indicateur de la production d'hydrogène sulfuré, la partie supérieure du milieu prend une teinte brunâtre absolument spécifique de la tribu des Proteae, tribu dans laquelle ces auteurs rangent les Proteus et les Providence. Or le milieu de Hajna ainsi modifié est très analogue au milieu de Kligler.

4º Odeur des Providence.

Sur milieux de KLIGLER ou TSIA la grande majorité des souches de *Providence* appartenant au groupe biochimique I suivant EWING présentent une odeur marquée, assez fade, mais non désagréable, nettement aromatique ou fruitée. Cette odeur combinée à l'aspect brunâtre spécial décrit ci-dessus oriente rapidement le diagnostic. Beaucoup plus rarement certaines souches du groupe I ont une odeur désagréable ou sont quasi inodores. Par contre, toutes les souches du groupe II avaient une odeur désagréable, apparentée à celle de certains *Proteus morganii* ou *rettgeri*.

IV. PROPRIÉTÉS BIOCHIMIQUES DES PROVIDENCE.

1º Utilisation des sucres, alcools et glucosides.

L'action sur 14 de ces substances des 200 souches étudiées ici a été vérifiée. Les réactions ont été effectuées en eau peptonée à pH 7,4 additionnée de 0,5 % de la substance testée et de bleu de bromothymol comme indicateur, la température d'incubation étant 37° C. L'observation a été effectuée journellement pendant 30 jours.

PENTOSES

Le *d-xylose* et le *l-arabinose* n'ont jamais été attaqués. Le *l-rham-nose* a été fermenté en 24 heures par une seule souche sans production de gaz.

HEXOSE

Le d-glucose fut toujours fermenté en 24 heures; 86,5 % des souches ont donné du gaz. La production de gaz est toujours peu abondante et il est apparu évident qu'on ne peut tenir une souche pour anaérogène sans répéter les tests: certaines souches donnent en effet du gaz en 24 heures dans certains tubes et pas dans d'autres et, de plus, il arrive fréquemment qu'une souche apparemment anaérogène après 24 heures, montre une petite bulle de gaz dans le tube de Durham après 24 heures supplémentaires d'incubation. A défaut de ces précautions, une notable proportion des souches seront faussement notées comme anaérogènes et il nous paraît possible que ce fait soit à la base des fortes différences existant entre les fréquences des souches anaérogènes rapportées par les divers auteurs.

DISACCHARIDES

Le lactose n'est jamais fermenté par les Providence.

Le sucrose (saccharose) fut fermenté par toutes les souches. Une seule a attaqué cette substance en 24 heures sans production de gaz. Les 199 autres ont acidifié le milieu après une période allant de 3 à 10 jours (la plupart, soit 69,5 %, après 4 ou 5 jours).

Le *tréhalose* a été utilisé par 5 % des souches en 24 heures et sans production de gaz. Les 190 autres souches n'avaient pas attaqué ce disaccharide après 30 jours.

Le maltose n'a été attaqué en 24 heures par aucune souche; 24 % des souches ont acidifié complètement le milieu tardivement (en général après 8 à 14 jours). De plus une acidification nette s'est produite dans 9 % des cas sans virage complet; celle-ci a soit persisté jusqu'au 30e jour, soit disparu avant ce délai, probablement par alcalinisation suite à la décomposition de la peptone du milieu. Buttiaux, Fresnoy et Moriamez [6] ont en effet montré que les Providence alcalinisent de manière marquée les milieux peptonés, particulièrement à 37°, température à laquelle le pH peut atteindre 8,7 vers le dixième jour; ils remarquent d'ailleurs que ce phénomène peut être cause de « caméléonage » dans les milieux sucrés.

La capacité d'attaquer le maltose que possédaient au total 33 % des souches, se perd progressivement lors des repiquages

sur milieux artificiels : le virage devient de plus en plus tardif et la propriété finit par se perdre complètement. Nous n'avons pu reproduire ce phénomène avec d'autres substances fermentescibles.

ALCOOLS

L'adonitol a été attaqué en 24 heures par 95,5 % des souches, avec production de gaz dans 83,5 % des cas ; cette propriété joue un grand rôle dans la classification des souches.

La production de gaz est en général faible et les remarques faites à ce sujet en ce qui concerne le glucose, sont également valables pour l'adonitol. Les souches aérogènes à partir du glucose le sont également à partir de l'adonitol; nous n'avons trouvé qu'une seule exception à cette règle et la publication d'EWING et collaborateurs [20] ne signale également qu'une souche de ce type.

Sept souches d'autre part étaient incapables d'attaquer l'adonitol et une seule l'a fait tardivement (en 8 jours).

Le d-mannitol n'est en général pas attaqué; 3,5 % des souches l'ont décomposé en 24 heures sans gaz et 1,5 % l'ont fait tardivement (après 4 à 6 jours).

Le d-sorbitol également n'est en général pas attaqué : 4 % des souches l'ont fait après un certain délai (9 à 23 jours).

Le dulcitol n'a jamais été utilisé.

L'inositol enfin a été attaqué en 24 heures par 11 souches; les autres souches, soit 94,5 %, ne l'ont pas attaqué en 30 jours.

GLUCOSIDE

La salicine a été attaquée par 3 souches en 24 heures sans production de gaz.

Il est à noter que le Sous-Comité des Entérobactéries dont la définition du groupe *Providence* est donnée plus haut considère que la salicine n'est pas utilisée par les bactéries du groupe; le Sous-Comité accepte pourtant la subdivision en types biochimiques proposée par EWING, TANNER et DENNARD [20]; or cette classification inclut trois types utilisant la salicine en 24 heures. D'ailleurs 1 % des souches de Buttiaux et collaborateurs [6] utilisent également la salicine, de même que 3 souches de SINGER et BAR-CHAY [53] sur 74.

Le tableau II résume toutes les données ci-dessus.

Tableau II. — Réactions de fermentation des sucres, alcools et glucoside par 200 souches de Providence.

		A (¹)	AG (²)	(A) (B)	(V) (4)	(6) (9)
Pentoses	d-xylose	0	0	0		200 (400 6/)
	l-arabinose	0		· c	> <	200 (100 %)
	l-rhamnose	1 (0.5 %)	· ·		>	200 (100 %)
Hexose	d-glucose	27 (13.5 %)	173 (86 5 0/)	0	0	
DISACCHARIDES	lactose	(0/ 5(:) 0	(0/ 6'00) 0/1	0 0	-	0
	sucrose	1 (0.5 %)	o •	100 /00 5 9/)	o 0	200 (100 %)
	tréhalose	10 (5.0/)		(0/ 0'66) 661	0	0
	20000000	(% c) or		-	0	190 (95,0 %)
	maltose	0	0	48 (24,0 %)	18 (9.0 %)	134 (67.0%)
ALCOOLS	adonitol	21 (10,5 %)	171 (85,5 %)	1 (0.5 %)	0	7 (35.9/)
	d-mannitol	7 (3,5 %)	0	3 (15%)	· c	(0/ (.,0)
	d-sorbitol	0	0	(/0 0/7) &	o c	
	divloito!	c	· ((o/ o/+) o	=	
	durence.	3	0	-	0	
· ·	Inositoi	(2,5 %)	0	0	0	189 (94.5 %)
GLUCOSIDE	salicine	3 (1,5 %)	0	0	0	197 (98,5 %)

(4) A: substance attaquée après 24 heures d'incubation à 37° C sans production de gaz.
(2) AG: substance attaquée après 24 heures d'incubation à 37° C avec production de gaz.
(3) (4) : substance attaquée après plus de 24 heures d'incubation à 37° C.
(4) (V): substance attaquée après plus de 24 heures d'incubation à 37° C; virage de l'indicateur n'ayant jamais été complet endéans les 30 jours d'incubation.

(6) O: substance non attaquée en 30 jours.

2º Autres propriétés.

1. Mobilité:

Elle a été testée sur gélose molle à cinq pour mille d'agar additionnée de glucose, ensemencée par piqûre profonde. Les 200 souches se sont révélées être mobiles; cette mobilité était en général faible, une partie seulement de la gélose étant envahie après 18 heures à 37° avec l'apparence d'un nuage trouble entourant le trait de piqûre. Une petite partie des souches envahissait pourtant complètement le culot de gélose en 18 heurs. Cinq souches furent d'autre part trouvées immobiles à l'isolement, mais furent aisément rendues mobiles par passages répétés sur gélose molle, comme l'avaient déjà indiqué Rustigian et Stuart [47].

A plusieurs reprises il fut constaté que la mobilité est exaltée plus intensément par incubation à 25° que par incubation à 37°, constatation à mettre en parallèle avec celle de STUART, WHEELER et McGann [57] suivant laquelle l'envahissement complet des géloses nutritives à 10 pour 1.000 d'agar au maximum coulées en boîtes de Pétri, ne se produit avec ces bactéries que si l'incubation est faite entre 20 et 25°.

La plupart des auteurs, de même que le rapport du Sous-Comité des Entérobactéries de l'Association Internationale des Sociétés Microbiologie [27] sont également d'avis que ces germes sont généralement faiblement mobiles. BROOKE [4], par contre, qui a étudié 35 souches anaérogènes, affirme en avoir trouvé 12 complètement immobiles; de même BUTTIAUX, FRESNOY et MORIAMEZ [6], sur 76 souches isolées dans le Nord de la France, en ont trouvé 22 définitivement immobiles.

2. Production d'indol:

La production d'indol en eau peptonée a été recherchée au moyen du réactif de Kovac. Toutes les souches ont donné une réaction positive après 18 heures d'incubation; la réaction fut en général fortement positive. Comme l'a montré MOTTL [37] il est indispensable que cette recherche soit faite après une période d'incubation ne dépassant pas 24 heures, car dans la plupart des cas la réaction devient négative après 48 ou 72 heures, à la suite d'une décomposition de l'indol précédemment formé.

3. Production d'hydrogène sulfuré :

La recherche de celle-ci, faite en Kligler's iron agar DIFCO a été négative pour les 200 souches.

4. Production d'acétyl-méthyl-carbinol:

La recherche de la production de ce corps à partir du dextrose (réaction de Voges-Proskauer) par la méthode de Barrit après 48 heures d'incubation à 30° a été négative pour toutes les souches.

5. Test au rouge de méthyle :

A été effectué sur les 200 souches après 5 jours d'incubation à 30° en milieu MR-VP DIFCO. Des souches de *Klebsiella* ont servi de témoins négatifs. Quasi toutes les souches ont donné une réaction faiblement positive (coloration orangée) ; 4 d'entre elles ont toutefois donné une réaction constamment négative (coloration jaune paille) malgré la répétition des tests ; elles ne présentaient par ailleurs aucune autre particularité biochimique.

Notons que les souches du Congo étudiées par VAN OYE et Schoetter [61] étaient également faiblement positives.

6. Croissance en présence de cyamure de potassium :

Le test de Braun au KCN a été effectué d'après la technique préconisée par Buttiaux, Moriamez et Papavassiliou [7]. De même que ces auteurs et Moeller [35] l'ont constaté pour leurs propres souches de *Providence*, la quasi totalité des nôtres croissaient dans ces conditions ; seules 2 souches sur 200 ont donné des tests constamment négatifs. Une de ces souches était immobile à l'isolement et utilisait l'adonitol tardivement ; l'autre ne présentait rien de particulier.

7. Croissance en présence de citrate et de sels d'ammonium

Toutes les souches ont été testées sur milieu de Simmons quant à leur capacité d'utiliser les sels d'ammonium comme seule source d'azote, lorsque la seule source de carbone mise à leur disposition est du citrate. Le test a été positif pour toutes les souches avec virage de l'indicateur (bleu de bromothymol) en 18 heures, à une

exception près. Cette dernière souche poussait lentement sur le milieu, entraînant toutefois un virage complet en 3 jours.

8. Transformation des nitrates en nitrites:

Le test a été effectué suivant Kauffmann [30], après 4 jours d'incubation à 37° C. Chaque souche fut toutefois ensemencée simultanément sur deux tubes ; nous avons en effet constaté que les Providence transforment les nitrates en nitrites avec une rapidité très variable d'une souche à l'autre et qu'après 4 jours d'incubation à 37º les nitrites produits sont déjà souvent transformés en substances plus simples. Il est de ce fait indispensable pour tout test négatif de rechercher dans un second tube ensemencé en même temps que le premier si les nitrates initialement présents persistent dans le milieu après les 4 jours d'incubation. Pour ce faire on ajoute au second tube une pincée de poudre de zinc, substance réductrice pour les nitrates, on agite et on refait une recherche des nitrites. Si celle-ci est positive (alors que le premier tube avait donné un test négatif), c'est que la bactérie étudiée ne transforme bas les nitrates; elle effectue par contre cette transformation dans le cas contraire.

Les 200 souches testées dans ces conditions se sont toutes révélées capables de transformer les nitrates.

9. Hydrolyse de l'urée :

Les 200 souches testées sur milieu peptoné à l'urée suivant Christensen [9] se sont montrées incapables d'hydrolyser l'urée.

