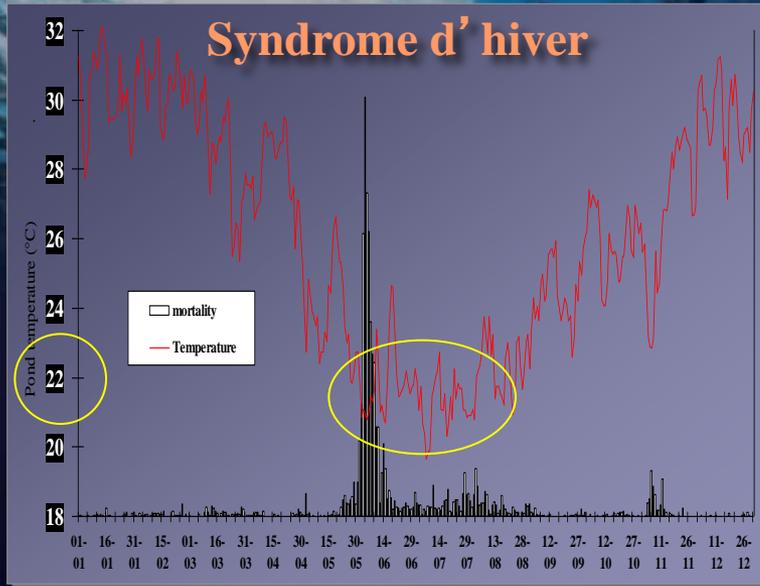
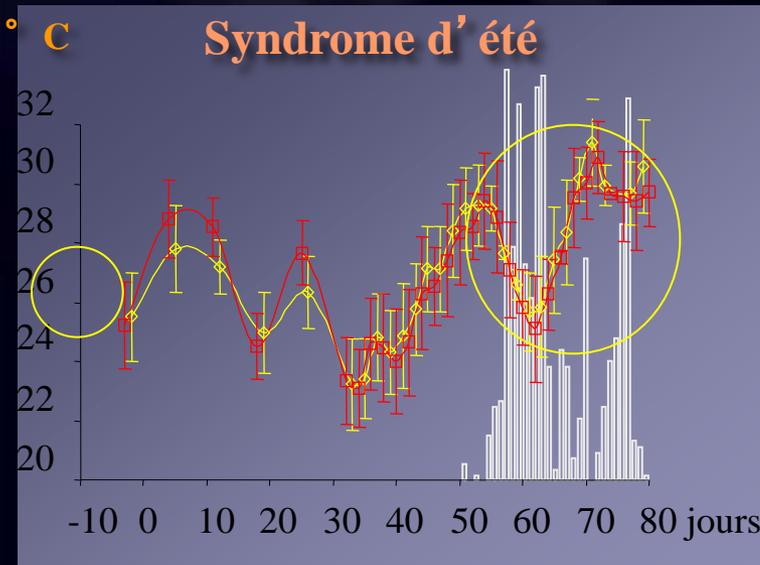


Deux syndromes limitent les élevages de crevettes



Syndrome d'hiver
(mi-mai à mi-septembre)

1993



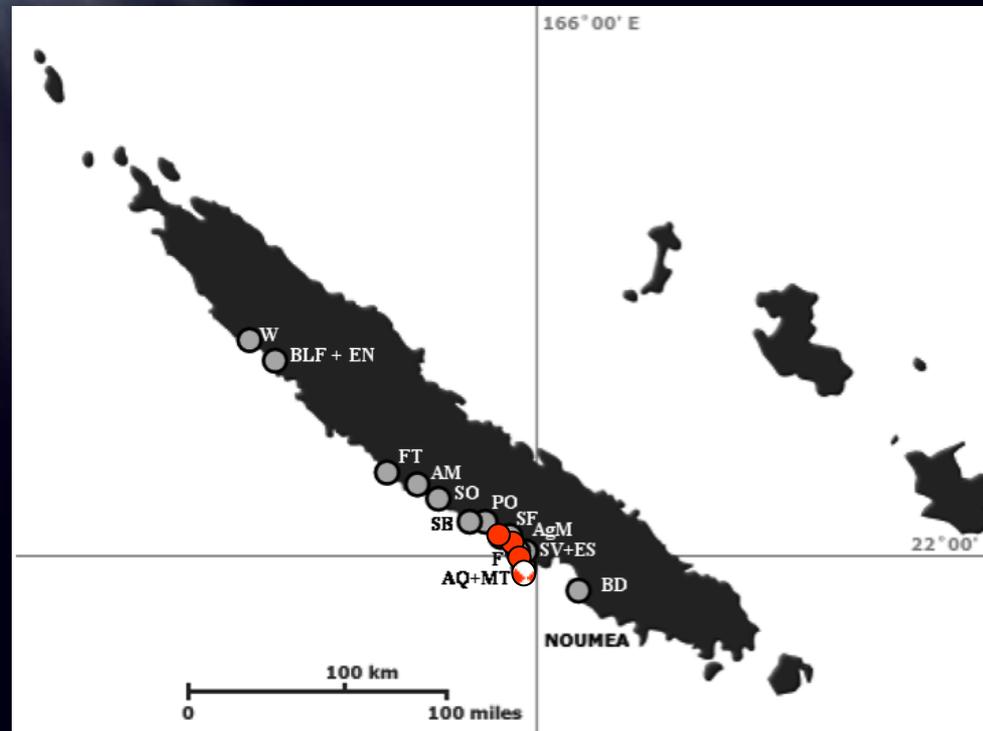
Syndrome d'été
(mi-novembre à mi-avril)

1997

Deux syndromes limitent les élevages de crevettes

Syndrome d'hiver
(mi-mai à mi-septembre)

Syndrome d'été
(mi-novembre à mi-avril)





Les questions...

1- Ces syndromes sont-ils dus à des pathogènes ?

2- si oui, lesquels? (un ou plusieurs pathogènes ?)

3 - comment agissent-ils ?

4 - comment lutter / les éviter ?

1- Quel rôle des pathogènes dans les mortalités ?



