# Taxonomie des vibrions marins halophiles

par

## G.D. ROTTINI, B. PANI et M. TAMARO

Institut de Microbiologie, Université, Trieste (Italie)

Les vibrions marins halophiles (tolérant une concentration de NaCl égale ou supérieure à 7 p. 100) sont les seuls schizomycètes strictement adaptés au milieu marin pour lesquels on ait mis en évidence un caractère pathogénique potentiel pour l'homme. La taxonomie actuellement considérée valable pour ce genre est celle proposée par Sakazaki [1970], qui considère deux espèces, *Vibrio parahaemolyticus* et *Vibrio alginolyticus*, sur la base des caractères de culture, des activités biochimiques et de la capacité de croissance soit à 20° C, soit à 37° C.

Vibrio parahaemolyticus est sac-, Voges-Proskauer négatif et a une halotolérance jusqu'à 7 p. 100 NaCl, tandis que Vibrio alginolyticus est sac+, Voges-Proskauer positif et a une halotolérance de 10 p. 100 NaCl. Récemment la séparation de Vibrio parahaemolyticus et de Vibrio alginolyticus en deux espèces différentes est apparue criticable à la suite d'une série d'observations expérimentales :

- les différences dans le contenu en pourcent de guanine et de cytosine dans les deux espèces ne sont pas significatives [6,2].
- en prenant pour base les caractères différentiels (degré de halotolérance, production d'acétoïne et fermentation du saccharose), on a pu identifier des souches avec des caractéristiques intermédiaires, formant une chaîne ininterrompue qui unit le biotype *Vibrio parahaemolyticus* au biotype *Vibrio alginolyticus* [1, 4, 9].
- dans des souches qu'on peut classer comme *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio alginolyticus* et vibrions à caractères intermédiaires, on a retrouvé les mêmes types d'antigènes K et les mêmes types de toxines (neuraminidase, toxine létale pour la souris, facteur de perméabilité et émolisine) [5].

## But de la recherche

Dans 36 souches de vibrions marins halophiles, isolés dans le golfe de Trieste pendant l'été 1971, on a déterminé 70 caractères suivant le schéma de Colwell [1970] pour la taxonomie numérique : morphologie, colonies, production de pigment, croissance en milieu liquide à températures et concentrations de NaCl variables, fermentation des sucres et activités biochimiques, toxines et antigènes. Les souches ont été d'abord classées selon le schéma classique. Les données ont été ensuite introduites dans un calculateur électronique pour le calcul et l'élaboration de la taxonomie numérique adansonienne, suivant le coefficient de comparaison selon Sokal et Sneath [8].

## Souches

Selon le schéma de Sakazaki [6] les 36 souches ont été classées en : *Vibrio parahaemolyticus :* souches 1, 2; *Vibrio* intermédiaire sac+, NaCl 10 %, acétoïne négatif : souches 4, 5, 6, 7, 17, 20, 26, 30; *Vibrio alginolyticus :* souches 3, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 21, 22, 23, 24, 25, 27, 28, 29, 31, 32, 33, 34, 35, 36.

Rapp. Comm. int. Mer Médit., 22, 3, pp. 29-31 (1973).

```
۷4
٧5
V13
       0 0
                                                  Clefs
V16
                                                  51-55
V1 9
         0
                                                   56-60
V24
         0
                                                  61-65
V25
                                                  66-70
V29
         0
                                                  71-75
V33
                                                  76-80
V35
        0
                                                  81-85
V38
       0
        0
             W
                                                  86-90
                                                         X
٧7
                                                  91-95
                                                         S
        0
             S
               S
V8
           S
                 S
                    S
                      S
                                                  96-100
Vll
           S
             S
               S
                 S
                    S
V18
V42
        0
             S
           S
V22
         0
V14
                               S
V20
V21
V34
V40
V28
                                   S
                                     s
                                       s
V30
        0
                            W
                                 S
                                   S
                                     S
V31
                                       s
V37
               S S
                   S
                     S
                        S
                          S
                            S
                              S
                                X
                                   S
                                     S
                                       S
                                         S
V41
           S
               S S
                   S
                      S
                          s
                            S
                                   s
                                     s
V39
               s
                   S
                      S
                 S
                        S
                          S
                                   s
                            S
                              Х
                                Х
                                     S
                                       S
                                         X
                                            S
                                              S
                                                S
                                                  S
                                                     S
V9
      X S
          X X X X X
                     Х
                        Х
                            Х
                              S
                                   S
                                     X
                                       Х
                                         Х
                                            S
                                              S
                                                S
                                                  S
                                                     8
V12
                                         x \quad x \quad x
                                                x \times x \times x
V15
           S
               S
                 S
                   S
                     S S
                          SSXXSSSXSS
                                                S S S S
                                                         S
                                                           S
                                                             S
                                                               S
V27
        0
           S
            S
               SS
                   S
                     S
                       S
                          s s
                              Х
                                S
                                   Х
                                     s
                                       S
                                         s
                                                  Х
                                                       S
V2.3
            V32
          X
                                                           0
                                                               х о
V26
          0
                                              0
                                                0 0 0 0 0 0 X X =
                                                                   X X X X X S S
V36
      = 3 3 3 3 3 3 0 0
                                     = = & & & & & & & & & & & = = = X O X W
      4 5 13 16 19 21 25 29 33 35 38 7 8 11 18 42 22 14 20 21 34 40 28 30 31 37 41 39 9 12 15 27 23 32 26 36
   S<sub>SM</sub> %
       90
                      93
                                95
                                               98
                                                         100
                                                               SOUCHES
                                                           4
                                                           (5)
                                                           13 16 19 24 25 29 33 35 38
                                                           7
                                                          8
                                                           11
                                                          18 42
                                                          - 22
                                                          -14 20 21 34 40
                                                          - 28 30
                                                          -31
                                                          37 41
                                                           39
                                                          9
                                                           12
                                                          15
                                                           27
                                                           23 32
                                                           26
                                                           36
  V. INTERMEDIATE II
                            O SAC + VARIANT V.P.H.
                                                       - V. ALGINOLYTICUS
```