Pour la plupart des auteurs d'ailleurs ces germes ne possèdent pas d'uréase. Singer et Bar-Chay [53] signalent toutefois 12 souches uréase-positives sur 74 testées sur Christensen. Buttiaux et collaborateurs [8] considèrent également les *Providence* comme incapables d'hydrolyser l'urée et expliquent les résultats divergents de Singer et Bar-Chay par la constatation de la forte alcalinisation des milieux peptonés produite par ces germes : le pH du milieu peut monter de 7,2 à 8,5 — 8,7. Dans ces conditions des milieux de Christensen dépourvus d'urée sont virés au rose par certaines souches, particulièrement si le pH de la base gélosée est légèrement trop élevé lors de l'ensemencement.

Un milieu synthétique ne comportant pas de peptone, tel

le milieu de Stuart, Van Stratum et Rustigian serait d'ailleurs préférable au milieu de Christensen dans l'opinion de Buttiaux, Moriamez et Papavassiliou [7]; en effet l'uréase de certains Proteus retigeri serait inactive en Christensen, mais active en milieu de Stuart. A défaut de l'emploi de ce dernier, ces souches de P. retigeri pourraient erronément être prises pour des Providence. Le risque d'une telle erreur est pourtant faible, car ce phénomène s'observe le plus souvent avec des souches entretenues depuis longtemps sur milieux artificiels et en règle générale les Proteus retigeri transforment rapidement l'urée lors de leur isolement.

10. Présence de désaminases pour certains amino-acides:

En 1935, Bernheim et Webster montrèrent que les *Proteus* possèdent un enzyme capable de provoquer la désamination oxydative de certains acides aminés et notamment de la *l-phényl-alanine*.

En 1938, Henriksen et Closs montrent que le produit final de l'action de l'enzyme sur la phénylalanine est l'acide phényl-pyruvique.

En 1950, Henriksen [23] décrit une méthode assez longue et compliquée, appliquant cette propriété au diagnostic des *Proteus*. Étudiant 645 souches, il croit pouvoir en conclure que la présence de cet enzyme coïncide avec l'existence d'une forte activité uréasique et est pratiquement limitée aux *Proteus*.

Ultérieurement Singer (1953) et Singer et Bar-Chay [53] montrent que ce parallélisme n'existe pas et que le test à l'acide phénylpyruvique (test APP) est significatif des *Proteus* et des *Providence*, ces derniers étant pourtant uréase-négatifs; 86 souches de *Providence* étudiées par la technique de Henriksen se montrent toutes APP positives.

En 1954, Buttiaux et collaborateurs [6] proposent une simplification de la méthode de Henriksen. Elle nécessite le contact des germes avec de la phénylalanine pendant 4 heures à la température du laboratoire. La mise en évidence de l'acide phénylpyruvique se fait au moyen d'alun de fer ammoniacal en présence de sulfate d'ammonium. Une coloration d'un vert intense indique que le test est positif. La totalité des 78 souches de *Providence* étudiées se sont révélées être positives aux auteurs de cette technique, ainsi que 174 *Proteus* appartenant aux diverses espèces sur

175. Comme SINGER et BAR-CHAY, ces auteurs constatent l'absence de corrélation entre la positivité du test APP et la présence d'une uréase. Le test APP est chez les Entérobactéries absolument spécifique des seuls *Proteus* et *Providence*.

Aussi dans une autre publication, BUTTIAUX et collaborateurs [7] estiment-ils que le test APP est préférable à la recherche de l'uréase pour l'identification des *Proteus*, car cette dernière n'est pas spécifique du genre (elle est positive chez de nombreux *Aerobacter* et *Klebsiella*) et que ce test permet le diagnostic rapide des *Providence*, la recherche de l'uréase n'étant à effectuer que parmi les Entérobactéries APP-posirives, afin de distinguer les *Providence* des *Proteus morganii* et rettgeri.

Récemment, BEN HAMIDA et LE MINOR [1] ont proposé une technique donnant des résultats identiques aux méthodes précédentes, mais possédant l'avantage de la rapidité (10 minutes) et et de la persistance de la coloration (au moins 90 minutes).

La technique originale est la suivante :

Réactifs :

1º Culture de 18 heures en bouillon gélosé;

2º Solution de l-phénylalanine à 0,5 %;

Stériliser 30 minutes à 105° à l'autoclave et conserver à + 4° C:

3º Solution de tampon phosphate à pH 6,8;

Ajouter 50 ml de KH_2PO_4 M/5 (27,2 g/l) à 23,6 ml de NaOH M/5 ;

stériliser et conserver à + 4° C;

4º Solution aqueuse à 26 % de chlorure ferrique (solution officinale du *Codex*) diluée au tiers.

Technique:

Mettre dans un tube à hémolyse :

IV gouttes de la solution de phénylalanine;

IV gouttes de tampon;

Suspendre dans le mélange une pleine anse de culture ; Agiter 10 minutes à l'agitateur de Kahn ; Ajouter I goutte de la solution de chlorure ferrique; On obtient une coloration verte en cas de réaction positive.

C'est la technique que nous avons utilisée, à part l'adjonction de III gouttes de chlorure ferrique au lieu d'une seule, ce qui donne une teinte verte bien plus intense en cas de réaction positive.

Notons que tout récemment STEWART [55] a d'ailleurs montré que la technique de BEN HAMIDA et LE MINOR pouvait être exécutée sur des cultures de 18 heures sur milieu de KLIGLER (ou sur TSIA), ce qui élimine la nécessité d'un repiquage pour les bactériologistes utilisant couramment ce milieu.

La recherche de la phénylalanine-désaminase a été effectuée sur toutes nos souches ; toutes donnaient une réaction fortement positive.

La désamination oxydative d'autres acides aminés par les Enrobactéries a également été étudiée. SINGER et VOLCANI [54] ont étudié 8 acides aminés de ce point de vue et ont conclu à l'intérêt du tryptophane comme substrat de cette réaction.

THIBAULT et LE MINOR [59] ont ensuite mis au point une technique très simple pour la détection de la *tryptophane-désaminase*, cette dernière transformant le tryptophane en acide indol-acétique.

Les auteurs ont utilisé le milieu à l'urée de Ferguson additionné de 3 pour 1000 de tryptophane pour le faire servir à la fois à la recherche de l'indol, de l'uréase et de la tryptophane-désaminase. Ils effectuent le test sur une fraction du milieu ayant servi à la recherche de l'uréase, l'autre fraction servant à la recherche de l'indol au moyen du réactif de Kovac. La réaction s'effectue en ajoutant à IV gouttes de la suspension microbienne I goutte de la solution officinale du *Codex* de chlorure ferrique (26 %) diluée au tiers. Une réaction positive se traduit par une couleur brun-rougeâtre intense, une négative par une couleur jaune.

Nous avons modifié cette technique et avons testé cette modification sur des souches d'Entérobactéries diverses. Les résultats furent les mêmes que ceux obtenus par Thibault et Le Minor : seuls les *Proteus* et les *Providence* donnent une réaction positive.

La technique est la suivante : dans un tube à hémolyse faire dans IV gouttes d'une solution aqueuse à 3 pour 1000 de tryptophane une suspension épaisse de corps bactériens obtenus à partir d'une culture de 18 heures sur gélose ordinaire. Agiter 15 minutes

sur un agitateur de Kahn. Ajouter I goutte de solution officinale (26 %) diluée au tiers de chlorure ferrique. En cas de test positif la teinte brun-rougeâtre obtenue est intense.

Le test est ainsi encore plus simple que la réaction à la phénylalanine, car l'adjonction d'un tampon afin d'obtenir un pH acide n'est pas nécessaire, ainsi que l'ont montré Thibault et Le Mi-Nor grâce à des essais comparatifs.

Toutes nos souches de *Providence* ont été testées par cette technique ; toutes possédaient une tryptophane-désaminase.

11. Recherche de la lysine-décarboxylase:

L'intérêt de la recherche des décarboxylases chez les Entérobactéries fut démontré initialement par MOELLER [36]. La lysine est décarboxylée en cadavérine et cette dernière est mise en évidence par la ninhydrine.

La technique mise au point par Thibault et Le Minor [56] a été utilisée en employant une gélose additionnée d'hydrolysat de protéines. Les 10 souches testées se sont révélées dépourvues de cet enzyme. Des tests positifs (couleur violette) ont été obtenus avec des Salmonella et des Escherichia témoins.

Cette réaction est d'une particulière utilité en ce qui concerne le diagnostic différentiel entre Salmonellae et Arizona, d'une part, et des bactéries qui leur ressemblent, les Ballerup-Bethesda, d'autre part. Elle est beaucoup moins intéressante que la mise en évidence des désaminases en ce qui concerne le diagnostic des Providence et il a été jugé inutile de l'effectuer sur toutes nos souches.

12. LIQUÉFACTION DE LA GÉLATINE :

Toutes les souches furent incapables de liquéfier la gélatine en 30 jours à la température du laboratoire.

Les mêmes résultats furent d'ailleurs obtenus par SINGER et BAR-CHAY [53]; EWING et collaborateurs [20] signalent par contre que 5 de leurs souches sur 83 appartenant au biogroupe II liquéfiaient légèrement la gélatine après 3 semaines, tandis qu'aucune souche du groupe I n'attaquait cette substance. BUTTIAUX et collaborateurs [6] ont également constaté 6 protéolyses lentes sur 73 souches examinées à 30° pendant 30 jours.

Toutes les données ci-dessus sont résumées dans le tableau III:

TABLEAU III

Réactions biochimiques de 200 souches de *Providence* autres que celles qui concernent les sucres, alcools et glucosides.

- 1º Mobilité: 100 % de souches mobiles, dont 98 % dès l'isolement.
- 2º Indol: 100 % des souches produisent de l'indol.
- 3º Hydrogène sulfuré: aucune souche ne produit de l'H2S.
- 4º Simmons' citrate agar: 100 % des souches croissent en présence de citrate et de sels d'ammonium.
- 5º Uréase: aucune souche ne possède d'uréase.
- 6º Voges-Proskauer: aucune souche ne produit d'acétyl-méthylcarbinol à partir du dextrose.
- 7º Rouge de méthyle: 98 % de souches positives.
- 8º Transformation des nitrates: 100 % des souches transforment les nitrates en nitrites.
- 9º KCN: 99 % des souches croissent en présence de KCN (technique de Buttiaux et collaborateurs [7]).
- 10º Présence de désaminases: 100 % des souches possèdent une phénylalanine-désaminase et une tryptophane-désaminase.
- 11º Lysine-décarboxylase: les 10 souches testées étaient dépourvues de cet enzyme.
- 12º Liquéfaction de la gélatine: aucune souche ne liquéfie cette substance en 30 jours.

V. CLASSIFICATION BIOCHIMIQUE.

Nous avons tenté de classer les 200 souches de *Providence* isolées à Bukavu en nous basant sur les réactions de fermentation de 14 substances hydrocarbonées. Seules 10 de ces substances se sont finalement révélées utiles au classement, les 4 autres (lactose, arabinose, dulcitol et xylose) n'étant attaquées par aucune souche. Ce classement a abouti à la distinction de 12 types biochimiques désignés dans le *tableau IV* par les lettres A à L.

Déjà en 1954 une classification basée sur les réactions de fermentation de 7 substances (glucose, lactose, sucrose, mannitol, adonitol, salicine et inositol) par 611 souches d'origines géographiques diverses avait été proposée par EWING, TANNER et DENNARD [20]. Elle distingue 31 types biochimiques répartis en deux groupes principaux, les biogroupes I et II dont les caractéristiques ont été données au paragraphe II. Le biogroupe I comprend 20

biotypes numérotés de 1 à 20, le biogroupe II en comprend 11 numérotés de 21 à 31.

En nous basant sur les mêmes critères de classification, nos souches se répartissent en 10 types biochimiques, dont 5 appar-

tiennent au biogroupe 1 et 5 au biogroupe II. Elles sont décrites au tableau V. Cinq de ces 10 types n'ont pas été décrits par EWING et collaborateurs et ne figurent pas dans leur classification.

Le biogroupe I renferme 189 souches, soit 94,5 %. Parmi ces dernières 172 appartiennent au type 1, qui est de loin le plus fréquent partout. Par contre, aucune souche n'appartient au type 2, rencontré pourtant dans 10 % des cas par Ewing et collaborateurs, tandis que 2 de nos souches appartiennent à des biotypes non décrits par ces auteurs.

Le biogroupe II est représenté par 11 souches, soit 5,5 %. Six appartiennent aux types 24 et 27 déjà décrits par EWING, tandis que 5 autres se répartissent en 3 types non décrits, mais très analogues à des types connus du même biogroupe. Par contre le type 21 le mieux représenté parmi ceux du groupe II décrits par EWING qui a rassemblé 51 souches de ce type, n'a pas été isolé par nous.

D'autres auteurs ont également découverts des types non décrits par Ewing (Huet, [26]; Buttiaux, Fresnoy et Moriamez, [6]). Buttiaux constate même ne pouvoir classer de façon constante ses souches du Nord de la France dans l'un ou dans l'autre des grands groupes biochimiques, ce qui fut par contre parfaitement possible pour toutes nos souches.

Il semble de ce qui précède que les types biochimiques des *Providence* du Kivu sont assez peu variés, le groupe étant représenté en grande majorité par des souches du groupe I, type 1. Le groupe II est assez rare et semble rencontré moins fréquemment qu'en Europe ou en Amérique. Enfin on rencontre au Kivu plusieurs types non décrits dans la classification, généralement adoptée, de EWING.

