

## 58

### ÉCOLOGIE DES VIBRIONS PATHOGÈNES

A. DODIN, M. DOSSO, coll. tech. de M. GUILLOU

Institut Pasteur, 25 rue du Docteur-Roux, 75015 PARIS (FRANCE)

RÉSUMÉ - Il n'existe aucun test biochimique permettant de définir la pathogénéité d'une bactérie, encore moins pour les *Vibrionaceae*. Du fait du grand nombre de bactéries voisines de ce groupe, il est nécessaire de définir l'action physiopathologique de ces bactéries pour en faire le diagnostic. Deux caractères essentiels sont à retenir pour faire du germe isolé le responsable de la maladie :

- 1) Le facteur d'attachement : la détermination en est difficile mais la double diffusion en gélose devrait simplifier la méthode ;
- 2) La recherche de toxine cholérique ou d'une partie commune avec la toxine cholérique (toxine LT ou ST d'*E. coli*). Ici encore, des techniques simplifiées peuvent être mises en œuvre.

L'acquisition d'un plasmide responsable du facteur d'attachement ou de la production de la toxine chez des *Vibrionaceae* non pathogènes est à l'origine de certaines épidémies en France et dans le monde, l'acquisition de plasmides se faisant dans des conditions bien particulières. Fréquemment, les épidémies dues à des germes banaux (*Aeromonas hydrophila* en Afrique) font suite à des épidémies de choléra. C'est pourquoi il est nécessaire de bien connaître la carte de répartition des bactéries génétiquement susceptibles d'être pathogènes, d'une part, le vibron cholérique ubiquiste quant à ses sites écologiques hors épidémie, d'autre part, des vibrions halophiles présents essentiellement dans les milieux salés aqueux côtiers ou lagunaires, hôtes très fréquents des fruits de mer d'où des intoxications alimentaires, des *Vibrionaceae* contaminants normaux de certaines eaux d'alimentation.

Une place particulière doit être faite à certains vibrions halophiles contaminant des orifices naturels (oreilles, sinus) ou même septicémiques.

ABSTRACT - There exists no biochemical test allowing to define the pathogenicity of a bacterium, still less for a *Vibrionaceae*. From the great number of bacteria closely related to this group, it is necessary to define the physiopathological action of these bacteria to make up a diagnosis. Two essential characters are to be retained to hold responsible an isolated germ, for an illness :

- 1) the binding factor, the identification is difficult but a double diffusion of agar should simplify the method ;
- 2) the search for the choleric toxin or a common part of the choleric toxin (toxin LT or ST of *E. coli*). Here again, simplified techniques may be used.

The acquirement of a plasmid responsible for the binding factor or for the toxin production of the non pathogenic *Vibrionaceae* is the origin of certain epidemic diseases in France and in the world, acquiring the plasmid is achieved in very particular conditions. Frequently, epidemics are due to banal germs (*Aeromonas hydrophila* of Africa) lead to cholera outbreaks. That is why, it is necessary to have a thorough knowledge of the distribution map of bacteria genetically capable of being pathogenic :

- on one hand, the ubiquitous choleric vibrio regarding their ecological sites out of the disease outbreak ;
  - on the other hand, the halophilous vibrio essentially present in the marine or lagoon environments, frequently host of seafoods resulting in food intoxication, *Vibrionaceae* normal contaminants of certain drinking water.
- A particular place must be reserved to certain halophilous vibrio which contaminate natural orifices (ears, sinus) or even septicæmia.

### INTRODUCTION

C'est un monde bien étrange que celui des Vibrions, plus encore quand il s'agit des Vibrions pathogènes.

Dès 1773, Otto Fridrich Muller avait observé 6 espèces de vibrions qu'il appelait *V. lincola.*, *V. rugula*, *V. bacillus*, *V. ondula*, *V. serpens*, *V. spirillum* et Pasteur, vers 1863, (Gazette Médicale du 19 juin), attribuait le processus de putréfaction à 6 types de vibrions (*V. lincola*, *V. rugula*, *V. trumulans*, *V. prolifer*, *V. subtilis*, *V. bacillus*). Mais il revenait à Koch après observation de Pacini en 1855 de formes vibronées dans les selles de 4 cholériques, d'isoler et de rapporter la maladie cholérique à *Vibrio comma*, le Vibron cholérique en 1893 à Alexandrie.