Prélèvement de sang



Étalement de l'extrait



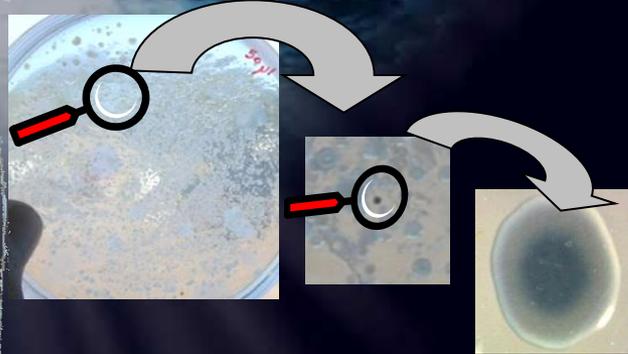
Culture des bactéries



Isolement des souches

Une collection de souches bactériennes

Isolement...



Archivage...



Plusieurs centaines de souches bactériennes

- associées à la crevetticulture calédonienne
- sur plus de 10 années et dans toutes les fermes

Test des bactéries en infection expérimentale



souche isolée



**infection
expérimentale**



**suivi des
mortalités**

La souche est pathogène

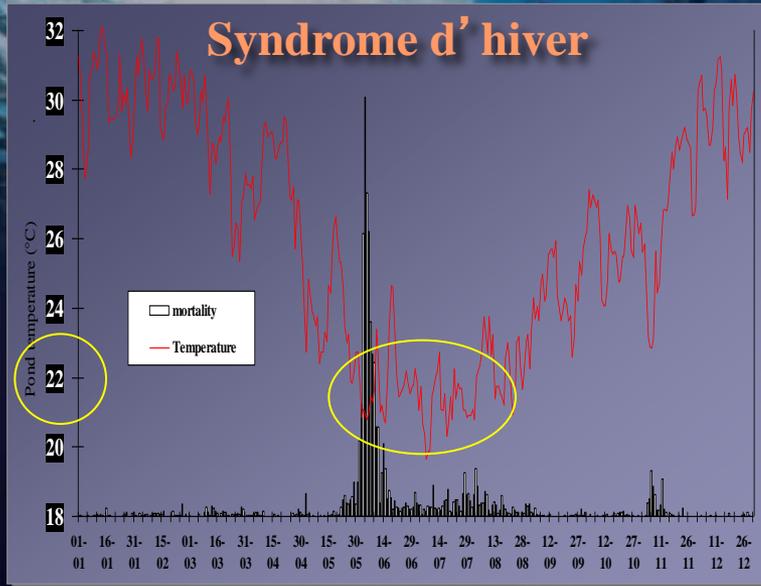
identification des souches pathogènes

arbre phylogénétique : schéma qui montre les relations de parentés entre des entités supposées avoir un ancêtre commun