Tableau IV. — Classification biochimique de 200 souches de Providence établie sur la base de l'utilisation de 10 substances fermentescibles.

	de souches	du total	Nombre % d-glucose sucrose	sucrose	d-man- nitol	adonitol	salicine	inositol	adonitol salicine inositol trehalose	d-sorbi- tol	d-sorbi- l-rham- tol nose	maltose
	<u></u>	_		I. Biog	I. Biogroupe I suivant Ewing et coll. [20].	ivant Ewn	NG et coll.	20].				!
4 B O	172	86,0 % 7,0 % 0,5 %	A A	(e) (e) e		A A	1 1 1	111		111	<u> </u>	223
A H	ैस स	0,5 %	AG	(A) (A) II. Biogr	(A) — (A) — — — — — — — — — — — — — — — — — — —	(A) A iivant Ewn	 NG et coll	.[20].	<u>† †</u>	1 1		33
F O H			444	લેલેલે -	<u>€</u> ∢		4	444	44	(4) (4) I	4	T
H - M - H		0,5 % 0,5 % 0,5 % 0,5 %	4444	<u> </u>	4 (A) (A)	बंबंब	4 4	4444	4444	1 3 1 3	1111	

AG: Fermentation en 24 heures avec production de gaz. A : Fermentation en 24 heures sans production de gaz.

(A): Fermentation tardive (48 heures et plus).(V): Tardivement et irrégulièrement fermeté.

- : Pas de fermentation en 30 jours. N. B.: Le lactose, le dulcitol, le l'arabinose et le d-xylose ne sont attaqués par aucune souche.

*4*4

Tableau V. — Classification biochimique de 200 souches de Providence (Classification suivant Ewing, Tanner et Dennard, [20])

	14 1 1 1	86,0 % 7,0 % 0,5 % 0,5 %	AG A			a-mannitot	sucrose d-mannitol adonitol	salıcıne	inositol
16 Non décrit Non décrit 24 27	4	0,5 % 0,5 %	44	1	(A)	1	AG		1
16 Non décrit Non décrit		0,5 %,5 %,8	¥ .	I	€	1	A	1	
Non décrit Non décrit 24 27		% 5'0		1	V	1	Ą	1	1
Non décrit	_	6	ا ک	1	€		(¥)	١	l
24 27 27		% c,0	AG.	Ì	(V)	l	¥	ı	1
	189	94,5 %							
27	z,	2,5 %	¥	ĺ	(A)	¥	1	1	¥
	-	0,5 %	Ą	ļ	(V)	(¥)	1	1	Ą
Non decrit	C 1	1,0 %	A	ļ	(Y)	¥,	¥	Ą	Ą
Non décrit	7	1,0 %	¥	ļ	(y)	€	Ą	1	Ą
Non décrit	H-	0,5 %	Æ	1	(A)	Í	I	ď	∀
	11	5,5 %					_		

AG: Fermentation en 24 heures avec production de gaz.
A: Fermentation en 24 heures sans production de gaz.
(A): Fermentation tardive (48 heures ou plus).
-: Pas de fermentation en 30 jours.

Il est vraisemblable que ces constatations sont également valables ailleurs en Afrique; elles concordent en effet avec celles de Van Oye et Schoetter [61] qui n'ont rencontré dans l'Ituri que le biogroupe I et pour qui le type 1 est de loin le plus fréquent, les autres types étant considérés par eux comme des exceptions. En Tunisie, Huet [25; 26] également trouve surtout des souches appartenant au groupe I (types 1 et 4 comme au Kivu). Comme nous également, cet auteur ne signale pas de type 2, qui comprend environ 10 % des souches de Ewing.

En ce qui concerne les avantages du système de classement donné au tableau IV par rapport à celui employé par EWING (tableau V), signalons que l'adjonction du sorbitol, du rhamnose et du tréhalose permet une meilleure subdivision du biogroupe II, les les types H et I de notre classification d'une part, les types J et K d'autre part étant réunis en un seul type si on se contente des critères de EWING; ces types diffèrent pourtant de façon évidente.

VI. Propriétés et classification sérologiques

L'étude sérologique du groupe *Providence* fut entreprise en 1954 par EWING, TANNER et DENNARD [20]. Ils mirent en évidence l'existence de 56 groupes antigéniques 0 de fréquences très variables, de 28 antigènes H et de deux antigènes capsulaires K. Les combinaisons de ces divers types d'antigènes parmi les 543 souches étudiées par eux leur permit de déceler 125 sérotypes. En 1958 six groupes 0 et deux antigènes H de plus étaient connus et le nombre des sérotypes décrits à 156.

Nous avons testé ou fait tester au point de vue des groupes antigéniques 0 un grand nombre de souches. Le groupe 0 de 35 d'entre elles a pu être déterminé (¹).

⁽¹⁾ Le groupe O d'une partie de ces souches a été déterminé par nous-même au moyen de sérums que nous devons à la grande obligeance du Dr E. VAN OYE. Certaines de ces souches (pour contrôler nos déterminations), ainsi que d'autres que nous n'avons pu identifier nous-même, ont d'autre part été typées soit par les Drs E. Ewing et M. Brooke du Communicable Disease Center, Chamblee, Georgia, soit par le Dr. S. Namioka du National Institute of Animal Health, Tokio, Japon, que nous remercions très vivement.

Technique:

Il a été procédé d'après les recommandations de EWING et collaborateurs [23]. Les cultures de 18 heures en gélose furent mises en suspensions épaisses dans 10 ml de solution saline à 5 pour 1000 et chauffées pendant 2 heures à 121° C, ce qui élimine les éventuels antigènes capsulaires thermolabiles pouvant rendre les souches inagglutinables par les sérums anti-0. Ce chauffage est sans effet sur les antigènes somatiques, ceux-ci étant thermostables. Les agglutinations furent exécutées sur lames.

Résultats:

Trente-cinq des nombreuses souches testées ont donné des résultats positifs; elles appartiennent à 11 groupes sérologiques différents. Il est ainsi démontré qu'existent au Kivu les groupes 0 1, 0 3, 0 12, 0 19, 0 29, 0 32, 0 35, 0 45, 0 46, 0 52, 0 53. Par contre, bien que possédant des antisérums 0 27, 0 49, 0 60, nous n'avons pas trouvé de souches appartenant à ces groupes. De plus 5 souches, dont 4 appartiennent au biogroupe II, n'ont pu être déterminées par les Drs Ewing et Brooke et pourraient appartenir à des groupes sérologiques 0 nouveaux.

Les résultats sont rapportés au tableau VI, avec le type biochimique des souches.

Discussion:

L'examen du tableau VI montre que nous n'avons pas trouvé de souches des biogroupes I et II coexistant dans le même sérogroupe 0.

Ce fait est à mettre en rapport avec les résultats obtenus par EWING et collaborateurs sur leurs propres souches, qui peuvent également faire soupçonner que les souches des groupes I et II, nettement différentes dans leurs propriétés de fermentations, diffèrent également sérologiquement.

Ces auteurs ont en effet constaté que leurs souches du biogroupe II appartiennent en général à un nombre limité de groupes sérologiques (les groupes 0 4, 0 20, 0 43, 0 44 et 0 47, dont nous ne savons pas encore s'ils existent au Kivu) parmi la soixantaine de groupes existants.

TABLEAU VI
Groupes sérologiques somatiques de 35 souches de *Providence* isolées au Kivu.

Groupes O	Nombre de souches	Types biochimiques	Nombre de souches
0 1	1	I 1 ou A	1
03	6	I 1 ou A	5
		I 4 ou B	1
0 12	9	I 1 ou A	9
0 19	5	I 1 ou A	1
		I 4 ou B	3
		I 16 ou C	1
029	1	I 1 ou A	1
0.32	3	I 1 ou A	3
0.35	1	II N ou J	1
0.45	6 °	I 1 ou A	6
0 46	1	I 1 ou A	1
0.52	1	II 24 ou F	1
0 53	1	I N ou D	1
	35		35

N: type biochimique non décrit dans la classification de Ewing et coll. [20]. Les lettres majuscules correspondent aux types biochimiques de notre classification des souches isolées au Kivu.

Certes, ces auteurs ont bien constaté que quelques souches du biogroupe I sont à classer dans ces sérogroupes et que les groupes 0 8 et 0 23 contiennent des proportions à peu près égales de souches des deux biogroupes. La manière dont les groupes 0 ont été constitués implique toutefois que ces faits, assez peu nombreux, ne sont pas en contradiction avec l'hypothèse de la différenciation sérologique des deux biogroupes. En effet, les composants des mosaïques antigéniques constituant les groupe 0 des *Providence* n'ont pas été déterminés séparément par les initiateurs de la classification sérologique, comme l'ont été par exemple ceux des *Salmonellae*.

Ces auteurs ont en effet placé dans la même groupe 0 les souches montrant des relations antigéniques réciproques importantes, en prenant comme critère les agglutinations croisées dont le titre atteignait 1/10° ou plus du titre des antisérums, titre évidem-

ment déterminé au moyen de la souche qui avait servi à la production de chaque sérum. Il est de ce fait possible *a priori* que des souches possédant des mosaïques antigéniques assez différentes aient été placées dans le même groupe 0.

EWING écrit d'ailleurs lui-même qu'il est certain que :

« les antigène de toute les cultures contenues dans le mêmes groupe O ne sont pas nécessairement identiques » (EWING, TANNER et DENNARD [20]).

Anticipant sur le paragraphe X, disons déjà que cette hétérogénéité sérologique se superposant à la distinction en deux grands groupes biochimiques nous paraît un argument de poids en faveur de l'hypothèse suivant laquelle les deux biogroupes constituent en réalité deux espèces microbiennes distinctes; des arguments d'un tout autre ordre viendront d'ailleurs également contribuer à cette hypothèse.

Il paraît d'ailleurs d'autant moins que la présence d'antigènes communs dans un nombre limité de souches appartenant aux deux biogroupes puisse empêcher une distinction d'espèce que des analogies antigéniques existent également entre les deux biogroupes et des bactéries appartenant à d'autres genres de la famille des *Entérobactériacées*. De telles analogies ont en effet été rapportées par plusieurs auteurs :

Perch [40] notamment a démontré une parenté 0 très étroite entre un *Proteus* appartenant au groupe sérologique 0 13 et une souche de *Providence* désignée sous le numéro 1721.

Namioka et Sakazaki [38] ont constaté également que les antigènes 2a, 2b des *Proteus rettgeri* agglutinent fortement dans l'antisérum 0 17 des *Providence* et que des souches de *Providence* du groupe 0 17 sont fortement agglutinées par les antisérums 0 2a, 2b de *P. rettgeri*. Ils n'ont par contre pas rencontré d'agglutinations croisées de type flagellaire entre les deux groupes.

EDWARDS et EWING [15] signalent également des agglutinations croisées somatiques et flagellaires entre *Proteus morganii* et *Proteus rettgeri* d'une part et des souches de *Providence* d'autre part.

Des relations antigéniques 0 entre certains sérotypes d'Escherichia coli et des souches de Providence ont également été constatées par EWING, TATUM, DAVIS et REAVIS. SCHMID et VELAUDAPILLAI [49] enfin ont constaté que les antigènes somatiques d'une souche de *Providence* isolée des selles d'un enfant atteint de diarrhée n'ont pu la faire placer dans aucun des 54 groupes 0 pour lesquels cette souche a été testée, mais que cette souche possédait un antigène identique à l'antigène 43 des *Salmonellae* (antigène de *S. milwaukee* et de *S. berkeley*).

VII. FRÉQUENCE DES *PROVIDENCE* DANS LES PRODUITS BIOLOGIQUES

1º Résultats obtenus au Kivu.

Durant l'année 1959, 1690 selles d'Africains ont été soumises à des coprocultures suivant les techniques décrites au paragraphe III. Des *Providence* furent isolés à partir de 216 d'entre elles, soit 12,8 % des selles.

Il s'agissait d'échantillons pathologiques ou non provenant de patients souffrant de troubles intestinaux et adressés au laboratoire par les médecins traitants, ainsi que de selles envoyées pour recherche de parasites et dont le caractère pathologique (y compris éventuellement la présence de sang décelé au microscope) a incité le laboratoire à effectuer d'office une coproculture.

A titre de comparaison signalons que dans les mêmes échantillons il fut trouvé 344 Shigella (20,4 %) et 59 Salmonella (3,5 %).

De plus, la même année, 187 selles d'Européens furent soumises à des coprocultures pour des motifs analogues; la fréquence des *Providence* y fut de 4,3 %.

Aucun *Providence* ne fut isolé d'autres produits pathologiques durant cette période et notamment de 299 hémocultures et de 244 urinocultures.

Il a d'autre part été constaté que deux souches appartenant à des types biochimiques différents peuvent coexister dans le même échantillon, bien que le fait ne soit pas fréquent; c'est ainsi qu'il a été trouvé à deux reprises une souche du biogroupe I, type 1 et une souche du biogroupe II, de type non décrit par Ewing, coexistant dans la même selle; dans un autre cas il fut trouvé à la fois des souches des types 1 et 4 (biogroupe I) et dans un autre cas enfin des souches du groupe I, type 1, et du groupe II, type 27. Costa et Suassuna [11; 12] ont d'ailleurs également signalé la

présence de plusieurs types biochimiques dans le même échantillon.

