

La Lysotypie d'une Collection de Souches Iranienne de *Salmonella Typhi*

K. BADALIAN *

Depuis la fin de la dernière guerre mondiale, la fièvre typhoïde est en nette régression dans la plupart des pays. Les contaminations hydriques, autrefois fréquentes et massives, sont devenues exceptionnelles.

En revanche, les contagions par les porteurs de germes, directement ou par l'intermédiaire d'aliments, de boissons ou d'objets souillés, demeurent fréquentes.

Pour des fins épidémiologiques, il est intéressant de pouvoir subdiviser des espèces pathogènes, comme *Salmonella typhi* ou *Salmonella paratyphi B.*, en variétés différentes. On est parvenue à subdiviser ces espèces par la lysotypie (1) et (4).

Le but de ce travail est de montrer que ce sont les lysotypes de *Salmonella typhi* prédominant en Iran. De plus, nous avons étudié les relations entre les lysotypes et la réaction de Kristensen, la recherche de la Réductase du tétrathionate et la propriété colicinogène comparativement avec les propriétés des souches d'autres provenances.

— Ce travail a été fait à l'Institut Pasteur de Paris

* Professeur adjoint de la Faculté d'Hygiène,
Université de Téhéran, B.P. 1310.
Reçu pour publication Octobre 1971.

Matériel et Technique

L'étude a été faite sur 493 souches de *Salmonella typhi* isolées en Iran, à partir des selles provenant des malades hospitalisés ou adressées au laboratoire de l'Institut d'Hygiène. Une grande quantité de ces souches a été adressée à Monsieur le Dr. Nicolle par le Dr. Machoon de l'Institut Pasteur de Téhéran.

Pour apporter plus de précision à notre travail, nous avons refait et complété l'indentification biochimique et sérologique de ces souches. Les formules des milieux et des techniques peuvent être trouvées dans l'ouvrage "Le diagnostic de laboratoire des Entérobactéries" de Léon Le Minor (2).

Après réisolement sur le milieu de Drigalski on ensemence les bacilles, à partir d'une colonie isolée sur les milieux de culture suivants:

1. Une gélose profonde V.F. pour contrôle de la culture en aérobie et en anaérobie.
2. Un bouillon au nitrate de potassium pour la recherche de la réduction des nitrates en nitrites.
3. Pour exalter la mobilité, nous avons employé l'ensemencement soit en milieu de Craigie, soit en tube en U, soit en milieu de Sven Gard suivi de la recherche de l'antigène H.
4. Pour la recherche de l'utilisation et de la fermentation des sucres, les milieux sucrés suivants ont été employés.

Xylose, Arabinose, Adonitol, Rhamnose, Glucose, Mannitol, Sorbose, Sorbitol, Dulcitol, Lactose, Maltose, Sacharose, Tréhalose, Inositol, Salicine.

Nous avons ensemencé des eaux péptonées additionnées de 0.5 % de sucre. L'indicateur de pH employé fut le bleu de bromotymol.

5. D'autres part, on a ensemencé parallèlement un milieu glucose-lactose-SH₂, qui peut servir si le germe est lactose négatif, à faire la recherche de la B-galactosidase.
6. Pour la recherche de l'inhibition par le CNK, on ensemence un milieu de Braun.

7. La lysine décarboxylase (LDC) est recherchée soit sur le milieu glucose-lactose-SH₂, soit sur le milieu de Carlquist.
8. L'ornithine décarboxylase (ODC) et l'arginine dihydrolase (ADH) sont recherchées sur le milieu de Falkov sans péptone (Richard).
9. Enfin nous avonsensemencé un milieu pour la recherche de la tétrathionate-réductase, réaction auxiliaire importante pour compléter la lysotypie des bacilles typhiques.

Technique et Méthode de la Lysotypie

Nous avonsensemencé toute la surface de la plaque de gélose, soit en déposant quelques gouttes d'une culture jeune des souches à lysotyper, en les étalant avec un étaleur de verre préalablement flambé et refroidi, soit en inondant toute la surface de la gélose par plusieurs millilitres de culture en milieu liquide et en aspirant l'excès de cette culture au moyen d'une aspiration mécanique (pipette effilée et reliée à une fiole de Kitaskato, connectée elle-même avec une trompe à eau ou une pompe à vide). Il conviendra de placer dans la fiole un certain volume (20 à 50 cm³) d'une solution antiseptique comme par exemple de l'eau de javel.

Les plaques de gélose sont laissées quelques minutes à 37°. Ensuite, nous avons déposé des gouttes de phages. Après une nuit d'incubation, nous avons fait la lecture, qui a donné des résultats suivants:

Tableau 1 — Résultat de la lysotype des Salmonella typhi isolées en Iran de 1948 à 1965.