classification sur la base de la séquence du génome: le génotype

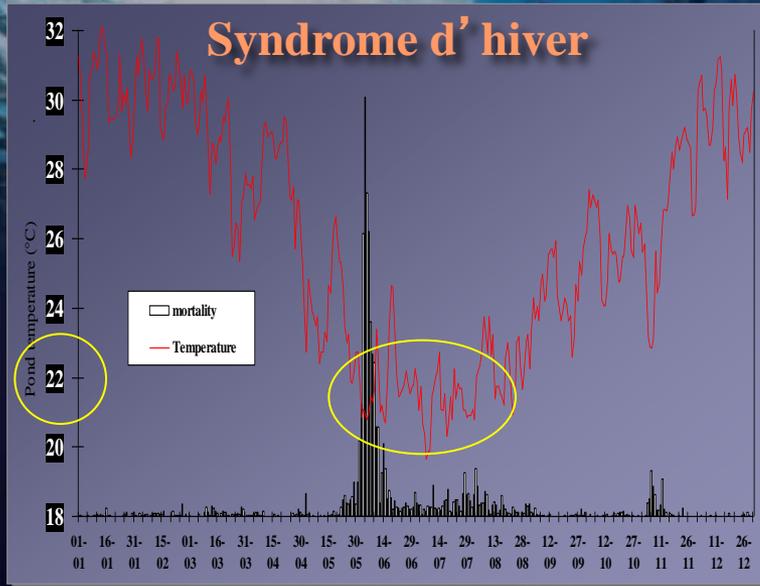


identification des souches pathogènes

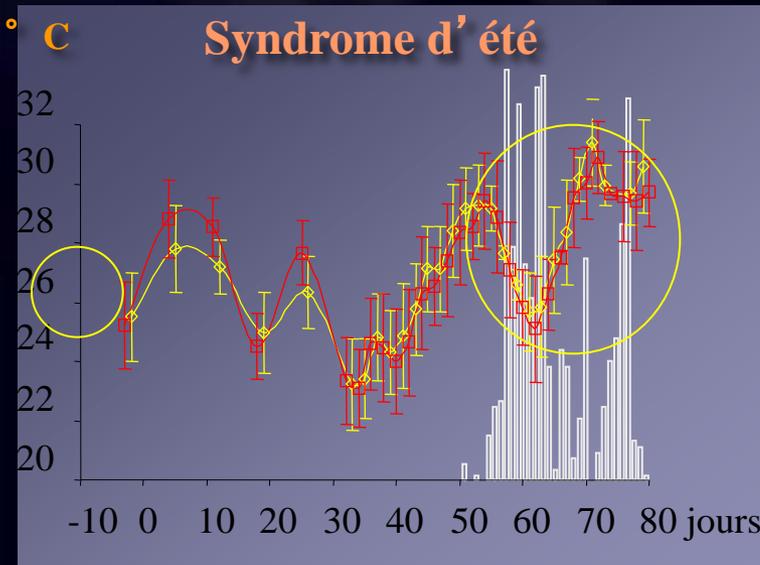


Syndrome d'hiver
Vibrio penaeicida

identification des souches pathogènes



Syndrome d'hiver
Vibrio penaeicida



Syndrome d'été
Vibrio nigripulchritudo

Available online at www.sciencedirect.com

 **SCIENCE @ DIRECT**

Aquaculture 253 (2006) 105–113

www.elsevier.com/locate/aqua-online

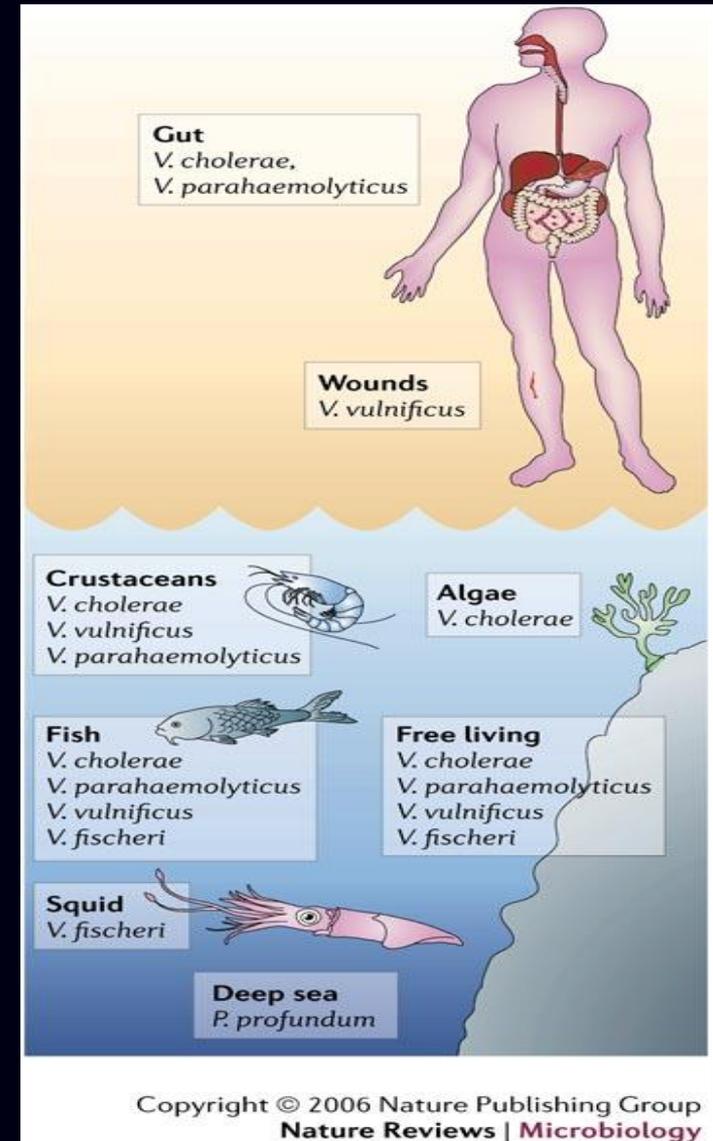
Aquaculture

“Summer Syndrome” in *Litopenaeus stylirostris* in New Caledonia:
Pathology and epidemiology of the etiological agent,
Vibrio nigripulchritudo

Cyrille Goarant*, Dominique Ansquer, José Herlin, David Domalain,
Frédéric Imbert, Sophie De Decker

Les *Vibrio* ?

- * bactéries marines
 - * présentes partout
 - * symbiotiques, pathogènes, commensales
- ➔ problème majeur pour l'aquaculture



Différents degrés de virulence chez *V. nigripulchritudo*



mortalité



souches Hautement Pathogènes (HP)

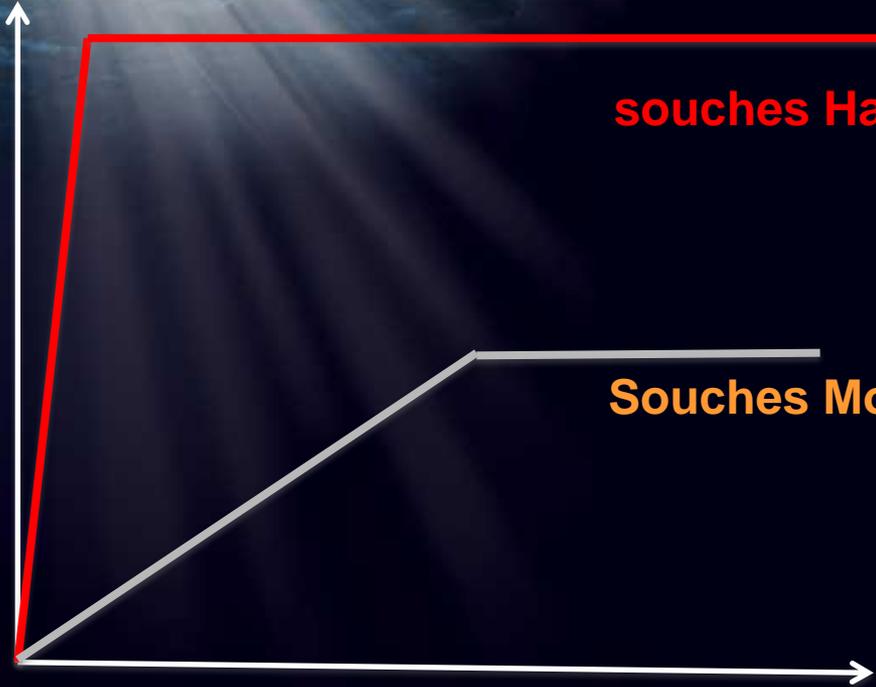
temps



Différents degrés de virulence chez *V. nigripulchritudo*



mortalité



souches Hautement Pathogènes (HP)