En ce qui concerne l'influence de l'âge, il fut noté que la fréquence des *Providence* dans 270 échantillons de selles provenant d'enfants africains en dessous de 6 ans et souffrant de troubles intestinaux fut un peu inférieure à celle trouvée dans les échantillons provenant de sujets de tous âges : elle fut de 8,9 % (24 selles positives). Le rôle éventuel des *Providence* dans l'incidence des gastro-entérites infantiles sera envisagé plus loin.

Enfin, une influence saisonnière sur la fréquence des isolements de ces bactéries n'est pas apparue nettement pendant l'année 1959 Cette fréquence fut en effet de 10,6 % des échantillons reçus pendant la saison sèche (juin, juillet, août et septembre) et de 14,1 % pendant la saison des pluies. Signalons à ce propos que HUET [25] a constaté une recrudescence marquée des isolements de *Providence* pendant la saison chaude en Tunisie.

2º Comparaison avec les résultats obtenus dans d'autres régions:

La littérature contient quelques données quant aux fréquences des isolements de *Providence* trouvées dans différents pays. Elles sont résumées au *tableau VII*. On y voit que ces fréquences varient beaucoup d'après les lieux et les auteurs. Ce fait tient certainement entre autres à la variabilité des techniques utilisées. RAVISSE par exemple dit n'avoir utilisé les enrichissements que très exceptionnellement; or, nous avons montré au paragraphe III l'importance de ceux-ci pour l'isolement des *Providence*.

COSTA et SUASSUNA [11], chez des patients présentant ou non de la diarrhée, trouvent une fréquence très analogue à la nôtre (14,8 %).

Les résultats de SINGER et BAR-CHAY [53] sont d'autre part intéressants parce qu'ils montrent que les *Providence* se trouvent bien plus fréquemment dans les selles de patients diarrhéiques que dans celles de sujets normaux et plus fréquemment chez l'enfant normal que chez l'adulte normal.

3º Autres sources d'isolements que les selles:

Ces Entérobactéries ont d'autre part été isolées par certains auteurs d'autres produits biologiques que des selles.

Hémocultures: EWING, TANNER et DENNARD [20] signalent

deux hémocultures positives et van Oye et Schoetter [61]; une également chez une femme indigène de l'Ituri. Nous-même n'avons isolé aucun *Providence* de 299 hémocultures effectuées en 1959.

Urinocultures: EWING et collaborateurs [61] ont étudié 15 souches isolées d'urines et BROOKE [4] en a étudié 35, également isolées d'urines et conservées dans les collections du Statens Seruminstitut de Copenhague. D'après Perch [41] toutefois, les isolements de *Providence* à partir d'urines sont rares à cet institut.

Nous n'avons, quant à nous, pas isolé de *Providence* à partir des 244 urinocultures effectuées en 1959.

Singer et Bar-Chay [53] signalent également deux souches isolées de secrétions pharyngées.

Des *Providence* ont également été trouvés chez l'animal. Nous en avons fréquemment obtenus à partir de selles de souris ; van Oye [60] en a isolé de l'intestin de serpents, de caméléons et de canards.

Certains auteurs ont pu isoler ces germes à partir d'aliments également (Plass, [42]); ce fait s'explique d'autant mieux si l'on sait que BUTTIAUX et collaborateurs [6] ont montré que ces bactéries poussent bien à des températures très inférieures à 27° (optimum 30°) et que certaines sont même psychrophiles et donnent une culture abondante sur gélose à +4°C, ce qui explique leur présence dans des viandes hachées conservées au réfrigérateur.

Plass notamment, lors d'une épidémie de diarrhée, trouva un *Providence* comme organisme prédominant dans la nourriture et les selles d'une grande partie des patients hospitalisés.

EWING et collaborateurs [20] enfin, rapportent qu'une de leurs souches fut isolée à partir d'eaux d'irrigation.

VIII. POUVOIR PATHOGÈNE.

A. Pouvoir pathogène éventuel pour l'homme.

1º Travaux antérieurs.

Suite à diverses constatations, toute une série d'auteurs sont d'avis que les *Providence* sont pathogènes pour l'homme, ou estiment tout au moins qu'il est probable que ces germes sont des pathogènes occasionnels.

Tableau VII. — Données concernant la fréquence des Providence dans les selles normales et pathologiques.

IABLEAU VII. — Domiees	Concentant ta richaer	IABLEAU VII. — Domiees conceniant in requence are a rounding concenies of the second concenies of the	-	
Auteurs	Pays	Sujets examinés	Nombre de sujets examinés	% de cas positifs pour Providence
Singer et Bar-Chay [54]	Israël-Haïfa	Enfants en dessous d'un an souffrant de diarrhée infectieuse	116	10,0 %
		vivant dans un home	337	2,3 %
		Enfants de tous ages presentant des diarrinees de tous types Adultes présentant des diarrhées de tous	5.400	3,25 %
		types	200	% 9'0
Hirszfeldowa et collaborateurs [25]	Pologne	Enfants souffrant de diarrhée	1.382	2,1 %
Costa et Suassuna [11; 12] Ravisse [46]	Brésil-Rio de Janeiro République du Congo	Fatients diarrhéiques ou dysentériques	Soci	0/ 0/17
	(Brazzaville)-Brazza- ville		476	6,5 %
Données personnelles	République du Congo (Léopoldville)-Bukavu	(tous ages) (tous ages)	1.690	12,8 %
		(tous ages)	187	4,3 %
		Enfants congolais en desseus de 6 ans sour- frant de troubles intestinaux	270	% 6'8

On peut citer à ce propos les publications suivantes :

En 1946, Stuart, Wheeler et McGann [57] concluent de l'étude de 109 souches que des preuves considérables ont été accumulées en faveur de l'opinion que ces organismes peuvent être cause de gastroentérites et de diarrhées.

En 1947, Plass [42] trouva comme organisme prédominant des *Providence* dans les selles de 13 des 16 patients hospitalisés au cours d'une épidémie de diarrhée.

En 1954, SINGER et BAR-CHAY [53] isolent à Haïfa 77 souches anaérogènes de *Providence* à partir de selles d'enfants et d'adultes, 33 d'entre elles provenaient d'enfants et 10 d'adultes souffrant de diarrhée.

En 1954, VAN OYE et SCHOETTER [61] décrivent 3 cas d'enfants âgés respectivement de 4 ans et de 16 et 18 mois présentant des troubles intestinaux avec selles glaireuses sans fièvre. Les deux premiers (sœur et frère) présentaient un *Providence* 0 12, le troisième un *Providence* 0 3.

En 1955, RIDGE et Thomas [46] attribuent également à des *Providence* une épidémie de dysenterie survenue dans une crèche. Sur 23 enfants, 11 ont présenté de la diarrhée sans vomissements. Les symptômes furent peu sévères et durèrent de 2 à 8 jours. En l'absence de tout autre germe susceptible d'être pathogène et de tout parasite, les selles de 7 des 11 malades et celles de 3 enfants sans symptômes ont donné une culture pure de *Providence*. Chez les autres enfants malades les examens ont été faits tardivement, ce qui pourrait expliquer la négativité des coprocultures.

En 1956, HIRSZFELDOWA et collaborateurs [24] isolent en Pologne 29 souches de *Providence* de 1382 échantillons provenant de diarrhées infantiles, contre 22 Salmonella et 11 Shigella seulement. Les Escherichia coli de sérotypes pathogènes et des Paracolobactrum sont pourtant bien plus nombreux (respectivement 240 et 252 souches).

En 1958 RAVISSE [45] à Brazzaville, sur 476 coprocultures effectuées sur des selles pathologiques, en trouve 6,5 % contenant des *Providence* et conclut de ses résultats

« qu'il semble bien que ces germes peuvent dans de nombreux cas être à l'origine de syndrômes dysentériques ou diarrhéiques ».

En 1958 également, VARELA [62] attribue des cas de dysente-

ries fébriles survenues au Mexique chez des enfants âgés de 5 et 8 mois à des *Providence* appartenant aux types biochimiques rares 14 et 15.

En 1959 enfin, SENECAL, dans un mémoire [50] consacré aux diarrhées infantiles à Dakar, signale que de diarrhées fébriles de longue durée parfois sanglantes ont été isolés à peu près purs : 21 fois des *Proteus morganii* 3 fois des *Proteus rettgeri* et 11 fois des *Providence*, ce qui, d'après l'auteur,

« tend à démontrer le pouvoir pathogène de ces germes ».

Quelques auteurs par contre estiment que leurs résultats ne permettent pas d'affirmer ce pouvoir pathogène.

Tels sont Galton, Hess et Collins [21] qui, à la suite de l'isolement de 158 souches à partir d'échantillons provenant de 31 villes différentes de Floride, estiment ne pouvoir déduire de relation significative entre la présence de ces bactéries et des affections entériques; tels sont également Costa et Suassuna [11; 12] qui considèrent ne pouvoir, à la suite de l'isolement de 62 souches, établir de corrélation nette entre la présence de *Providence* dans les selles et l'existence de troubles intestinaux.

HUET enfin, en 1957 [25], considère à la suite de 20 isolements de souches de *Providence* en Tunisie, dont 5 en cultures pures, que ces résultats ne démontrent pas le caractère pathogène pour l'homme de ces bactéries, sans toutefois que la possibilité de l'existence d'un tel pouvoir soit à rejeter à la suite de ceux-ci.

Bref, il ressort de ce qui précède que la majorité des auteurs est pourtant en faveur d'un rôle étiologique des *Providence* dans certains cas au moins de diarrhées ou même de dysenteries. Cet avis est partagé par des auteurs comme Kauffman [30], Ewing [20] et Le Minor [33]; ces derniers estiment que les études sérologiques permettront peut-être, comme elles l'ont fait pour *Escherichia coli*, de mettre en évidence un pouvoir pathogène particulier à certains sérotypes. Il est toutefois évident que la multiplicité des sérotypes ne facilite pas la solution de ce problème.

2º Constatations faites au Kivu.

a. Caractéristiques des échantillons contenant des Providence.

MÉTHODES:

Les 200 souches décrites plus haut provenaient de 194 échantillons de selles. De ceux-ci, 160 ont été étudiés à la fois des points de vue parasitologique et bactériologique. Ces 160 échantillons ont été distribués en 3 classes.

Ont été considérés comme normaux (CLASSE I), les échantillons de selles moulées ou pâteuses ne contenant pas de sang à l'examen macroscopique et microscopique et ne montrant ni glaires, ni mucus.

Ont été considérés comme pathologiques les selles liquides, glaireuses, recouvertes de mucus, sanguinolentes ou sanglantes, ainsi que celles présentant du sang ou une quantité anormale de leucocytes à l'examen microscopique. Ces échantillons pathologiques ont été divisés en deux parties : dans la première (Classe II) ont été placés les échantillons contenant des *Providence* et dont l'examen bactériologique ne montrait pas d'autres bactéries susceptibles d'avoir causé l'aspect pathologique et dont l'examen parasitologique montrait l'absence de protozoaires ou d'helminthes susceptibles également de causer un tel aspect ; dans la seconde partie (Classe III) ont été placés les échantillons pathologiques contenant à la fois des *Providence* et de tels bactéries ou parasites.

Les parasites furent recherchés non seulement par examen direct, mais également par concentration des selles.

RÉSULTATS:

Ils furent les suivants :

CLASSE I : Selles normales contenant des Providence : 28 ou 17,5 %

CLASSE II : Selles pathologiques contenant des Providence, avec absence de bactéries ou parasites susceptibles d'être pathogènes : 61 ou 38,0 %

CLASSE III : Idem, avec présence de tels germes ou parasites : 71 ou 44,5 %

On constate donc tout d'abord que 82,5 % des échantillons contenant des *Providence* étaient pathologiques. Cette fréquence

nous paraît dépasser largement celle des échantillons pathologiques se trouvant dans l'ensemble des envois faits au laboratoire. Bien plus significatif et évidemment en faveur d'un pouvoir pathogène occasionnel de ces bactéries est toutefois le fait que 38 % des échantillons contenant des *Providence* étaient nettement pathologiques et ne contenaient aucun autre parasite ou bactérie susceptibles d'être à l'origine de ce caractère pathologique (classe II).

Il est d'ailleurs quasi certain que dans la classe II ont été placés des échantillons contenant des parasites ou des bactéries pouvant être occasionnellement pathogènes, mais qui ne le furent pas nécessairement dans les cas précis en question. C'est ainsi que 7 échantillons pathologiques contenant des *Providence* et des *Citrobacter (Ballerup-Bethesda* et *Escherichia freundii)* furent placés dans la classe III, alors que les *Citrobacter* ne sont pathogènes qu'occasionnellement; ce sont surtout des gastro-entérites infantiles qui ont été attribuées à ces bactéries (Barnes et Cherry, en 1946; Lutz, Grad et Schaeffer [34]).

La fréquence des échantillons significatifs au point de vue du pouvoir pathogène des *Providence* (classe II) est donc probablement encore plus grande en réalité que ne le font croire les pourcentages rapportés ci-dessus.

D'autre part le fait que 17,5 % des selles contenant ces bactéries étaient normales, fait supposer que des porteurs sains existent et que ce pouvoir pathogène ne se manifeste pas dans tous les cas.