Recherche effectuée avec la contribution du « Ministero della Sanità », Roma.

#### Résultats

Les résultats sont reportés dans le tableau 1 (matrice à symboles) et dans le tableau 2 (dendrogramme).

### Conclusions

Toutes les souches de vibrions marins considérées entrent dans un pourcentage de rassemblance égal ou supérieur à 90 %. Selon l'actuelle convention [7] de taxonomie numérique des « clusters » avec pourcentages de rassemblance au niveau de 80-85 % groupent des individus de la même espèce, alors que des pourcentages plus élevés, comme dans notre cas, groupent des individus différant par variabilité infraspécifique. La taxonomie adansonienne a pourtant confirmé ce qui résultait des caractéristiques antigéniques et toxiques des souches examinées. La subdivision en espèces différentes des vibrions marins halophiles sur des bases exclusivement biochimiques et de culture est criticable. Il semble plus exact de considérer l'existence d'une seule espèce, *Vibrio parahaemolyticus* Sakazaki, Iwanami & Fukumi (1963), avec biotypes et sérotypes différents.

### Références bibliographiques

- [1] ALDOVÀ (E.), ZAKHARIEV (Z.A.), DINEV (T.S.) & ZLATANOV (Z.T.), 1971. Vibrio parahaemolyticus in the Black Sea. Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. Orig. 218, p. 176.
- [2] BAUMANN (P.), BAUMANN (L.) & MANDEL (M.), 1971. Taxonomy of Marine Bacteria: the Genus Beneckea. J. Bact., 107, p. 268.
- [3] LISTON (J.), COLWELL (R.R.), LOCKART (W.R.), QUADLING (C.), LESSEL (E.F.) & HOLT (J.G.), 1970. *Methods for numerical taxonomy*, Ed. by Lockart and Liston. Bethesda. *Amer. Soc. Microbiol.*
- [4] ROTTINI (G.D.), SCHREIBER (F.) & TAMARO (M.), (1973). Biochemical and antigenic characteristics of halophilic sea vibrios in the Gulf of Trieste. *Zbl. Bakt. Hyg. II Abt.*, **128**, 412.
- [5] ROTTINI (G.D.), TAMARO (M.) & DI FILIPPO (L.) (1973). Neuraminidasic activity, haemolysin, permeability factor and lethal toxin in filtrates of halophilic sea vibrios. *Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. Orig.*, A, **223**, 318.
- [6] SAKAZAKI (R.), 1970. Classification and characteristics of vibrios Wld. Hlth. Org. WHO (BD) Cholera 70, 19/9.
- [7] SKERMAN (V.B.D.), 1967. A guide to the identification of the genera of bacteria, ed. by Williams & Wilkins. Baltimore.
- [8] SOKAL (R.R.) & SNEATH (P.H.A.), 1956. *Principles of numerical taxonomy* ed. by Freman. San Francisco.
- [9] ZEN-YOJI (H.), SAKAI (S.), TERAYAMA (T.), KUDO (Y.), ITO (T.), BENOKI (M.) & NAGASAKI (M.), 1965.

   Epidemiology, enteropathogenicity and classification of *Vibrio parahaemolyticus*. *J. Infect. Dis.*, 115, p. 436.

## \*

# Discussions

*J. Brisou*: Je pense qu'il s'agit surtout d'une méthode d'identification des vibrions que d'une « classification » *stricto sensu*. Les *V. parahaemolyticus* que vous avez essentiellement étudiés sont proches des *Vibrio anguillarum*.

Il faut en outre reconnaître qu'environ 30 % des vibrions sont halophiles, sténohalins. C'est le groupe bactérien qui contient la plus forte proportion d'halophiles stricts. Mais cette propriété est bien souvent inconstante, les germes perdent leur halophilie obligatoire au cours des repiquages sur les milieux de culture.

A propos de l'hémolyse, de quel type s'agit-il?

Réponse : nous l'étudions.

- J. Brisou: Le cas des Vibrions marins est particulièrement intéressant, il devrait susciter davantage de travaux dans notre comité car c'est vraiment le type de problème auquel nous devons nous intéresser.
- Le V. parahaemolyticus est un cas particulier de ces microbes dont certains sont responsables de gastro-entérites cholériformes et d'intoxications alimentaires.