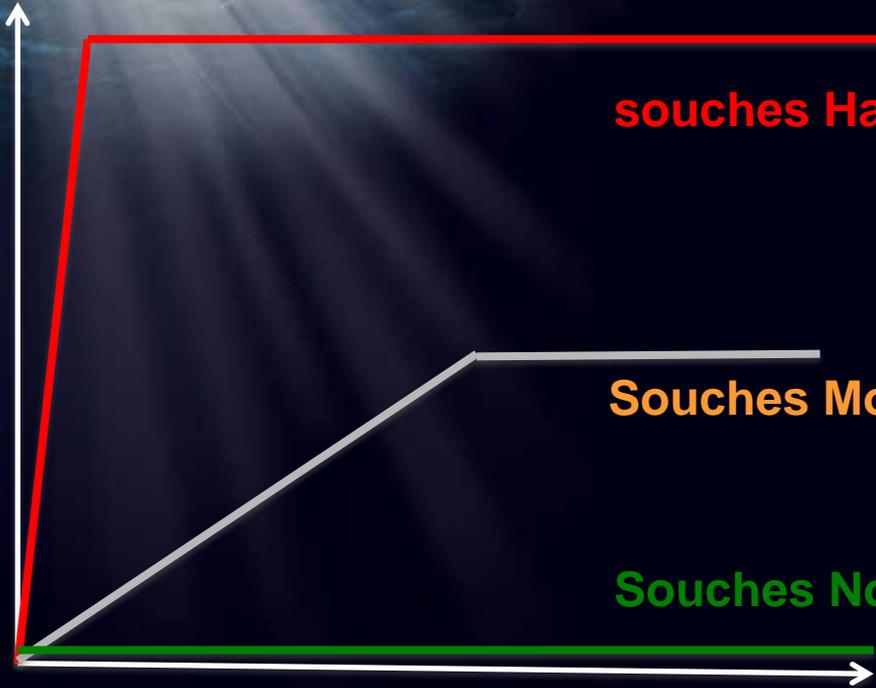
Souches Moyennement Pathogènes

temps

Différents degrés de virulence chez *V. nigripulchritudo*



mortalité



souches Hautement Pathogènes (HP)

Souches Moyennement Pathogènes

Souches Non Pathogènes (NP)

temps



Available online at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

Systematic and Applied Microbiology 29 (2006) 570–580

SYSTEMATIC AND
APPLIED MICROBIOLOGY

www.elsevier.de/syapm

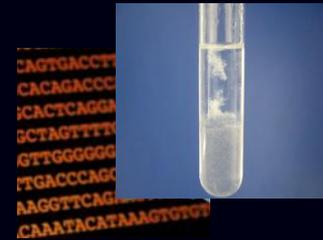
Molecular epidemiology of *Vibrio nigripulchritudo*, a pathogen of cultured penaeid shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) in New Caledonia

Cyrille Goarant^{a,*}, Yann Reynaud^{a,b}, Dominique Ansquer^a, Sophie de Decker^a, Denis Saulnier^b, Frédérique le Roux^b

Comment distinguer les souches HP et NP ?

ADN souche HP

ADN souche NP

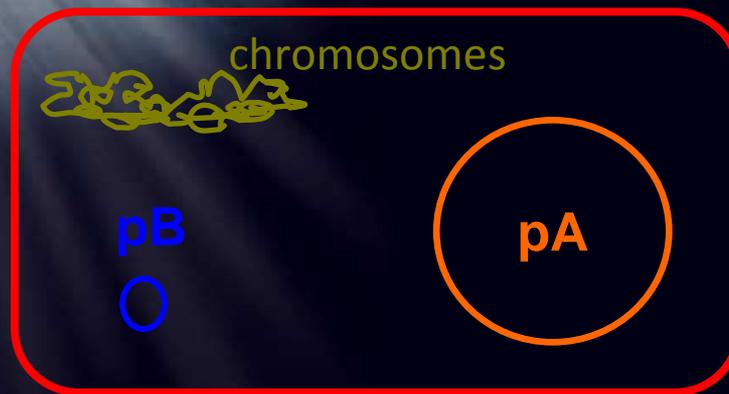


Comparaison des génomes = génomique comparative



Pourquoi des souches HP et NP ?

présence de deux plasmides dans les souches HP



Ont-ils un rôle dans la virulence ?

APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, May 2008, p. 3038-3047
0099-2240/08/\$08.00+0 doi:10.1128/AEM.02680-07
Copyright © 2008, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

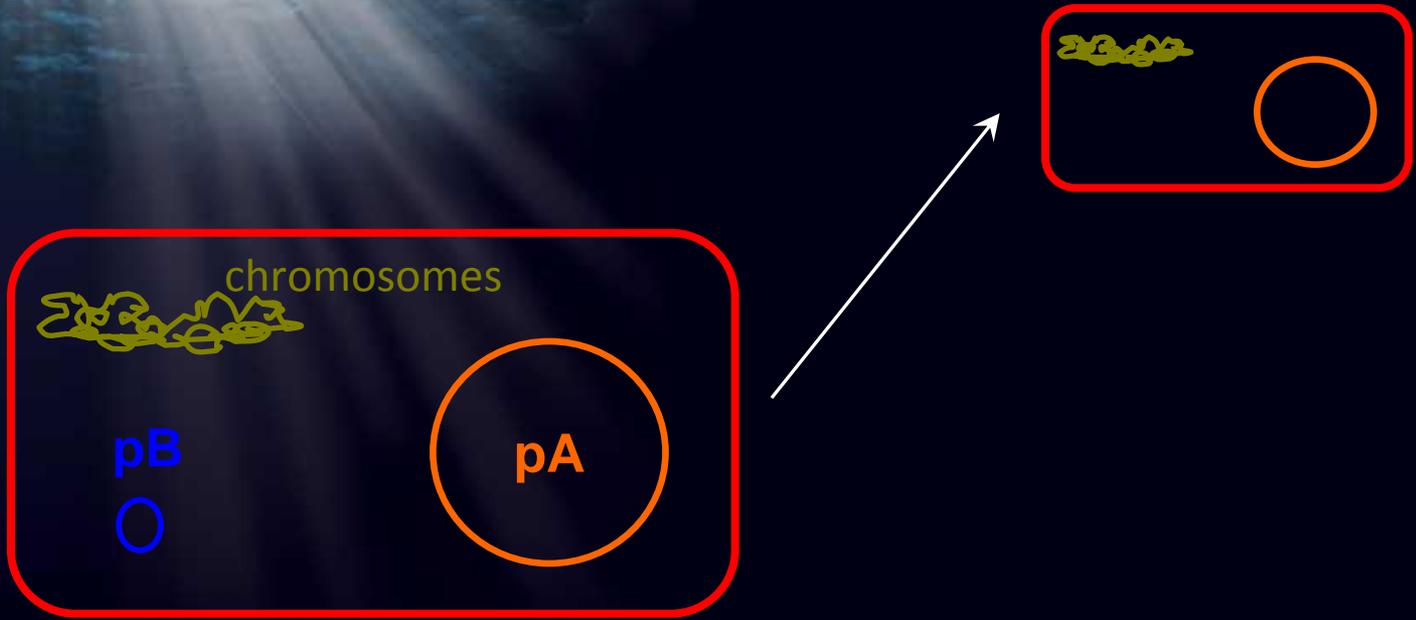
Vol. 74, No. 10

Correlation between Detection of a Plasmid and High-Level Virulence of *Vibrio nigripulchritudo*, a Pathogen of the Shrimp *Litopenaeus stylirostris*^V