A = 13, 18%	B = 0, 18%	B2 = 0, 10%	B3 = 0, 60%
C1 = 0, 20%	D1 = 2, 63%	E1 = 4, 46%	E2 = 0, 20%
E3 = 0, 20%	F1 = 26, 57%	G = 6, 49%	M1 = 0, 81%
N = 3, 65%	T = 1, 21%	28 = 1, 82%	29 = 0, 20%
36 = 0, 40%	40 = 0, 60%	groupe aliénosensible 20/28%	groupe I + IV = 12, 17%
Vi = 2, 63%			

Recherche des Propriétés Biochimiques

Sur un nombre important de souches isolées en Iran, nous avons effectué la réaction biochimique de Kristensen vis-à-vis du xylose et de l'arabinose. Sans oublier la possibilité des souches xylose positives et arabinose positives et des souches xylose négatives et arabinose positives toujours extrêmement rares, les souches que nous avons étudiées pouvaient être subdivisées en deux variétés:

1 — Xylose⁺ — Arabinose⁻ = Chimiotype I

2 — Xylose⁻ — Arabinose⁻ = Chimiotype II

Nicolle et ses collab. ont constaté (3) que sur 9453 souches de *S. typhi*, certains lysotypes étaient toujours ou presque toujours du chimiotype I:

C1 = Cosmopolite E et sa variété centre africaine, C4, D2, D4, E1, E9, E10, F1, J, J2, J3, 37.

D'autres souches sont par contre toujours ou presque toujours du chimiotype II:

B2, M1, M2, M3, M4, 40-42.

Toutefois un grand nombre de souches sont biochimiquement mixtes:

A1, D1, D6, E4, N, O, T et les souches non lysotypables (groupe I et IV, groupe aliénosensible, et des souches Vi négatives). Pour les souches iraniennes, nous avons trouvé également ces trois groupes:

1. lysotypes de chimiotype I:

O1, D1, E1, F1, G, N, 36.

2. Lysotypes du chimiotypes II:

M1, T, 29.

3. Lysotypes biochimiquement mixtes:

A1, 28, 40 groupes I + IV, groupe aliénosensible et groupe des souches Vi négatives.

Les différences observées entre nos résultats et ceux des auteurs précités, sont dues au nombre plus faible des souches iraniennes.

Recherche de la Réduction du Tétrathionate

Nicolle et le Minor (6) ont montré que sur un total de 1978 souches de

S. typhi de toutes provenances, la recherche de la réductase du tetrathionate a donné un résultat positif dans 80,23 % et négatif dans 19,77 % des cas.

Les pourcentages de fréquence de l'enzyme varient avec l'origine géographique des souches: en Europe, en Afrique du Nord, au Moyen Orient et en Amérique, ils sont voisins de 100; ils tombent à 97,13 % en Afrique Noire, à 87,63 % à Madagascar, à 78,95 % dans les Caraïbes et à 55,17 % en Extrême Orient (Vietnam, Cambodge). Partout, même dans cette dernière région, certains lysotypes sont toujours ou presque toujours TTR⁺. D'autres, au contraire, et surtout les deux groupes de souches Vi positives non lysotypables, le groupe I + IV et le groupe aliénosensible, comprenant dans leur variété xylose positive, de nombreuses souches sont TTR négatives.

Les souches colicinogènes de *S. typhi* appartenant pour la plupart au lysotype 40 et au groupe I + IV xylose négatif sont presque toujours TTR positives.

La recherche de l'enzyme, en conjonction avec la lysotypie, les lysotypies complémentaires, la différenciation biochimique par l'utilisation ou la non-utilisation du xylose et la recherche de la propriété colicinogène, présentent un grand intérêt pour les fins épidémiologiques.

Sur 493 souches examinées nous avons obtenu les résultats suivants qui figurent au Tableau No. 2.

Tableau 2 — Recherche de tétrathionate.

A =	TTR	+	= 84, 78%	D1 =	TTR	+	= 62, 50%
	TTR	—	= 15, 2%		TTR	+	= 37, 50%
B1 =	TTR	+	= 78, 57%	G =	TTR	+	= 51, 72%
	TTR	—	= 21, 42%		TTR	—	= 48, 27%
Aliéno =	TTR	+	= 13, 04%	I + IV =	TTR	+	= 5%
	TTR	—	= 52, 17%		TTR	—	= 95%

Recherche de la Propriété Colicinogène

On sait que les colicines sont fréquentes parmi certaines souches de *Salmonella*, en particulier parmi celles de *S. typhimurium*. Au contraire, elles sont très rares parmi les souches *S. typhi* et surtout *S. paratyphi B*.