C'était la première maladie décrite rapportée à un vibron ; il fallut ensuite attendre 67 ans pour que Fujino en 1950 authentifie une intoxication alimentaire due à un autre type de *Vibrio*, *Vibrio parahemolyticus*. La taxonomie a bien sûr fait son œuvre dans cette famille des *Vibrionaceae*, le nombre d'espèces ne cesse de s'accroître. Dans le milieu marin, mais également dans l'eau douce, un grand nombre de vibrions ne sont pas encore décrits. Quant aux vibrions pathogènes, nous commençons à les appréhender un peu mieux et surtout à mieux connaître leurs différentes modalités écologiques chez l'hôte et dans l'environnement, les études avec le Vibron cholérique ayant servi de locomotive.

### BACTÉRIOLOGIE DES VIBRIONS PATHOGÈNES (tab. 1)

	<i>V. cholerae</i> O1	<i>V. cholerae</i> O1 mimicus	<i>V. non</i> O1	<i>V. fluvialis</i>	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. parahemolyticus</i>	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. costicola</i>	<i>V. anguillarum</i>	<i>Pl. shigelloides</i>	<i>A. hydrophila</i>	<i>V. metchnikovi</i>
Oxydase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0
LDC	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-
ODC	+	+	+	-	d	d	d	-	-	+	-	-
ADH	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-
Gaz en glucose	-	-	d	d	-	-	-	d	-	-	d	-
Indole	+	+	+	.	.	+	+	-	+	+	d	d
ONPG	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
TTR	-	-	-	ND	-	+	+	-	d	-	d	-
Mannitol	+	+	+	+	d	+	+	+	+	-	+	+
Inositol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	d
Saccharose	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+
VP	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	d	d
Gélatinase	+	+	+	+	+	+	+	-	d	-	d	+
O/129	+	+	+	S	S	+	+	S	S	+	+	S
Tolérance en ClNa g/100	0 à 5	0 à 5	0 à 5	0,1 à 7	0,5 à 6	0,5 à 8	0,5 à 10	1 à 12	0,2 à 2,6	0 à 4	0 à 4	0,5 à 25
Nitrate Réductase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Choléra Toxine	+	+	0	0	0	d	d	0	0	+	+	0

Tableau 1 : Caractéristiques biochimiques des vibronacées pathogènes.

Les caractères biochimiques des *Vibrionaceae* pathogènes sont résumés dans le tableau 1.

Il est bon de souligner dès maintenant que la taxonomie ne peut faire la preuve d'un quelconque pouvoir pathogène de ces germes. Tous les tests décrits n'ont pas fait leur preuve et nous devons essentiellement avoir recours à l'immunologie pour établir un diagnostic de Vibrions cholériques pathogènes d'autant plus important qu'il entraîne la détermination des mesures sanitaires nationales et internationales immédiates.

**Les vibrions halotolérants** ont pour exemple le vibron cholérique le plus important. Où en sommes-nous actuellement ? Selon l'OMS, tout germe vibroné, mobile, gram négatif, oxydase +, agglutiné par un sérum OMI est un Vibron cholérique et doit faire l'objet de mesures sanitaires. C'est une définition essentielle qui évitera le pire.

Sur le fait de son isolement chez un porteur sain, *V. Cholerae* El Tor était réputé non pathogène ; on sait maintenant son rôle déterminant dans la VII<sup>e</sup> pandémie et le nombre de morts qu'il a provoqué et provoque chaque jour en Afrique. Après Gallut et Grabar, la mise en évidence par Finkelstein de la toxine de *V. cholerae* a amené des progrès sensibles dans la connaissance de la physiopathologie du choléra et des rapports hôte-vibrions cholériques. La fixation de la sous-unité B sur le ganglioside de l'hôte, l'activation de l'adénylcyclase et de l'AMP cyclique par la sous-unité A de la toxine, permettent d'expliquer la fuite de l'eau et des sels hors des tissus et de l'individu, d'où les différents symptômes de la maladie. Il semblait donc logique d'attribuer à la présence de la toxine dans une bactérie le pouvoir pathogène de celle-ci. Cependant, bon nombre de vibrions cholériques agglutinés par le sérum OMI ne possèdent pas de toxine et sont isolés de sujets malades ou morts. La recherche de toxine n'est donc pas suffisante. Une souche véritablement pathogène doit posséder en outre un facteur d'attachement sur les cellules intestinales du duodénum. Ce facteur d'attachement est responsable de l'agglutination OMI. Il a été isolé et il existe de même qu'il existe un sérum antitoxine cholérique permettant de rechercher l'un et l'autre déterminant sur une souche isolée par une technique simple mise au point au laboratoire et dérivée du Biken-test. (Dodin, 1983).

Mais, "par pitié", sur un plan de santé publique, ne portez le diagnostic de Vibron cholérique que si celui-ci est agglutiné par un sérum OMI, c'est nécessaire et suffisant.