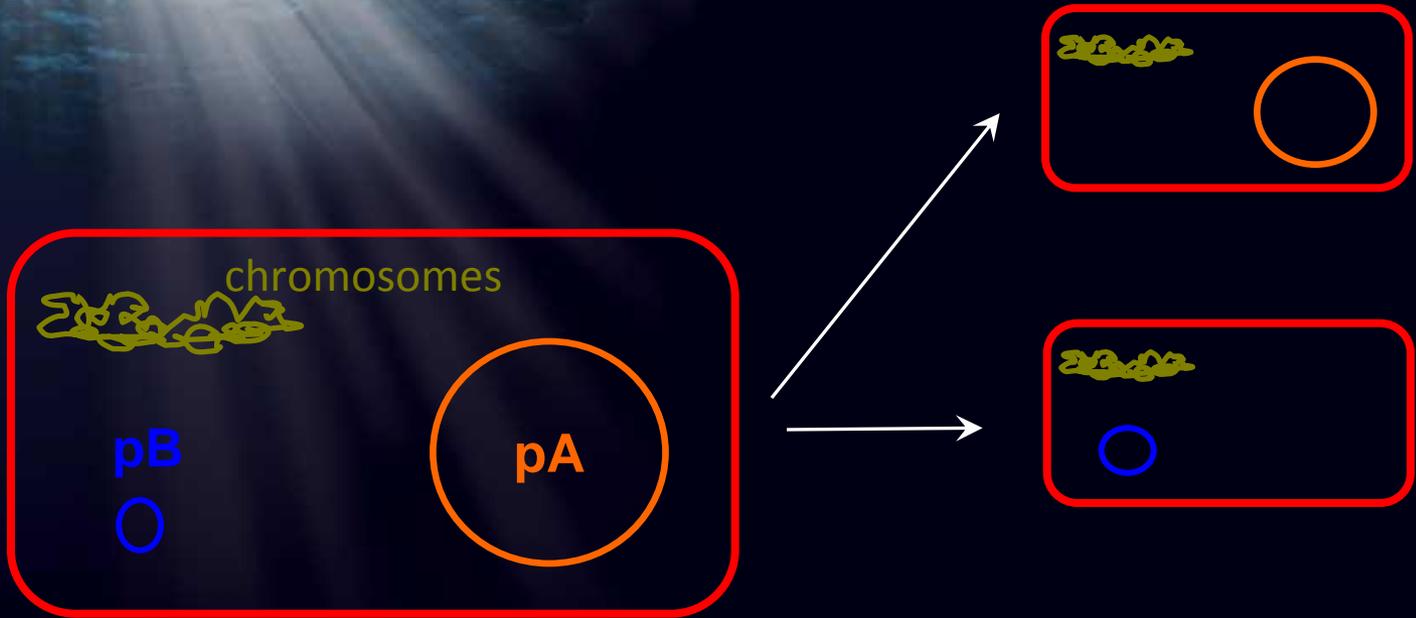
Yann Reynaud,^{1,2} Denis Saulnier,¹ Didier Mazel,³ Cyrille Goarant,^{2†} and Frédérique Le Roux^{1,3*}

Laboratoire de Génétique et Pathologie, Ifremer, 17390 La Tremblade, France¹; Département Aquaculture en Nouvelle-Calédonie, Ifremer, BP 2059, 98846 Nouméa Cedex, Nouvelle-Calédonie²; and Unité Plasticité du Génome Bactérien, CNRS URA 2171, Institut Pasteur, 25 Rue du Dr. Roux, 75724, Paris, France³

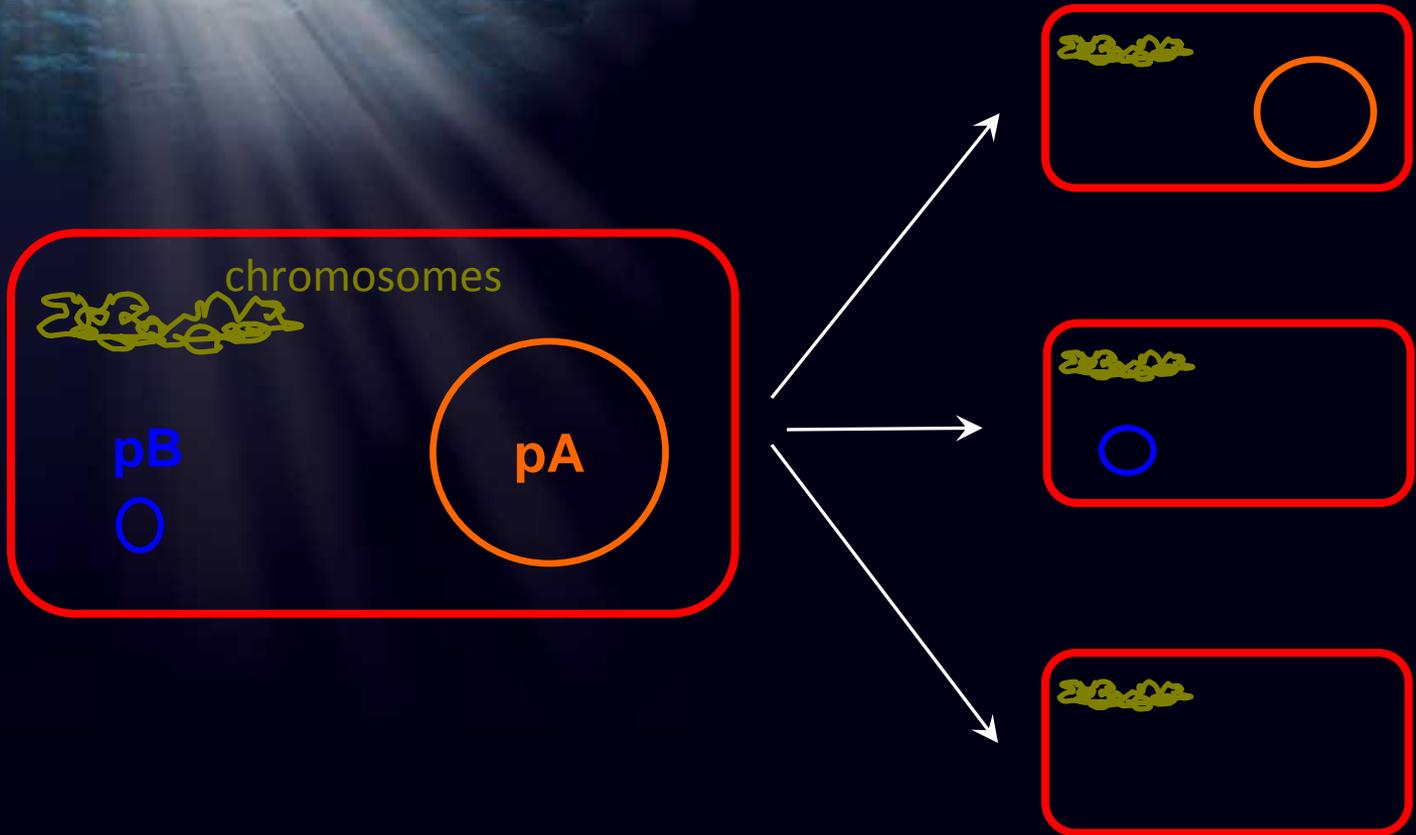
Le rôle des plasmides ?