Il y a également lieu d'envisager la possibilité d'un rôle étiologique des *Providence* dans les gastro-entérites infantiles. Des 270 échantillons de selles provenant d'enfants de moins de 6 ans hospitalisés, une souche de *Providence* fut isolée dans les 24 échantillons, soit 8,9 %.

De ces 24 échantillons, 22 furent également soumis à un examen parasitologique ; la répartition en 3 classes donne :

Classe II: 1 échantillon; Classe III: 11 échantillons; Classe III: 10 échantillons.

Donc sur 21 échantillons d'aspect pathologique contenant des Providence, 11 ne présentaient aucune autre bactérie et aucun autre parasite pouvant expliquer ce caractère pathologique des selles. Les *Providence* paraissent donc bien pouvoir être dans certains cas des facteurs étiologiques de diarrhées chez l'enfant.

b. Description de cas pathologiques.

Les affections intestinales où il n'est pas décelé de germes ou de parasites pathogènes, mais où les coprocultures permettent d'isoler des *Providence* sont souvent bénignes. Nous en décrivons cidessous deux cas parmi bien d'autres :

Cas nº 1: K... Emmanuel, Hôpital des Congolais, Bukavu (Dr Delneuville).

Homme adulte entrant à l'hôpital avec une diarrhée très liquide et 8 à 10 selles par jour ; se plaint de fortes coliques, sans autres symptômes ; est apyrétique et le restera les jours suivants. Le diagnostic posé est celui de dysenterie ; une coproculture est demandée, puis un traitetement à la sulfaguanidine (12 comprimés par jour) et au laudanum est institué.

La coproculture ne montre pas d'autres colonies suspectes que des *Providence*, tant à l'ensemencement direct qu'après enrichissements; l'examen de selles ne montre ni protozoaires, ni helminthes. Les selles sont liquides et glaireuses, mais dépourvues de sang.

L'amélioration est rapide et les selles sont redevenues normales au quatrième jour.

Cas nº 2: C... Étienne, Hôpital des Congolais, Bukavu (Dr COENE).

Adulte admis à l'hôpital parce que présentant une diarrhée avec douleurs abdominales. Émet une dizaine de selles liquides et glaireuses par jour, non sanguinolentes. L'examen de selles montre des ascaris, trichocéphales et trichomonas. La coproculture donne uniquement des Providence du type 1, isolés sur SS-agar et Bismuth Sulfite Agar à partir du Selenite F broth.

Le patient reçoit immédiatement 1 g de streptomycine par jour et de la sulfaguanidine. Le quatrième jour la guérison est complète. La température n'a pas dépassé 37° C.

Plus rarement, comme dans les cas ci-dessous décrits, l'affection peut être de plus longue durée et prendre l'allure d'une véritable dysenterie, affectant l'état général et provoquant même de la fièvre dans quelques cas.

Cas nº3: M... Manyumba, Hôpital des Congolais, Bukavu (Dr COENE). Femme de 29 ans, enceinte de 2 mois ; est hospitalisée parce qu'elle présente depuis plusieurs jours une diarrhée violente avant fortement

affecté son état général : la patiente est déshydratée et fort abattue. Les selles sont liquides et glaireuses. Le laboratoire n'y décèle pas de sang et l'examen parasitologique y montre seulement des larves de Strongyloīdes. La coproculture décèle uniquement des *Providence* du type 1.

Une thérapeutique comportant 1 g par jour de streptomycine intramusculaire, de la sulfaguanidine et des perfusions de sérum glucosé est instituée.

La diarrhée guérit après 5 jours de ce traitement ; la température n'a pas dépassé 37°2. L'antibiogramme montre que le *Providence* en cause était sensible à la streptomycine, mais résistant aux sulfamidés.

Cas nº 4: B... Gervais, Hôpital des Congolais, Bukavu (Dr COENE).

Patient âge se trouvant depuis plusieurs semaines à l'hôpital; guéri d'un tétanos grave, est resté à l'hôpital pour soigner des lésions dermatologiques des membres inférieurs. Le 12 juillet 1959, commence soudainement une très forte diarrhée (environ 15 selles par jour), très liquide, non sanguinolente; le patient est apyrétique. Le 13 juillet un traitement à la sulfaguanidine est instauré, qui reste absolument sans résultat les jours suivants. Le 16, un échantillon de selles est envoyé pour coproculture: elles sont liquides et glaireuses et contiennent des hématies, des leucocytes et de rares œufs d'ankylostomes. L'examen bactériologique isole un *Providence* type 1 tant à l'ensemencement direct des milieux qu'après enrichissements et aucune autre colonie suspecte. Au reçu du résultat une thérapeutique à la streptomycine est instituée (1g par jour). Le nombre de selles diminue rapidement. Le 21, l'affection est considérée comme guérie.

Il paraît donc s'agir d'ici d'une affection contractée à l'hôpital, ayant résisté aux sulfamidés, mais ayant cédé à la streptomycine. L'antibiogramme de la souche de *Providence* isolée a effectivement montré que celle-ci était sensible à la streptomycine, mais résistante aux sulfamidés.

Cas nº 5 : A... Bushogo, Hôpital des Congolais, Bukavu (Dr Zéligzon).

Sujet anémié entrant à l'hôpital avec une pyrexie à 39° sans symtômes nets; pas de troubles intestinaux; hémoculture négative. On institue un traitement aux trisulfamides *per* às et le lendemain la fièvre baisse; le surlendemain le patient est apyrétique.

Trois jours après le début de l'apyrexie, alors qu'il reçoit toujours des sulfamidés, le sujet commence une entérite avec selles diarrhéiques non sanguinolentes. La température ne dépasse pas 37°. Les seules colonies suspectes obtenues à la coproculture sont des *Providence* du type 1 (à l'ensemencement direct et aux enrichissements). Les selles

sont liquides et glaireuses et contiennent des globules rouges, ainsi que des œufs de trichocéphales. La diarrhée dure trois jours et cesse sans qu'une modification ait été apportée au traitement.

L'entérite semble donc bien avoir été contractée à l'hôpital et au cours d'un traitement aux sulfamidés. Or, comme nous le montrons plus loin, ces bactéries sont soit résistantes, soit, et moins souvent, peu sensibles à ces substances.

Les cas décrits sous les numéros 4 et 5 sont ceux de patients ayant contracté une entérite au cours d'une hospitalisation. D'autres cas d'entérites s'étant encore produits à la même époque (fin d'août et début de septembre 1959), une enquête fut faite sur le personnel de l'hôpital. Les selles des sept personnes affectées à la préparation de la nourriture et à sa distribution aux malades furent examinées. Aucune ne présentait un aspect pathologique et ces personnes ne se plaignaient d'aucun trouble intestinal. Les coprocultures ne mirent en évidence aucun germe réputé pathogènes, mais on trouva une souche de *Providence* appartenant au type 1 dans 4 cas sur 7. La concomitance de ces isolements avec l'apparition de diarrhées contenant des *Providence* chez des patients en cours d'hospitalisation suggère évidemment la possibilité d'une contagion à partir du personnel cuisinier.

D'ailleurs, une de ces personnes attachées aux cuisines (Z... Michel) tomba malade un mois plus tard (2 octobre 1959), présentant une forte entérite. Les selles étaient liquides et ne contenaient comme parasites que des larves de Strongyloïdes. La coproculture montra des *Providence* du type 1 dans tous les milieux ensemencés à l'exclusion de toute autre bactérie pathogène. Il s'agit donc très vraisemblablement d'un porteur ayant fait une poussée aiguë.

Il a également été constaté qu'un malade guéri peut rester porteur pendant une longue période. Le nommé M... Pétro, après avoir présenté une entérite bénigne de laquelle seul un *Providence* du type 1 fut isolé le 27 août 1959, fut encore trouvé porteur après guérison de l'entérite d'une bactérie du même type les 31 août, 15 et 18 septembre et 23 octobre.

c. Groupes sérologiques 0 et pouvoir pathogène.

En ce qui concerne les groupes 0 dont nous avons montré l'existence au Kivu, nous n'avons pas isolé dans chacun de ces groupes un nombre suffisant de souches pour qu'on puisse en tirer des conclusions définitives quant à un pouvoir pathogène particulier de l'un ou l'autre d'entre eux. Une certaine présomption peut pourtant résulter des constatations reprises dans la liste ci-dessous qui se rapporte aux souches dont sont à la fois connus le groupe 0 et les particularités de l'échantillon dont elles proviennent. C'est d'ailleurs en rassemblant en grand nombre des données de ce genre provenant éventuellement de différents auteurs, que l'on pourra progressivement arriver à des conclusions quant à un pouvoir pathogène éventuel de certains groupes.

Rappelons que le type I d'échantillons correspond aux selles normales, le type II aux selles pathologiques ne montrant que des *Providence* comme cause possible du caractère anormal de l'échantillon et le type III aux selles pathologiques montrant à la fois des *Providence* et des bactéries ou parasites susceptibles d'être pathogènes.

	Eshant tube I	Echant tuba II	Echant. type III
	Echant. type I	Echani. type 11	Echani. type 111
Groupe 0 1:		1 souche	
Groupe 0 3:	,—	2 souches	2 souches
Groupe 0 12:	1 souche	1 souche	3 souches
Groupe 0 19:	1 souche		2 souches
Groupe 0 29:	1 souche	-	· —
Groupe 0 32:			1 souche
Groupe 0.35 :	1 souche		_
Groupe 0 45:	1 souche	1 souche	2 souches
Groupe 0 46:	1 souche		
Groupe 0.52 :			1 souche
Groupe 0 53:	1 souche	_	-
, -			

Parmi les groupes repris ci-dessus, il semble donc que 0 3, 0 12 et 0 45 puissent être pathogènes pour l'homme, et on verra plus loin que les souches de ces groupes parmi celles entraînant la mort de la souris injectée par voie intra-péritonéale. La souche 0 1 a de plus également été isolée d'un échantillon pathologique ne montrant que cette souche comme agent possible. Par contre les souches 0 29, 35, 46 et 53 ont été isolées de selles normales.

3º Discussion.

Nous avons donc vu que différents auteurs estiment que les *Providence* peuvent être cause d'entérites et même de dysenteries. Nos

résultats apportent des arguments supplémentaires en faveur de cette opinion et particulièrement le fait que les examens bactériologiques et parasitologiques poussés auxquels il fut procédé sur les échantillons pathologiques contenant des *Providence* ont permis de retenir une proportion importante, pour lesquels aucune autre cause microbienne ou parasitaire ne pouvait être trouvée pour expliquer le caractère pathologique des échantillons. Et il en est ainsi non seulement pour des échantillons provenant de sujets de tous âges souffrant de troubles intestinaux, mais également pour des échantillons provenant de nourrissons et de jeunes enfants, ce qui implique un rôle étiologique de ces germes dans certains cas de gastroentérites infantiles.

Diverses observations cliniques, dont quelques exemples sont donnés plus haut, appuyent également cette opinion; il en est particulièrement ainsi de cas survenus en cours d'hospitalisation chez des patients admis pour une autre affection, d'autant plus que la démonstration fut également faite de la présence de telles bactéries dans le tube digestif de personnes chargées de la nourriture de ces malades. Particulièrement significatif à cet égard est le fait rapporté plus haut : une de ces mêmes personnes fit peu de temps après un épisode diarrhéique aiguë durant lequel les cultures montrèrent la présence en abondance dans tous les milieux de bactéries du même type, à l'exclusion de toute autre cause microbienne ou parasitaire possible.

L'existence d'un pouvoir pathogène pour l'homme des bactéries de ce groupe ne met d'ailleurs pas ce dernier dans une catégorie à part parmi les Entérobactéries, à côté des Salmonellae, des Shigellae et de certains sérotypes d'Escherichia coli. En effet, des bactéries appartenant à d'autres genres de la famille sont très vraisemblablement des causes plus ou moins fréquentes d'entérites chez l'adulte et sont certainement à l'origine de cas de gastroentérites enfantiles: des affections de ce genre ont en effet été attribuées à des Proteus (voir notamment Graber et Dodd [22] et Lanyi [32]), des Citrobacter ou Ballerup-Bethesda (voir notamment Lutz, Grad et Schaeffer [34]), divers Paracolobactrum (voir notamment Hirszfeldowa et coll. [24]) et même à des bactéries n'appartenant pas aux Entérobactériacées mais trouvées fréquemment dans les selles normales, tels les Alcaligenes faecalis (voir notamment Enjalbert et coll. [17]).

B. Pouvoir pathogène pour la souris.

Le pouvoir pathogène pour l'animal des souches de *Providence* n'a guère été investigué. Brooke [4] toutefois a testé ce pouvoir vis-à-vis de la souris de 11 souches anaérogènes injectées par voie intrapéritonéale. L'inoculum fut constitué par 0,2 ml d'une culture de 18 heures, ainsi que par le même volume d'une dilution au dixième de cette culture.

Une souche sur 11 tua la souris déjà à la dilution au dixième, 7 le firent seulement en culture non diluée et 3 n'eurent pas d'effet léthal.

Nous avons répété cette expérience sur une échelle plus vaste afin de voir si nous obtenions des résultats analogues et dans le but de rechercher une éventuelle différence de pouvoir pathogène suivant le type biochimique ou sérologique des souches.

Technique.

Elle fut analogue à celle de BROOKE: inoculation intra-péritonéale de 0,2 ml d'une culture en eau peptonée de 18 heures et de 0,2 ml d'une dilution au dixième de cette culture au moyen d'eau peptonée. Il fut ainsi testé 58 souches et 116 souris furent donc inoculées.