Il existe bien sûr des *Vibrio cholerae* non 01 qui possèdent une toxine de type cholérique et qui sont isolés de malades diarrhéiques, ces vibrions ne possèdent pas de facteurs d'attachement et en général ne donnent pas lieu à diffusion. Il s'agit d'épidémies très localisées, familiales le plus souvent. Ce sont les anciens vibrions Nag NVC.

C'est pourquoi, dans l'ignorance où nous sommes du mode d'expression de cette toxine (plasmides), il est nécessaire de rester prudent dans la détermination du Vibron cholérique. Chez les vibrions NVC, nous avons trouvé :

9/24 déterminant ST, 8/24 déterminant LT, 7/40 déterminant Tx Ch<sup>+</sup>

Huchet, dans sa thèse en 1984 (Poitiers), signale deux cas de septicémie à *V.* non 01.

Deux vibrionacées, non vibrionées, *Plesiomonas shigelloides* et *Aeromonas* sont responsables de diarrhées sous les Tropiques et assez fréquemment.

En ce qui concerne *Plesiomonas shigelloides*, certaines possèdent des déterminants toxinogènes et également des facteurs d'attachement qui leur sont propres. Il en est de même pour les *Aeromonas* et plus particulièrement *A. sobria* chez qui nous avons pu mettre en évidence la production d'une toxine de type cholérique. Ceci peut donc expliquer cela.

**Les vibriens halophiles.** Leur besoin en sel peut varier de 0.1 à 25 % ; pas obligatoirement d'ailleurs ClNa qui peut être remplacé par ClK dans certaines limites.

Le plus important, le premier décrit comme responsable de diarrhées, type intoxication alimentaire, est *Vibrio parahemolyticus* (1,2,3). (Battey *et al*, 1970, Bockemuhl *et al*, 1975, Boudon *et al*, 1973).

Beaucoup de *Vibrio parahemolyticus* sont isolés sur les Côtes de France et 1 seul cas de diarrhée dans lequel ce germe est impliqué a été décrit ici même par Boudon, 1973 alors qu'au Japon, les intoxications alimentaires sont nombreuses. Avec le test Kanagawa, avec le test de l'hémolyse, on a essayé de déterminer le pouvoir pathogène de ce type de germes. Iijima et coll. (1981) ont pu montrer que ces tests n'avaient pas de valeur et que par contre, un rapport certain existait entre les possibilités d'adhérence de *Vibrio parahemolyticus* sur des cellules humaines en subcultures et son pouvoir pathogène. Ces travaux ont été confirmés par Merelle et coll. en 1984.

Nous avons pu mettre en évidence la présence de déterminants toxiques dans les cultures de *Vibrio parahemolyticus*. Ces déterminants ne répondent pas à des sérums anti-toxine cholérique, mais à des sérums anti-toxines S.T. et L.T d'*E coli* pour certaines souches. Sur 14 souches, 3 étaient porteuses de déterminants S.T. et 4 de déterminants L.T., toutes provenant de selles.

Un certain nombre d'autres vibriens halophiles ont fait la preuve d'un pouvoir pathogène digestif mais aussi pyogène et septicémique.

*V. alginolyticus*, en dehors d'une action pathogène sur les élevages de puces de mer d'un de nos collègues qui prépare sa thèse, a été retrouvé dans différentes plaies ou pus d'otites, dans des brûlures et même dans des hémocultures dans le sang des brûlés (Hansen *et al*, 1979 ; Merrel *et al*, 1985).

*Vibrio fluvialis* (ancien groupe F ou EF6) et *V. vulnificus* ont été signalés comme responsables de diarrhées, (Un *Vibrio vulnificus* isolé en Argentine est agglutiné par le sérum OM1 et possède un facteur d'attachement identique à *V. cholerae*. C'est donc un véritable vibriion cholérique). Pour être complet, je dois signaler que les Drs Leblanc Cuziat (de St-Nazaire) ont isolé sur des cadavres d'individus, morts par submersion, dans 2 hémocultures *V. vulnificus* et sur 2 pus d'otites chez deux noyés, un *Vibrio* non 01 (sérotypé Jérusalem) et un *Vibrio alginolyticus*.

### MODALITÉS ÉPIDÉMIOLOGIQUES DES VIBRIONACÉES (tab. 2 et 3)

En ce qui concerne les vibriens halotolérants, actuellement, il existe différents foyers d'où peuvent sortir les vibriens cholériques pour emprunter les voies de déplacement de l'homme, (en rapport vraisemblablement avec le plancton marin du moins pour le golfe de Floride). Il existe également des foyers secondaires toujours actifs et apparus au cours de cette VII<sup>e</sup> pandémie, la lagune d'Abidjan, les Grands Lacs de la Rift Valley, les lacs du Zaïre en permanence réensemencés, mais peut-être aussi réservoir définitif comme la lagune d'Abidjan.