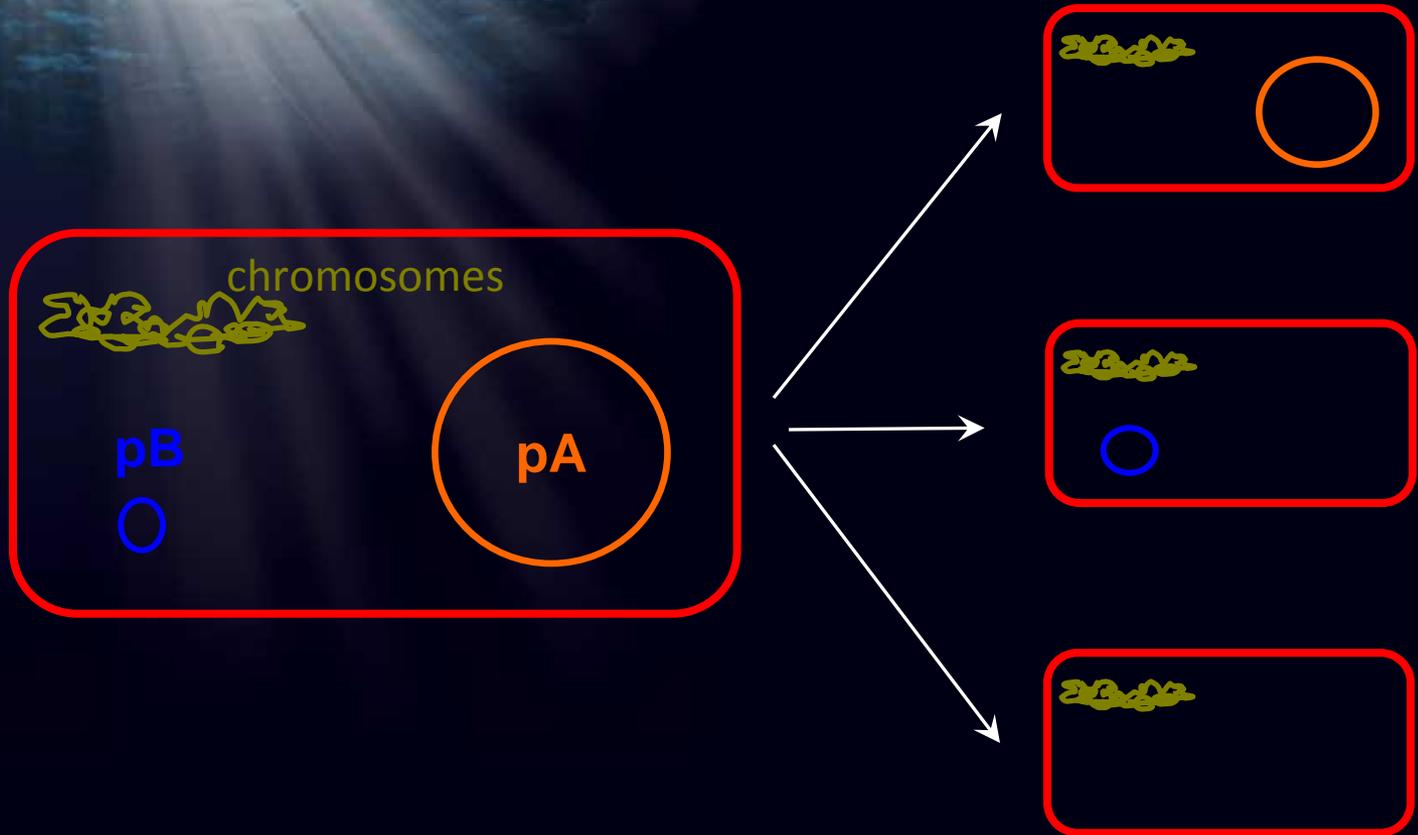
Le rôle des plasmides ?



Le rôle des plasmides ?



Le rôle des plasmides ?



Le rôle des plasmides ?