Résultats.

Sur 58 souches, 4 ont tué les souris injectées de la culture diluée et non diluée et 20 ont tué les souris injectées de la culture non diluée seulement. Par contre 34 souches ne tuèrent aucune souris. Au total donc 42 % des souches eurent un effet pathogène entraînant la mort; dans leur ensemble, les souches de *Providence* ont donc un effet pathogène marqué sur la souris.

Le sang du cœur de toutes les souris tuées a fait l'objet d'une hémoculture, le prélèvement étant effectué avant toute autopsie pour éviter une éventuelle contamination du sang prélevé par des bactéries injectées se trouvant dans la cavité péritonéale. Toutes ces hémocultures ont été positives ; dans chaque cas des bacilles *Providence* du type biochimique injecté ont été retrouvés en abondance. Ceci démontre que les souris injectées par voie intrapéritonéale meurent de septicémie et que les réactions qui déterminent

le type biochimique des bacilles restent stables après passage chez l'animal.

La mort se produisait en général de 20 à 40 heures après l'injection et aucun décès ne s'est plus produit après un délai de 72 heures. A l'autopsie, seule une certaine congestion splénique a parfois été trouvée.

Les onze souches injectées par Brooke étant anaérogènes et virant l'inositol, mais non l'adonitol, appartenaient toutes au biogroupe II. Onze des souches injectées par nous appartenaient également à ce biogroupe. Une seule a tué les souris injectées de la culture diluée et non diluée, 6 ont tué les souris injectées des cultures non diluées et 4 n'eurent pas d'effet léthal. Les résultats sont donc très analogues à ceux de Brooke (respectivement 1, 7 et 3 souches).

Les résultats comparés obtenus avec les souches des biogroupes I et II sont les suivants :

	L '	de souches la souris	Nombre de souches	
	Dilution 1/10	Non diluée	ne tuant pas la souris	Total
Biogroupe I Biogroupe II	3 (6 %) 1 (9 %)	14 (30 %) 6 (55 %)	30 (64 %) 4 (36 %)	47 11

Bien que les souches appartenant au groupe II ne soient pas nombreuses, il semble bien donc que les souches de ce groupe sont plus pathogènes pour la souris que celles du groupe I.

Par contre, les résultats obtenus avec les différents types biochimiques ne permettent pas de conclusion quant à une relation entre type et pouvoir pathogène, sauf en ce qui concerne le type 24 (appartenant au groupe II) : les 5 souches de ce type ont en effet eu toutes un effet léthal sur la souris.

Quant à un rapport éventuel entre le sérogroupe 0 des souches et leur pouvoir pathogène pour la souris, les résultats suivants ont été obtenus :

Groupe sérologique	1/10	1/1	0	Total	
01	1	0	0	1	
0.3	1	1	3	5	
0 12	1	3	5	9	
0 19	1.	4	0	5	
0 32	0	0	3	3	
0.35	0	0	1	1	
0.45	2	3	0	5	
0.52	0	1	0	1	
	6	12	12	30	

1/10: nombre de souches tuant la souris même diluées au 1/10e;

1/1: nombre de souches ne tuant la souris que non diluées;

O: nombre de souches ne tuant pas la souris, qu'elles soient ou non diluées.

On constate donc qu'aucune souche 0 32 ou 0 35 n'a entraîné la mort; que les souches 0 1, 0 3, 0 12, 0 19 et 0 45 se sont montrées capables de tuer la souris même quand elles furent injectées diluées au 1/10°; qu'enfin la souche 0 52 n'a eu d'effet léthal que non diluée. L'effet pathogène fut particulièrement marqué pour les groupes 0 19 et 0 45, les 5 souches de chacun de ces groupes tuant toutes les souris.

Une démonstration définitive du pouvoir pathogène de certains sérotypes ne pourra toutefois être obtenue que sur une base statistique, ce qui implique l'isolement de nombreuses souches de chaque groupe 0; un tel résultat ne sera évidemment pas atteint facilement, vu le nombre considérable de ces groupes.

IX. SENSIBILITÉ DES *PROVIDENCE* AUX ANTIBIOTIQUES ET AUX SULFAMIDES.

Un grand nombre des souches des *Providence* décrites plus haut ont été testées au point de vue de leur sensibilité à 14 antibiotiques et aux sulfamidés par la méthode des disques.

Technique:

Les disques de marque Sebas ont été utilisés (1); la technique et la notation des résultats sont ceux préconisés par le fabricant.

(1) Fabrication Dr WILDE et Cie, Bâle.

Tableau VIII. — Sensibilité aux antibiotiques et aux sulfamidés des Providence appartenant au groupe biochimique I.

	Nombre de souches testées	Nombre de souches testées	S. très faible (9 à 14 mm)	S. très faible S. faible (9 à 14 mm)	S. assez bonne (20 à 23 mm)	S. bonne (24-25 mm)	S. très bonne (Plus de 25 mm)
Pénicilline	94	91,5 %	7.5 %	7.0 %			
Erythromycine (Ilotycine)	08	4.0	23.0	0/0/2	0 2		!
Carbomycine (Magnamycine)	97	98,0	1,0	1,0	s		
Spiramycine (Rovamycine)	97	0.76	1	3.0	Ī		l i
Bacitracine	39	100,0	1	; [١		ľ i
Tétracycline	96	,	12.5	11.5	57.5	91	000
Oxytétracycline (Terramycine)	98	1,0	14.0	31.5	53.5	0	0,4
Chlortétracycline (Auréomycine)	98	43.0	14.0	34.0	000		ļ
Sigmamycine (Tétracy. + Oléandomyc.)	101	<u> </u>	0.7	11.0	0,0	0 26	11
Oléandomycine (Matromycine)	96	0'02	29,0	1.0	·	>	0,11
Streptomycine	82	2,5		41.5	45.0	0.9	0
Chloramphénicol (Chloromycétine)	88	.	ļ	2.0	06	, w	0,0
Polymyxine (Aérosporine)	88	100,0		.		2.	0,00
Néomycine	56	,		64.5	32.0		ەن بىر
Sulfamidés	86	53,0	24,5	21.5	1.0		5, 1

N. B.: Les résultats sont exprimés en % du nombre de souches testées, de manière à faciliter la comparaison des résultats obte-Les résultats les plus fréquents pour chaque antibiotique sont en italique. nus au moyen des différents antibiotiques.

Tableau IX. — Sensibilité aux antibiotiques et aux sulfamidés des Providence appartenant au groupe biochimique II.

	Nombre de souches testées	Nombre de souches Résistants testées		S. très faible S. faible (9 à 14 mm) (15 à 19 mm)	S. assez bonne (20 à 23 mm)	S. bonne (24-25 mm)	S. tres bonne (Plus de 25 mm)
						_	
Pénicilline	10	100 %	1	1	1	l	
Erythromycine (Hotycine)	6	33	26	11	1		1
Carbomycine (Magnamycine)	11	100		Ï	1	1	1
Spiramycine (Royamycine)	1	100			l	1	ļ
Bacitracine	6.	90	10	į		١	1
Tétracycline	11	1	100	<u>_</u>		1	Ţ
Oxytétracycline (Terramycine)	111	18	82	Ί	1	1	į,
Chlortétracycline (Auréomycine)	10	06	10		1	1	Į
Sigmamycine (Tétracy. + Oléando)	11	1	36	<i>‡9</i>	1		ļ
Oléandomycine (Matromycine)	11	16	6	İ	1.		1
Strentomycine	11		46	6	36	6	Ϊ
Chlora mphénicol (Chloromycétine)	10	1	1	40	40	20	
Polymyzine (Adrosporine)	10	100	ĺ		1	1	ĵ.
Néomycine	11	ļ	Í	16	6	ļ	ľ
Sulfamidés	11	64	6	27]	 -	1
N. B.: Les résultats sont exprimés en % des souches testées. Vu le petit nombre de souches isolées appartenant au biogroupe II, ces pourcentages n'ont pas pour but d'exprimer les résultats de façon statistiquement significative, mais uniquement de permettre une comparaison approximative entre les sensibilités des souches appartenant respectivement aux biogroupes I (tableau VIII) et II, en exprimant les résultats de la même manière. Les résultats les plus fréquents sont en italique.	es souches ar les résult oilités des soults. Les résults	estées. Vu ats de faço ouches appa tts les plus f	le petit nomb on statistiquen irtenant respe- réquents sont	re de souches nent significa ctivement aux en italique.	isolées appar tive, mais un c biogroupes	tenant au bic iquement de I <i>(tableau V</i>	groupe II, ces permettre une III) et II, en

Le dosage élevé des disques en antibiotiques permet une classification des souches d'après les résultats dans une des 6 catégories suivantes : résistants (pas de zone d'inhibition), très faiblement sensibles (zone de 9 à 14 mm), faiblement sensibles (zone de 15 à 19 mm), assez sensibles (20 à 23 mm), sensibles (24 à 25 mm), très sensibles (plus de 25 mm), le diamètre des disques étant de 9 mm.

Le dosage antibiotiques dans les disques est fixé de telle façon que ces notations sont valables à la fois pour les sulfamidés et pour 13 des 14 antibiotiques utilisés. En ce qui concerne la Polymyxine (Aérosporine), dont le poids moléculaire est très élevé, il n'est pas possible d'obtenir dans les disques une concentration ayant une efficacité antibiotique analogue à celle des autres substances et les diamètres des zones ont donc une signification différente; il n'y eut pourtant pas lieu de tenir compte de cette particularité pour nos résultats, toutes les souches testées s'étant révélées résistantes à la polymyxine.

Les sensibilités à la sigmamycine, mélange à 67 % de tétracycline et 33 % d'oléandomycine, ont également été mesurées. Cette combinaison très utilisée possède un large spectre antimicrobien et a été démontrée plus active sur certaines bactéries que la somme des activités de ses deux constituants.

Résultats.

Ils furent très nettement différents suivant l'appartenance des souches à l'un ou l'autre des deux grands groupes biochimiques. Ils sont de ce fait rapportés en deux tableaux séparés, les tableaux VIII et IX. D'après les données de ces tableaux et particulièrement d'après les résultats les plus fréquents obtenus pour chaque antibiotique et soulignés dans les tableaux, il a été possible d'établir un classement de ces substances d'après l'efficacité de leur action sur les *Providence* (classement par ordre décroissant d'efficacité) :

	Biogroupe I	Biogroupe II
Très bonne sensibilité :	1 Chloromycétine	
Bonne sensibilité :	2 Sigmamycine	
	3 Tétracycline	
Assez bonne	•	
sensibilité :	4 Streptomycine	1 Chloromycétine
	5 Terramycine	·

	Biogroupe I	Biogroupe II
Faible sensibilité :	6 Néomycine	2 Streptomycine
	7 Erythromycine	3 Néomycine
	•	4 Sigmamycine
Sensibilité très faible	8 Auréomycine	5 Tétracycline
ou résistance :	9 Sulfamidés	6 Terramycine
	10 Oléandomycine	7 Erythromycine
	11 Pénicilline	8 Sulfamidés
	12 Spiramycine	9 Auréomycine
	13 Carbomycine	Bacitracine
	•	Oléandomycine
Résistance constante :	14 Bacitracine	12 Pénicilline
	Polymyxine	Polymyxine
		Carbomycine
		Spiramycine

On constate tout d'abord à l'examen de ces résultats que la sensibilité aux antibiotiques des Providence n'est pas très grande. De plus, les souches appartenant au biogroupe II sont nettement moins sensibles que celles du groupe I, bien que le chloramphénicol soit dans les deux cas l'antibiotique le plus efficace. Outre le chloramphénicol, les souches du groupe I sont également sensibles à la sigmamycine et à la tétracycline.

Pour les diverses tétracyclines, l'ordre d'activité est d'ailleurs le même dans les deux groupes : sigmamvcine d'abord, puis tétracycline proprement dite, puis l'oxytétracycline (terramycine) et enfin chlortétracycline (auréomycine), très peu active.

A l'examen des souches prises individuellement on constate que la sigmamycine est très fréquemment plus active que la tétracycline, qui intervient seulement pour les 2/3 dans sa composition, alors même que le germe est résistant à l'autre composant, l'oléandomycine. Une action synergique analogue de la tétracycline et de l'oléandomycine avait notamment déjà été signalée pour les staphylocogues (Elliott et Hall [16]).

La faible action des sulfamidés sur les Providence est à remarquer ; il n'est pourtant pas impossible qu'une activité thérapeutique efficace puisse être obtenue, tout au moins sur les souches un tant soit peu sensibles, aux concentrations qu'il est possible d'obtenir dans l'intestin. Toutefois, ainsi qu'on l'a vu, la clinique semble bien indiquer que ces bactéries ne sont en général pas éliminées de l'intestin par les sulfamidés non résorbables.

A part la différence très marquée de sensibilité à divers antibiotiques présentée par les souches appartenant aux deux grands groupes biochimiques, il n'a pas été constaté de différences significatives de sensibilité entre les souches appartenant aux différents types biochimiques.

Il en est de même de la sensibilité comparée des souches des différents groupes sérologiques 0; si les souches 0 35 et 0 52 étaient nettement moins sensibles que la moyenne des autres à plusieurs antibiotiques et notamment aux tétracyclines, ce fait peut aussi bien être attribué à l'appartenance de toutes ces souches au biogroupe II.