A la notion de température de l'eau apportée par Delattre, est à ajouter la notion de plus ou moins grande halophilie qui est vérifiée par la lagune d'Abidjan, au moment des grandes pluies, la salinité de l'eau de mer, en diminuant de manière conséquente, permet vraisemblablement le développement rapide, soit du vibriion cholérique, soit d'autres vibriens halophiles et l'apparition de nouveaux cas de choléra ou de diarrhées.

A partir de ces nouveaux cas, le choléra va se transmettre selon deux modalités épidémi-

Auteurs	Année	Pays	Origine	Germes
Fujino	1950	Japon	Selles	<i>V. parahemolyticus</i>
Chatterjee	1970	Inde	"	"
Mhali	1972	Tanzanie	"	"
Neuman	1972	Vietnam	"	"
Dadisman	1973	USA	"	"
Pfeffers	1973	Thaïlande	"	"
Bockemühl	1974	Togo	"	"
Elena	1974	Colombie	"	"
Doki Chun	1974	Corée	"	"
Kourany	1975	Panama	"	"
Lhuillier	1976	Madagascar	"	"
Pien	1977	Hawaï	Oreille	<i>V. alginolyticus</i>
Prociv	1978	Australie	?	<i>V. alginolyticus</i>
Hughes	1978	Bangladesh	Selles	<i>V. parahemolyticus</i>
Hansen	1972	France	Expectorations	<i>V. alginolyticus</i>
Bhat	1980	Inde	Selles	<i>V. parahemolyticus</i>
Ghosh	1980	Australie	Plaies	<i>V. halophiles</i>
Prince-David	1980	Sénégal	Selles	<i>V. parahemolyticus</i>
Yala	1980	Congo	Selles	"
Wagner	1981	Canada	?	<i>V. halophiles</i>
Mikajlovirc	1982	Allemagne	Selles	<i>V. parahemolyticus</i>
Boudon	1983	France	"	"
Dosso	1984	Côte d'Ivoire	"	"
Jacket	1982	USA	"	<i>V. fluvialis</i>
Olsen	1978	Scandinavie	Oreille	<i>V. parahemolyticus</i>
Hiratsuka	1980	?	Selles	<i>V. alginolyticus</i>
English	1977	?	Brûlé	<i>V. alginolyticus</i>
Burke	1982	Australie	Selles	<i>Aeromonas</i>

Tableau 2 : Origine des Vibrions isolés chez l'homme.

ques, un cycle long à partir de l'eau des fleuves ou de l'eau d'alimentation qui donnera des cas erratiques, un cycle court de transmission de la main à la main ou à tout objet d'utilisation interhumaine (poignée de porte, de toilettes, poignée de chasse d'eau essentiellement), contacts avec les cadavres, qui donnent des bouffées explosives, brèves mais massives.

Le problème est identique pour les vibrions non 01. Ceux-ci ne possèdent pas de véritables facteurs d'attachement, la contamination se fera plus par voie alimentaire : huîtres, moules, coquillages, concentrant les vibrions soit mécaniquement, soit activement. L'épidémie frappera au même lieu, en même temps, un groupe de personnes (équipage d'un avion, clients d'un même club de tourisme).

Le problème est à peu de chose près le même pour les vibrions halophiles : certains avec facteur d'attachement et toxine se multiplieront sur place et produiront avec délai des troubles cholériques, d'autres concentrés par les fruits de mer, des troubles immédiats de type intoxication alimentaire (*V. parahemolyticus*, *V. alginolyticus*).