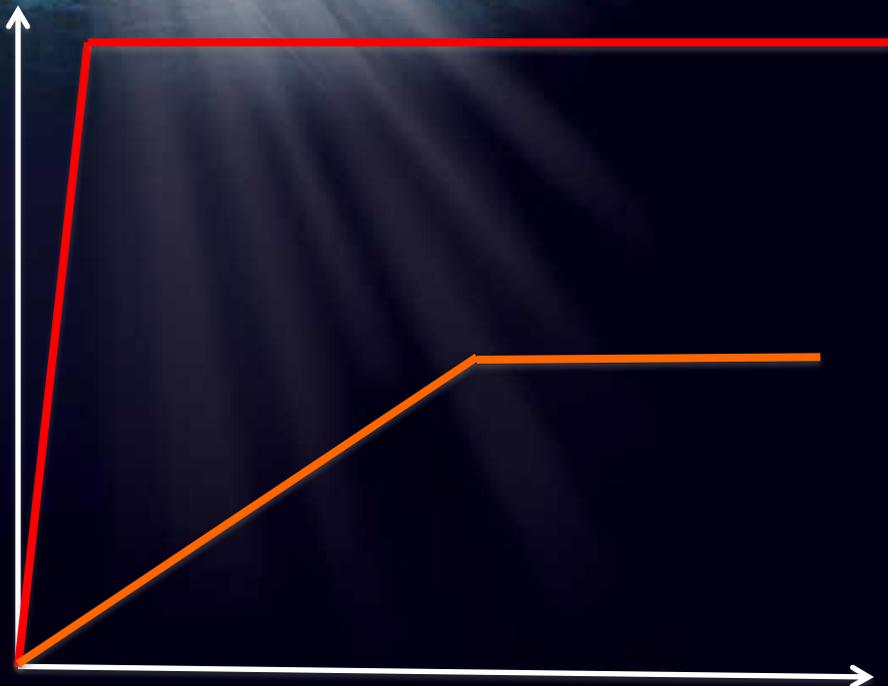
mortalité



Le rôle des plasmides ?



mortalité

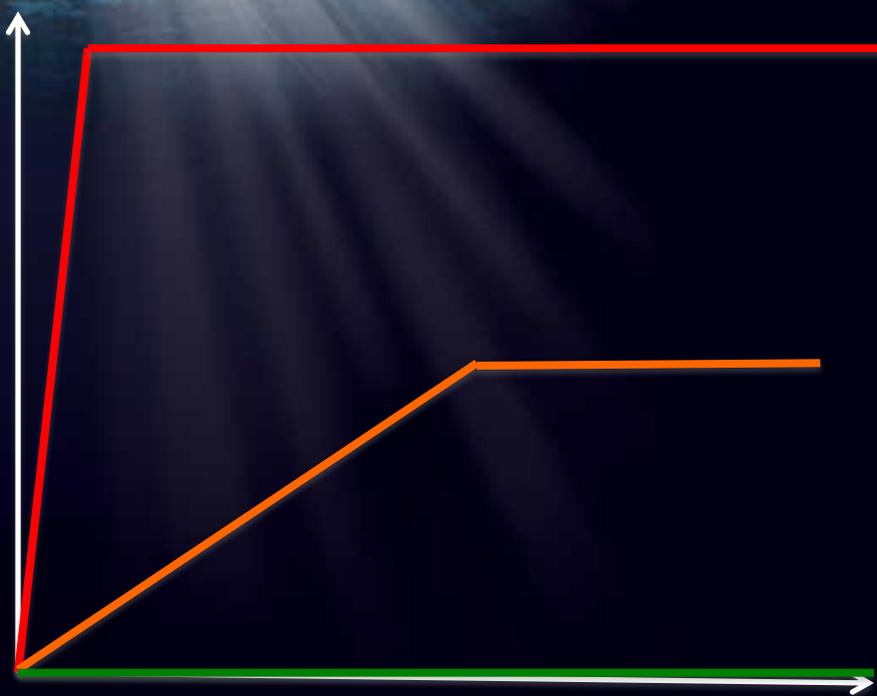


temps



Le rôle des plasmides ?