Nicolle et Prunet (5), étudiant la propriété colicinogènes parmi 1962 souches de *S. typhi* de toutes provenances et appartenant à de nombreux lysotypes et au groupe de souches Vi positives non lysotypable (groupe I + IV), ont trouvé 150 souches douées de la propriété colicinogène.

Nous avons utilisé pour la recherche de la propriété colicinogène, les techniques classiques et plus particulièrement celles qui ont été décrites par les auteurs précités. Sur 145 souches nous n'avons réussi à mettre en évidence la propriété colicinogène que pour une seule d'entre elles. Cette unique souche capable d'élaborer une colicine, appartient au groupe I + IV, xylose négative. Ceci donne un pourcentage de positivité de 0,8 %, du même ordre, bien qu'un peu inférieur, aux résultats trouvés par les auteurs français.

D'après ces derniers, les souches colicinogènes appartenaient au lysotype 36 (2 sur 4), au lysotype 28 (1 sur 29), au lysotype 40 (96 sur 96), au groupe I + IV, xylose⁺ (1 sur 88), au groupe I + IV, xylose⁻ (51 sur 102) et au groupe aliénosensible xylose (1 sur 72).

Conclusion

La lysotypie a été effectuée sur 493 souches iraniennes. Elle a montré pour le bacille typhique la prédominance de lysotype F1 sur les 18 lysotypes identifiés et sur les deux groupes non lysotypable (I + IV et aliénosensible).

La réaction de Kristensen a montré que les lysotypes obéissent dans l'ensemble, aux mêmes règles biochimiques que dans les autres pays du monde.

1. Certains d'entre eux, les plus nombreux, sont toujours ou presque toujours xylose positifs et arabinose négatifs.
2. D'autres moins nombreuses sont toujours ou presque toujours xylose négatifs et arabinose négatifs.
3. Enfin un troisième groupe est formé de souches biochimiquement

mixtes.

La recherche de la réductase de tétrathionate a montré qu'une grande majorité de souches possèdent l'enzyme, comme cela a été constaté par d'autres travaux.

Enfin la propriété colicinogène n'a été trouvée que pour une seule souche qui appartenait au groupe non lysotypable I + IV xylose négatif.

Résumé

La lysotypie a été effectuée sur 493 souches de *Salmonella typhi* iraniennes. Elle a montré, pour bacille typhique, la prédominance du lysotype F1 sur 18 lysotypes identifiés.

La réaction de Kristensen a montré que les lysotypes obéissent au même règles biochimiques que dans les autres pays du monde.

Une grande quantité de souches possède l'enzyme de la réductase de tétrathionate, comme cela été constaté par d'autres travaux.

Enfin, la propriété colicinogène n'a pas été trouvée que par une seule souche qui appartenait au groupe non-lysotypable I + IV.

Summary

A total of 493 of *Salmonella typhi* were phage typed the most predominant among these being type F1. Kristensen reaction showed that the lysotypes identified in Iran follow the same biochemical pattern as the lysotypes isolated in other countries. As observed in other areas a great majority of our strains also possess the tetrathionate reductase enzyme.

Colicinogene property was found to be present in only one of the strains. This strain was classified as not typable and belonged to group I + IV xylose negative.

Bibliographie

1. Adams H. M. (1959). *Bacteriophages*, 395-419, Interscience Publishers, Inc. New York.

2. Le Minor L. (1967). *Le Diagnostic de Laboratoire des Entérobactéries*, 3ème Edition, 11, 153, Tourelle, Paris.
3. Nicolle P. Nicolle J. et Divernau G., et Col. (1961). Recherche sur le comportement fermentatif des bacilles typhiques à l'égard du xylose naturel D (+) et de son inverse optique (—). *Ann. Inst. Pasteur*, 101, 211-223.
4. Nicolle P. (1963). *Les Bactériophages et la Lysotypie*. Traité de biologie appliquée. Chapitre VII, 393, Malonie, Paris.
5. Nicolle P. Prunet J. (1964). La propriété colicinogène dans l'espèce *Salmonella typhi*. *Ann. Inst. Pasteur*, 107, 174-189.
6. Nicolle P., Le Minor L. (1965). Sur la présence ou l'absence de la Réductase du tétrathionate dans une collection de bacilles typhiques de provenances variées, *Ann. Inst. Pasteur*. 108, 501-513.

J'exprime mes remerciements à Monsieur P. Nicolle et à ses collaborateurs et également à Monsieur le Professeur L. Le Minor et à ses collaborateurs pour avoir guidé mon travail.