Auteurs	Année	Pays	Germes	Origine
Bockeruhl	1974	Togo	VPH	eau (mer, estuaire)
Aldoua	1971	Mer Noire	VPH	eau (mer)
Vanderzant	1970	Gulf Coast	VPH	eau (mer)
Fishbein	1970	Chesapeake Bay	"	eau, crabes
Barrow	1972	Gde Bretagne	"	eau (mer)
Franca	1980	Brésil	"	eau (mer)
Palasun	1981	Sri-Lanka	"	eau, crustacés, poissons
Dosso	1983	Côte d'Ivoire	"	eau, crabe, crevette (lagune)
Natarajan	1980	Inde	"	eau
Bocanegra	1981	Pérou	"	eau
Libinon	1981	Mer Noire	VPH, <i>V. alg.</i>	eau (mer)
Anicchiario	1981	Italie	VPH, <i>V. alg.</i>	eau
Abdelnoor	1980	Liban	VPH	crustacés
Gjerde	1981	Norvège	VPH, <i>V. alg.</i>	eau
Barros	1980	Baie Guanabara	VPH	eau
Krantz	1969	Chesapeake Bay	"	crabes
Binta	1982	Kenya	"	poisson (mer), eau
Boney	1972	Mer Noire	VPH, <i>Aeromonas</i>	moules
Koburger	1974	Floride	VPH	eau (mer)
Muic	1974	Yougoslavie	VPH	eau (mer)
Nanakanushi	1968	Allemagne	VPH, <i>V. alg.</i>	poisson (mer)
Rodriguez	1971	Espagne	VPH	eau
Thompson	1971	Canada	"	crustacés
Vasconcelos	1975	Alaska	VPH, <i>V. alg.</i>	eau (estuaire)
Kampelmacher	1972	Hollande	VPH	eau
Hories	1964	Japon	VPH	plancton, eau mer, poissons
Giammanco	1973	Italie	VPH, <i>V. alg.</i>	eau (mer)
Marchand		France	VPH	eau (estuaire)

Tableau 3 : Origine des Vibrions isolés de l'environnement

VHP = *V. parahemolyticus* V. alg. = *V. alginolyticus*.

Alors que les *E. coli*, les Shigelles, peuvent posséder des propriétés entéro-invasives, rien de tel n'a été vu au niveau des vibrions ; les septicémies, les pus dûs à des vibrions ont toujours pour origine une porte d'entrée : otite, blessure, submersion. Quant à la destination géographique de ces germes, c'est une véritable distribution mondiale de ces vibrions qui apparaît à la lecture de la bibliographie. Il semble bien que, hormis le Vibrion cholérique pathogène épidémiogène, là où il y a la mer, il y a des vibrions halophiles : océan Pacifique, océan Atlantique, océan Indien, mer Caspienne, mer Noire, mer Méditerranée ; les vibrions sont des hôtes naturels de ce milieu. Ils seront transmis par contact avec celui-ci.

Pour conclure cette écologie des vibrions pathogènes, il faut faire la part de l'hôte récepteur des vibrions.

Pour *Vibrio cholerae*, par exemple, il existe sans nul doute dans l'espèce humaine une sensibilité génétique qui, au cœur même de l'épidémie, fait que tout le monde n'attrape pas un choléra. Cette sensibilité est vraisemblablement familiale ainsi que l'a bien montré un historien, P. Bourdelais dans sa thèse.

L'apport d'un non-bactériologiste montre que si le vibron pathogène est l'apanage de l'espèce humaine, son étude ne peut être le fait que d'une collaboration entre des chercheurs de toutes disciplines.

---

BATTEY J., WALLACE R., ALLAN B. et KEEFFE R., 1970. Gastro-enteritis in Australia caused by a marine *Vibrio*. *Med. J. Austr.* 1, 430-433

BOCKEMUHL J., AMEDOME A. et TRIEMER, 1975. *Vibrio parahemolyticus* gastro-enteritis during the E1 Tor cholera epidemic in Togo, *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 24, n°1, 101-104

BOUDON A., RICHARD C., LECORRE C. et COLOMB P., 1973. Premier cas autochtone de syndrome diarrhéique à *Vibrio parahemolyticus* en France : données bactériologiques, cliniques et épidémiologiques. *Méd. et Mal. Infect.* 13, n°7, 443-447

BOURDELAIS P. Thèse de 3<sup>e</sup> cycle. Ecole des hautes études en sciences sociales. Paris.

DODIN A, 1983. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 76, 644-651.

ENGLISH V.L., LINDBERG R.B., 1977. Isolation of *V. alginolyticus* from wounds and blood of a burn patient. *Méd. technol.* 43, n°10, 989-993.

FUJINO T., 1976. Characterization of *Vibrio parahemolyticus* isolated in the USA. *Biken J. Jap.* 15, n°5, 223-228.

HANSEN W., PEPERSACK F., YOURASSOWSKY E., 1979. Mise en évidence de *Vibrio alginolyticus* dans les expectorations d'un bronchiteux chronique. *Méd et Mal Infect.*, 9, n°6, 376-379.

IJIMA Y., YAMADA M., SHINODH S., 1981. Adhèrence of *Vibrio parahemolyticus* and its relation to pathogenicity. *Can. J. Microbiol.* 27, 1252-1259.

MERRELL B.R., WALKER R.T., JOSEPH S.W., 1984. *In vitro* and *in vivo* pathologic effects of *Vibrio parahemolyticus* on human epithelial cells. *Can. J. Microbiol.*, 30, 381-388.