La sensibilité d'un nombre en général réduit de souches de *Providence* a également été étudiée par la méthode des disques par quelques auteurs : BROOKE [4], PERCH [40], VAN OYE et SCHOETTER [61], HUET [25]. Les résultats sont très analogues aux nôtres. PERCH notamment, comparant les sensibilités de 15 souches du groupe I et de 10 du groupe II, constate également la sensibilité nettement plus faible de ces dernières à divers antibiotiques. La seule divergence notable entre les résultats de certains de ces auteurs et les nôtres concerne la streptomycine et son action sur les souches du biogroupe I : pour nous la sigmamycine et la tétracycline sont plus efficaces vis-à-vis de ces souches que la streptomycine, tandis que HUET et PERCH, sont de l'avis contraire, en se basant il est vrai sur un nombre de tests moins élevé.

Comme nous, enfin, Van Oye et Schoetter insistent sur le fait que

« les sulfamidés, si actifs dans beaucoup d'autres formes de dysenterie n'ont aucune action sur les *Providence* ».

X. Position des *Providence* dans la famille des entérobactériacées.

1. Le groupe Providence et les Shigellae.

Il a été dit plus haut que quelques auteurs (Sachs [48]; Berger en 1945; Maclennan, en 1945) avaient considéré comme des *Shigella* des souches qui furent ultérieurement identifiées comme étant des *Providence*. La similitude des résultats de certaines réactions biochimiques des *Shigellae* et des *Providence* rendent

encore toujours possible une confusion ; il en est ainsi des réactions de recherche de l'uréase, de recherche de la mobilité en gélose molle et des réactions en Kligler's iron agar ou en Triple Sugar Iron Agar, tout au moins pour des souches de Providence immobiles ou très peu mobiles et anaérogènes ou produisant très peu de gaz : en effet une faible quantité de gaz, visible en tube inversé de DURHAM, ne se marque souvent pas en milieu de KLIGLER. La distinction entre Shigellae et Providence est pourtant aisée si l'on pousse un peu les investigations, car la plupart des souches de Providence sont légèrement mobiles et produisent du gaz à partir du glucose : de plus elles croissent sur Simmons' citrate agar et attaquent soit l'adonitol, soit l'inositol. Leur odeur les distingue également des Shigellae, ainsi que la teinte rouge brunâtre qu'elles donnent à la partie supérieure des milieux de Kligler ou TSIA.

Vu ces différences, et d'autres, il va sans dire qu'actuellement personne n'envisage plus de relation taxonomique étroite entre ces deux groupes.

2. Le groupe Providence et la tribu des Proteae.

A. Inclusion du groupe dans la tribu des Proteae.

Ouelle que soit la classification adoptée, l'existence d'une tribu des Proteae dans la famille des Enterobacteriaceae est généralement admise. CIOGLIA [10], par exemple, reconnaît 4 tribus: Salmonellae, Freundiae, Escherichiae et Proteae.

Jusqu'il y a peu, l'inclusion d'une Entérobactérie parmi les Proteae, et a fortiori dans le genre Proteus, se faisait sur la base de la présence d'une uréase chez la bactérie en cause. Il était toutefois admis que cette priorité n'était nullement particulière aux Proteae, car d'autres Entérobactéries la possèdent et notamment de nombreux Aerobacter et Klebsiella (voir exemple Osterrieth [39]). Elle est de plus répandue en dehors de la famille et dans certains groupes on rencontre des souches possédant et d'autres ne possédant pas d'uréase, notamment parmi les Corynébacteries, les Pasteurellae et même parmi les Mycobacterium tuberculosis (TACQUET et coll. [58]).

Bref, la propriété paraissait essentielle aux Proteae, sans leur être spécifique. De ce fait les Providence, par définition dépourvus d'uréase, n'auraient pu être inclus parmi les Proteae.

Pourtant, à part l'absence d'uréase, les propriétés biochimiques

des Providence et celles des Proteus morganii et rettgeri paraissent si voisines qu'il a paru logique à certains auteurs de les inclure dans le même groupe. Singer et Bar-Chay furent les premiers en 1954 [53] à signaler cette analogie, confirmée ensuite par But-Tiaux et collaborateurs [6], par Cowan [13] et par Namioka et Sakazaki [38]. Ewing en 1958 [18] a même fait remarquer la particulière analogie existant entre P. morganii et le biogroupe I des Providence, ainsi qu'entre P. rettgeri et le biogroupe II; le tableau comparatif inclu dans cette publication paraît fort convaincant à cet égard.

L'analogie peut d'ailleurs être même suffisante pour entraîner parfois des problèmes d'identification; il en est ainsi pour certains *Proteus* ayant perdu leur uréase, ce qui se produit occasionnellement chez certains *P. rettgeri*, ainsi que chez des souches de *P. morganii* isolées chez des patients soumis à un traitement intensif au moyen d'antibiotiques, ainsi que l'ont rapporté Buttiaux, Osteux, Fresnoy et Moriamez [8]. Un diagnostic différentiel sûr peut dans ces cas être quasi impossible; le seul élément serait alors donné par la recherche du pouvoir de fermentation de l'érythrite: d'après Kauffmann et Petersen (en 1956) et d'après Namioka et Sakazaki [38] cette substance est attaquée par *P. morganii*, mais non par les *Providence*.

Bref, les analogies en question indiquent que les *Providence* sont très voisins de certains *Proteus*, alors que l'absence d'uréase chez les premiers ne semblait pas permettre leur inclusion dans la tribu des *Proteae*.

Cette difficulté a toutefois été éliminée par les travaux plus récents qui ont montré que toutes ces Entérobactéries, si analogues au point de vue biochimique, possèdent des désaminases pour certains acides aminés et notamment la phénylalanine et le tryptophane, et qu'elles sont les seules à les posséder parmi les membres de la famille (Buttiaux et coll. [6]; Singer et Volcani [54]). C'est la présence de ces désaminases qui incite actuellement à placer une bactérie dans la famille des *Proteae* (Ewing [18]), la présence ou l'absence d'une uréase ne pouvant plus contribuer qu'à la classification dans la tribu.

Les récentes simplifications apportées aux méthodes de détection des désaminases par Ben Hamida et Le Minor [1], par Thi-

BAULT et LE MINOR [59] et par STEWART [55] ayant rendu leur recherche pratiquement aussi aisée que celle de l'uréase, rien ne s'oppose à l'introduction de ces méthodes en bactériologie courante.

Sur cette base, l'appartenance des *Providence* à la tribu des *Proteae* peut donc être considérée comme acquise.

B. Position des Providence dans la tribu des Proteae.

L'hétérogénéité biochimique des *Providence* les a fait subdiviser en deux grands groupes. Ces différences biochimiques sont fort analogues à celles existant entre les espèces *morganii* et *rettgeri*, ainsi que l'a constaté EWING [18].

De ce fait seul il pourrait déjà sembler admissible d'ériger également les deux groupes biochimiques des *Providence* en deux espèces.

Si on considère de plus l'hétérogénéité sérologique de ces deux groupes, telle qu'elle a été exposée au paragraphe VI, et notamment le fait que les souches du biogroupe II se classent dans un nombre limité des nombreux groupes 0, ainsi que les différences marquées de sensibilité aux antibiotiques des souches appartenant respectivement à chacun de ces groupes, l'opportunité d'une distinction en deux espèces apparaît à l'évidence.

Quant au genre dans lequel il y aurait lieu d'inclure ces espèces, il dépend de la conception qu'on se fait de la subdivision en genres de la tribu des *Proteae*.

De nombreuses classifications ont été proposées, dont il n'entre pas dans notre sujet de discuter le bien-fondé. Certains auteurs, comme Shaw et Clarke [51] ne distinguent qu'un seul genre dans la tribu, le genre Proteus; d'autres subdivisent la tribu en 4 genres (Cioglia [10]: genres Hauseria, Morganella, Rettgerella et Providencia) ou en 3 genres (Proom [43]; Namioka et Sakazaki, [38]: genres Proteus, Morganella et Rettgerella, les Providence étant inclus dans les Rettgerella).

1º Si un seul genre est admis, les deux espèces doivent évidemment y être incluses, à côté des espèces vulgaris, mirabilis, morganii et rettgeri.

2º Si plusieurs genres sont admis, deux cas sont possibles:

A. Les espèces morganii et rettgeri sont comprises dans des genres différents (Cioglia, Proom, Namiola et Sakazaki).

Il serait dans ce cas logique de placer chacune des espèces dans le genre où est placée l'espèce morganii ou rettgeri homologue; en effet la différence essentielle ne consisterait qu'en la présence ou l'absence d'une uréase et cette particularité est insuffisante pour justifier le classement dans des genres différents. On peut notamment rappeler à ce sujet que des souches uréase-positives et uréasenégatives sont incluses à la fois dans les genres Aerobacter et Klebsiella.

En d'autres termes, il faudrait distinguer, dans ce cas, dans le genre *Morganella* une espèce *morganii* et une espèce correspondant au groupe I des *Providence*, et dans le genre *Rettgerella* une espèce *rettgeri* et une espèce correspondant au groupe II.

B. Les espèces morganii et rettgeri sont comprises dans un même genre.

Cette solution a été préconisée par EWING en 1958 [18] comme un compromis acceptable entre les diverses classifications proposées pour les *Proteae*.

Ce schéma comprend dans la tribu des *Proteae* toutes les Entérobactéricées désaminase-positives et subdivise cette tribu en deux genres, le genre *Proteus* comprenant les espèces vulgaris et mirabilis et le genre Morganella comprenant les espèces morganii, rettgeri et inconstans (Providence).

Si, comme nous sommes tentés de le faire, on se rallie à ce compromis des deux genres, le schéma ci-dessus devrait être modifié pour tenir compte de la nécessité de reconnaître deux espèces parmi les *Providence* et de l'analogie de chacune d'elle avec une des espèces qui y sont déjà reconnues ; il se présenterait comme suit :

Tribu: Proteae Genre: Proteus Espèces: vulgaris

mirabilis

Genre : Morganella Espèces : morganii
Providence, biogroupe I

rettgeri

Providence, biogroupe II

La distinction entre *Proteus* et *Morganella* se baserait principalement sur la production d'hydrogène sulfuré par les *Proteus* en milieu de KLIGLER ou analogue.

Quant à la dénomination à donner aux deux espèces des Providence, il y a lieu évidemment de tenir compte des noms prioritaires. Le nom de Morganella providenciae pourrait convenir aux souches du groupe I; attribué aux souches isolées le plus fréquemment, il aurait l'avantage de rappeler la dénomination la plus utilisée jusqu'à présent; le nom d'espèce providenciae avait d'ailleurs été donné par Kauffmann en 1954 [30] à tout le groupe. Celui de Morganella inconstans pourrait être attribué aux souches du groupe II, souches anaérogènes comme l'étaient les premières souches décrites par Stuart. Le nom d'espèce inconstans serait prioritaire, datant de 1921, et est adopté pour les Providence par le manuel de Bergey, qui, dans son édition de 1957, désigne ces bactéries sous le nom de Proteus inconstans.

(Laboratoire Médical Provincial, Bukavu).

Nous tenons à remercier vivement de leur collaboration dévouée MM. F. HERMAN et L. VAN DEN BOGAERT, qui ont contribué à l'isolement des souches décrites dans le présent travail, ainsi que M. F. GATERA, pour sa collaboration consciencieuse à l'exécution de nombreuses techniques.

RÉSUMÉ.

Deux cents souches d'Entérobactéries appartenant au groupe Providence isolées au Kivu, sont étudiées au point de vue de leurs propriétés biochimiques et de leur classification. L'auteur décrit cinq types biochimiques non compris dans la classification généralement admise : il étudie les milieux favorables à l'isolement de ces bactéries étudiées et met notamment en évidence l'efficacité du milieu d'enrichissement au sélénite. L'existence au Kivu de toute une série de groupes sérologiques est signalée. L'auteur étudie la fréquence de ces bactéries dans certains produits biologiques ; des Providence furent notamment isolés de 12,8 % des selles d'Africains souffrant de troubles intestinaux. La possibilité d'un rôle pathogène de ces bactéries est étudiée chez l'homme et chez la souris d'expérience. Chez l'homme, cette étude est notamment basée sur la fréquence des échantillons pathologiques d'où furent isolés uniquement des Providence et sur certains cas cliniques ; il en est conclu que ces germes sont à l'origine de certains cas d'entérites de l'adulte et de gastroentérites infantiles.

La sensibilité à 14 antibiotiques et aux sulfamidés de ces germes est étudiée sur un grand nombre de souches. Il en ressort notamment que l'antibiotique le plus actif est le chloramphénicol, tandis que la plupart des souches sont peu sensibles ou résistantes aux sulfamidés.

La position taxonomique des *Providence* est enfin examinée à la lumière des propriétés biochimiques et sérologiques des souches décrites; il en ressort que les deux grands groupes biochimiques des *Providence* devraient être considérés comme deux espèces du genre *Morganella*, tribu des *Proteae*.

SAMENVATTING

Twee honderd stammen Enterobacteriën van de *Providence*-groep, in Kivu afgezonderd, worden bestudeerd op gebied van hun biochemische eigenschappen en hun classificatie. De auteur beschrijft vijf biochemische typen die niet begrepen zijn in de algemeen aangenomen classificatie. Hij bestudeert de middens, gunstig tot de afzondering van deze bacteriën en bewijst de bijzondere doeltreffendheid van het *Selenite F broth* verrijkingsmidden. Het bestaan, in Kivu, van stammen behorend tot een hele reeks serologische groepen wordt ook aangestipt. De auteur bestudeert de frekwentie van deze kiemen in zekere biologische produkten; zij werden namelijk afgezondert uit 12,8 % van al de in het laboratorium onderzochte faeces voortkomend van Afrikanen lijdend aan ingewandsstoornissen.

De mogelijkheid van een ziekteverwekkende rol van deze bacterien wordt bestudeerd bij mens en muis. Bij de mens is deze studie namelijk gegrond op de hoge frekwentie van de pathologische stalen waaruit alleen *Providence* afgezonderd werden en op zekere klinische gevallen; hieruit komt de auteur tot het besluit dat deze kiemen oorzaak zijn van zekere gevallen van enteritis bij volwassenen en van kinder-gastroënteritis.

Op een groot aantal stammen wordt vervolgens de gevoeligheid van deze kiemen aan 14 antibioca en aan sulfamiden bestudeerd. Hieruit blijkt namelijk dat het meest werkzame antibioticum het chloramphenicol is en dat daarentegen de meeste stammen weerstandbiedend of weinig gevoelig zijn aan sulfamiden.

De taxonomische plaats van de bacteriën van de Providencegroep wordt ten slotte onderzocht in het licht van de biochemische en serologische eigenschappen van de beschreven stammen; hieruit blijkt dat de twee grote biochemische groepen van de Providence zouden moeten beschouwd worden als twee Morgella-speciën, behorend tot de Proteae.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BEN HAMIDA, F. et L. LE MINOR: Une méthode rapide de recherche de la transformation de la l-phénylalanine en acide phénylpyruvique (Ann. Inst. Past., 1956, 90, 671-673).
- [2] Bergey, D. H.: Manual of Determinative Bacteriology (The Williams and Wilkins Co, Baltimore, 1945).
- [3] Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Londres, 1957, pp. 367-368).
- [4] BROOKE, M. S.: Biochemical investigations on certain urinary strains of Enterobacteriaceae: (1) B. cloacae, (2) Providence (Acta path. microbiol. scand., 1951, 29, 1-8).
- [5] BUTTIAUX, R., J. FLAMENT et N. BAYLLY: Distinction rapide entre les Salmonellae et les Bacilles paracoli du groupe Ballerup-Bethesda (Ann. Inst. Past., 1952, 83, 156).
- [6] —, R. Fresnoy et J. Moriamez: Les caractères biochimiques du genre *Providencia* (Ann. Inst. Past., Lille, 1954, 6, 62-79).
- [7] —, J. Moriamez et J. Papavassiliou : Méthode simplifiée d'identification des Enterobacteriaceae n'attaquant pas rapidement le lactose (Ann. Inst. Past., 1956, 90, 133-143).
- [8] —, R. OSTEUX, R. FRESNOY et J. MORIAMEZ: Les propriétés caractéristiques du genre *Proteus*. Inclusion souhaitable des *Providencia* dans celui-ci (*Ann. Inst. Past.*, 1954, 87, 375-386).
- [9] Christensen, W. B.: Urea decomposition as mean of differentiating *Proteus* and paracolon cultures from each other and from *Shigella* and *Salmonella* types (*J. Bact.*, 1946, 52, 461).
- [10] Cioglia, L.: Filogenesi e tassonomia delle Enterobacteriaceae (Istituto di Igiene della Universita di Cagliari, 1957).
- [11] Costa, G. A. et I. Suassuna: Sôbre a occurencia de bacilos « paracoli » no Rio de Janeiro (Ann. Microbiol., 1956, 3, 107-116).
- [12] : Sôbre a incidencia do grupo Providencia no Rio de Janeiro (Ann. Microbiol., 1956, 3, 117-123).
- [13] COWAN, S. T.: Taxonomic rank of Enterobacteriaceae groups (J. gen. Microbiol., 1956, 1, 345-358).
- [14] EDWARDS, P. R. and W. H. EWING: A Manual for Enteric Bacteriology (Federal Security Agency, Atlanta, 1951).
- [15] : Identification of Enterobacteriaceae (Burgess Publishing Co, Minneapolis, 1955, pp. 161-163).
- [16] Elliott, H. J. et W. H. Hall: A comparison of erythromycin with oleandomycin in combination with other antibiotics against hospital staphylococci (J. Lab. clin. Med., 1953, 3, 364-375).

- [17] Enjalbert, L., L. Lapchine et Tran-van-Tho: Bacille Alcaligenes faecalis et pathologie humaine, d'après l'étude de 80 souches (Toulouse méd., 1957, 58, 45-60).
- [18] EWING, W. H.: The nomenclature and taxonomy of the Proteus and Providence groups (Int. Bull. bact. Nomencl. Taxon., 1958,
- 8, 1, 17-22).
 [19] et J. L. GARATTI: Shigella types in mediterranean area (J. Bact., 1947, 53, 191).
- [20] —, K. E. TANNER et D. A. DENNARD: The Providence group, an intermideate group of enteric bacteria (J. inf. Dis., 1954, 94, 134-140).
- [21] GALTON, M. M., M. E. HESS et P. COLLINS: The isolation and distribution in Florida of an anaerogenic paracolon type 29911 (J. Bact., 1947, 53, 649).
- [22] GRABER, C. D. et M. C. DODD: The role of Paracolobactrum and Proteus in infantile diarrhoea (Ann. N.-Y. Acad. Sci., 1956, 66, 136-140).
- [23] Henriksen, S. D.: A comparison of the phenylpyruvic acid reaction and the urease test in the differentiating of *Proteus* from enteric organisms (*J. Bact.*, 1950, 60, 225).
- [24] HIRSZFELDOWA, H., Z. SKURSKA, J. ZOPOTH, J. SIGNATOWICZ et W. Haas: Investigations on aerobic enteric bacteria in infantile diarrhoea with special reference to Paracolobactrum (*Med. dosw. Mikrobiol.*, 1956, 8, 405-426).
- [25] HUET, M.: Résultats des coprocultures chez 400 enfants diarrhétiques pendant la période estivale en Tunisie (Arch. Inst. Past. Tunis, 1957, 34, 233-243).
- [26] et M. CARUANA: Résultats des coprocultures pratiquées sur 500 enfants pendant la période hivernale en Tunisie (Arch. Inst. Past., Tunis, 1956, 33, 477-489).
- [27] International bulletin of bacteriological nomenclature and taxonomy (1958, 8, 51-52).
- [28] KAUFFMANN, F.: Enterobacteriaceae (Ejnar Munksgaard, Copenhague, 1951, p. 249.
- [29] —: On the classification and nomenclature of the Enterobacteriaceae (Riv. Istit. sieroter. ital., 1953, 28, 485).
- [30] —: Enterobacteriaceae (Ejnar Munksgaard, Copenhague, 1954, p. 321).
- [31] —: On biochemical investigations of Enterobacteriaceae (Acta path. microbiol. scand., 1956, 39, 85-93).
- [32] Lanyi, B.: Serological typing of *Proteus* strains from infantile enteritis and other sources (*Acta microbiol. Acad. Sci. Hung.*, 1956, 3, 417-428).
- [33] LE MINOR, L.: Les entérites bactériennes. État actuel de nos connaissances sur leur étiologie. Perspectives d'avenir (Rev. franç. Et. clin. biol., 1956, 1, 346-354).

- [34] LUTZ, A., C. GRAD et A. SCHAEFFER: Recherches sur la fréquence et la sensibilité à dix antibiotiques et à la Furadoïne de *Citrobacter* (Bethesda) (*Ann. Inst. past.*, 1959, 97, 248-252).
- [35] MOELLER, V.: Activity determination of aminoacid decarboxylases in Enterobacteriaceae (*Acta path. microbiol. scand.*, 1954, 34, 102-114).
- [36] —: Diagnostic use of the Braun KCN test within the Enterobacteriaceae (Acta path. microbiol. scand., 1954, 34, 115-126)
- [37] Motl, J.: The decomposition of indole by strains of the group Providencia (Ceskoslov. Epidemiol. Mikrobiol. Immunol., 1957, 6, 60-63).
- [38] Namioka, S. et R. Sakazaki : Étude sur les Rettgerella (Ann. Inst. Past., 1958, 94, 485-499).
- [39] OSTERIETH, P.: Propriétés biochimiques des Klebsiella (Ann., Soc. belge Med. trop., 1958, 38, 721-730).
- [40] Perch., B.: Om Proteusgruppens Serologi (Nyt. Nordisk Forlag, Copenhagen, 1950).
- [41] —: Sensitivity of *Proteus* and *Providencia* to eight antibiotics and sulfathiazole (*Acta path. microbiol. scand.*, 1954, **35**, 278-286).
- [42] Plass, H.: Outbreak of diarrhoeal disease associated with paracolon (J. Lab. clin. Med., 1947, 32, 886).
- [43] PROOM H.: Amine production and nutrition in the *Providence* group (*J. gen. Microbiol.*, 1955, 13, 170-175).
- [44] et A. J. Wolwood: Amine production in the genus *Proteus* (J. gen. Microbiol., 1951, 5, 930).
- [45] RAVISSE, P.: Contribution à l'étude des Entérobactéries du Moyen-Congo (Bull. Soc. Path. exot., 1958, 51, 443-448).
- [46] RIDGE L. et M. THOMAS: Infection with the Providence type of Paracolon bacillus in a residential nursery (J. path. Bact., 69, 1955, 335-339).
- [47] RUSTIGIAN, R. et C. A. STUART: Biochemical and serological relationship of genus Proteus (J. Bact., 1945, 49, 419).
- [48] Sachs, A.: A report of an investigation into the characteristics of new types of non-mannitol fermenting bacilli isolated from cases of bacillary dysentery in India and Egypt (*J. Roy. Army Med. Corps*, 1943, 80, 92-99).
- [49] SCHMID, E. et T. VELAUDAPILLAI: A *Providence* organism related to S. milwaukee (*Japan. J. med. Sci.*, 1954, 7, 169).
- [50] Senecal, J.: Les diarrhées infantiles en Afrique Occidentale française (Bull. Org. mond. Santé, 1959, 21, 321-336).
- [51] SHAW, C. et P. CLARKE: Biochemical classification of *Proteus* and *Providence* cultures (*J. gen. Microbiol.*, 1955, 15, 155-161).
- [52] SINGER, J.: Cultures of Enterobacteriaceae. III. Detection of urease and indol in a single medium (Am. J. clin. Path., 1950, 20, 880).
- [53] et J. Bar-Chay: Biochemical investigation of *Providence* strains and their relationship to the *Proteus* group (J. Hyg., 1954, 52, 1-8).

- [54] et R. Volcani: An improved ferric chloride test for differentiating *Proteus-Providence* group from other Enterobacteriaceae (*J. Bact.*, 1955, **69**, 303-306).
- [55] STEWART, D.: The phenylalanine test on Kligler's iron agar for the identification of *Proteus* (*Nature*, 1959, **183**, 1537-1538).
- [56] STUART, C. A., K. M. WHEELER, R. RUSTIGIAN et A. ZIMMERMAN: Biochemical and antigenic relationships of the paracolon bacteria (*J. Bact.*, 1943, 45, 101).
- [57] —, K. M. Wheeler et V. McGann: Further studies on an anaerogenic paracolon organism type 29911 (J. Bact., 1946, 52, 431).
- [58] TACQUET, A., C. GERNEZ-RIEUX et B. GAUDIER: L'hydrolyse de l'urée par les Mycobactéries (Ann. Inst. Past., 1954, 87, 355).
- [59] Thibault P. et L. Le Minor: Méthodes simples de recherche de la lysine-décarboxylase et de la tryptophane-désaminase à l'aide des milieux pour différenciation rapide des Entérobactéries (Ann. Inst. Past., 1957, 92, 551-554).
- [60] VAN OYE, E.: Réactions biochimiques des germes du groupe Providence (Famille Enterobacteriaceae) (Communication nº 5 du Centre d'étude et de diagnostic des Entérobactéries pathogènes (Léopoldville, 1958. Non publié).
- [61] et M. Schoetter: Les bacilles du groupe *Providence*, facteurs étiologiques de syndromes de dysenterie (*Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 1954, 34, 999-1007).
- [62] Varela, G.: Germenes del genero *Providencia* de los serotipos 14 y 15 (Rev. Inst. Salubr. Enferm. trop., 1955, 15, 229-231).

TABLE DES MATIÈRES

I. Introduction	3
II. Définition du groupe Providence	3
III. Milieux de culture et d'enrichissement favorables aux <i>Pro-vidence</i> . — Aspect des colonies	6
IV. Propriétés biochimiques des Providence	10
V. Classification biochimique	21
VI. Propriétés et classification sérologiques	25
VII. Fréquence des Providence dans les produits biologiques	29
VIII. Pouvoir pathogène	31
IX. Sensibilité des <i>Providence</i> aux antibiotiques et aux sulfamides	44
X. Position des <i>Providence</i> dans la famille des Entérobactériacées	49
Résumé	55
Samenvatting	56
Bibliographie	57
Table des Matières	61