mortalité

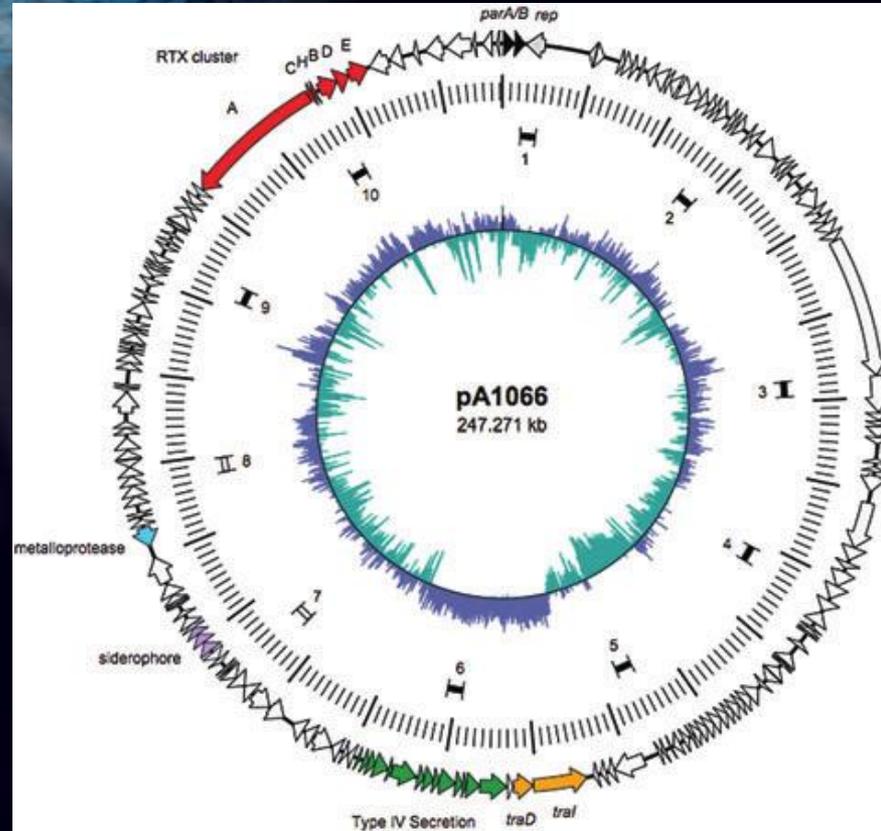


temps

Les plasmides jouent un rôle dans la virulence



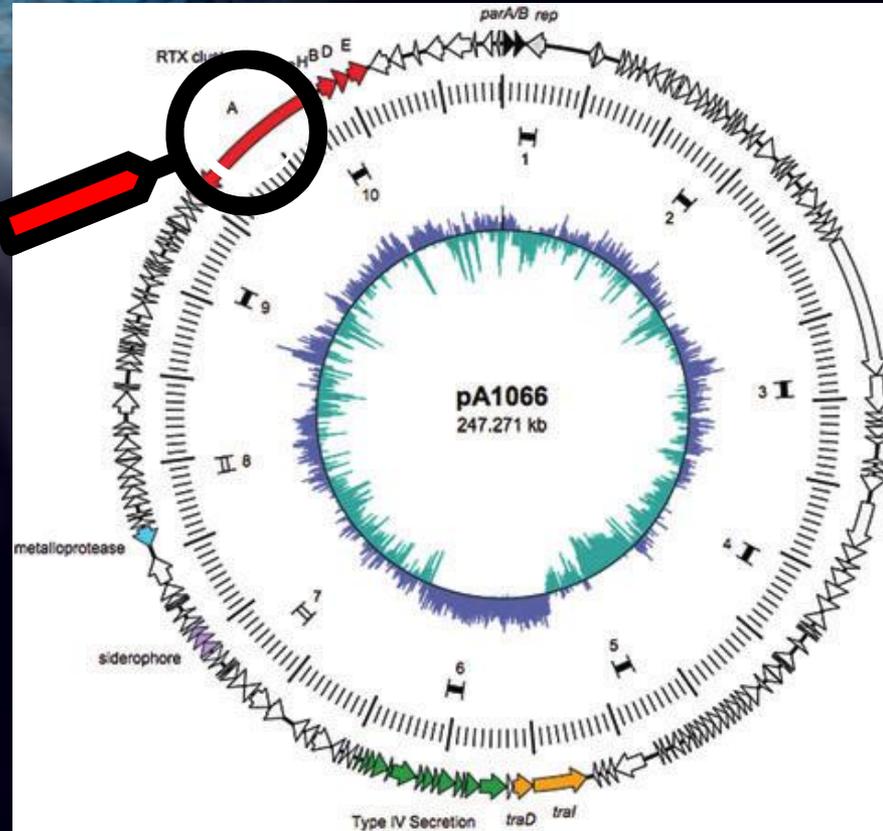
Le grand plasmide de *V. nigripulchritudo*



179 gènes potentiels = 179 protéines

Le grand plasmide de *V. nigrripulchritudo*

toxine ?

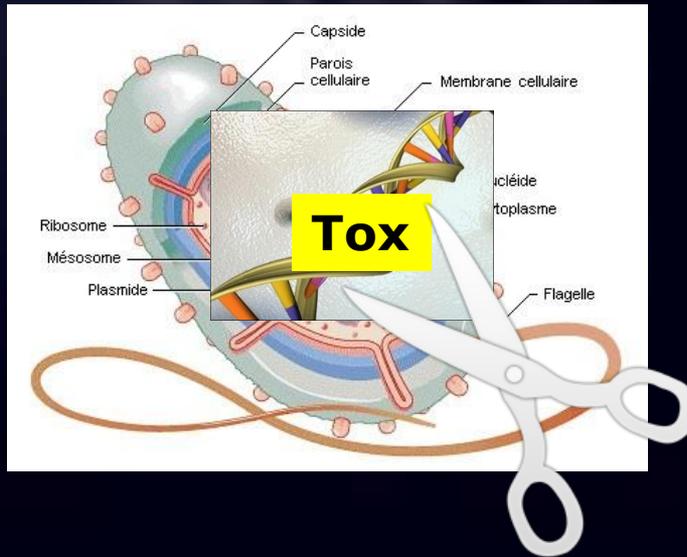


179 gènes potentiels = 179 protéines

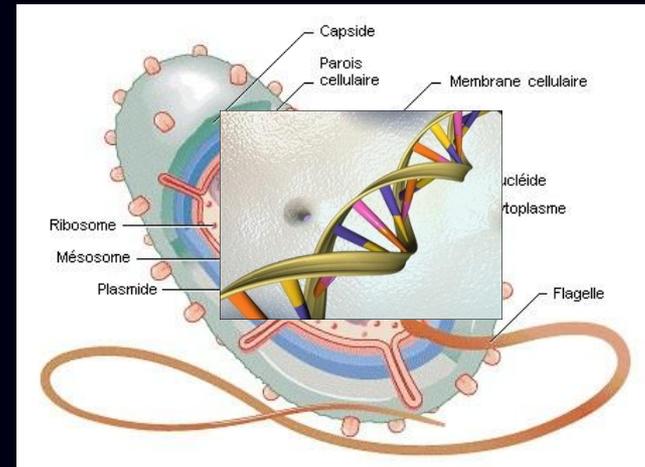
Le grand plasmide de *V. nigripulchritudo*

Modifier génétiquement le génome = la génomique fonctionnelle

Souche HP



mutant sans toxine



La toxine de *V. nigripulchritudo*

Souche HP

Mutant sans toxine





La toxine de *V. nigripulchritudo*

Souche HP

Mutant sans toxine



La toxine a un rôle dans la virulence



Virulence of an emerging pathogenic lineage of *Vibrio nigripulchritudo* is dependent on two plasmids

Frédérique Le Roux,^{1,2*} Yannick Labreuche,³ Brigid M. Davis,² Naeem Iqbal,^{4,5} Sophie Mangenot,⁶ Cyrille Goarant,⁷ Didier Mazel^{4,5} and Matthew K. Waldor^{1,2*}

virulence; only strains containing both plasmids induced the highest level of shrimp mortality. Thus, it appears that these plasmids, which are absent from non-pathogenic isolates, may be driving forces, as

et *Vibrio penaeicida* ?

Séquençage du génome en cours (Génoscope, Evry)



une toxine commune ?



Outils de diagnostic

= pathogène ?



Outils de diagnostic

= pathogène ?



Infection
expérimentale



Quelques jours



Outils de diagnostic

= pathogène ?



Infection
expérimentale



Quelques jours

PCR multiplexe



Quelques heures

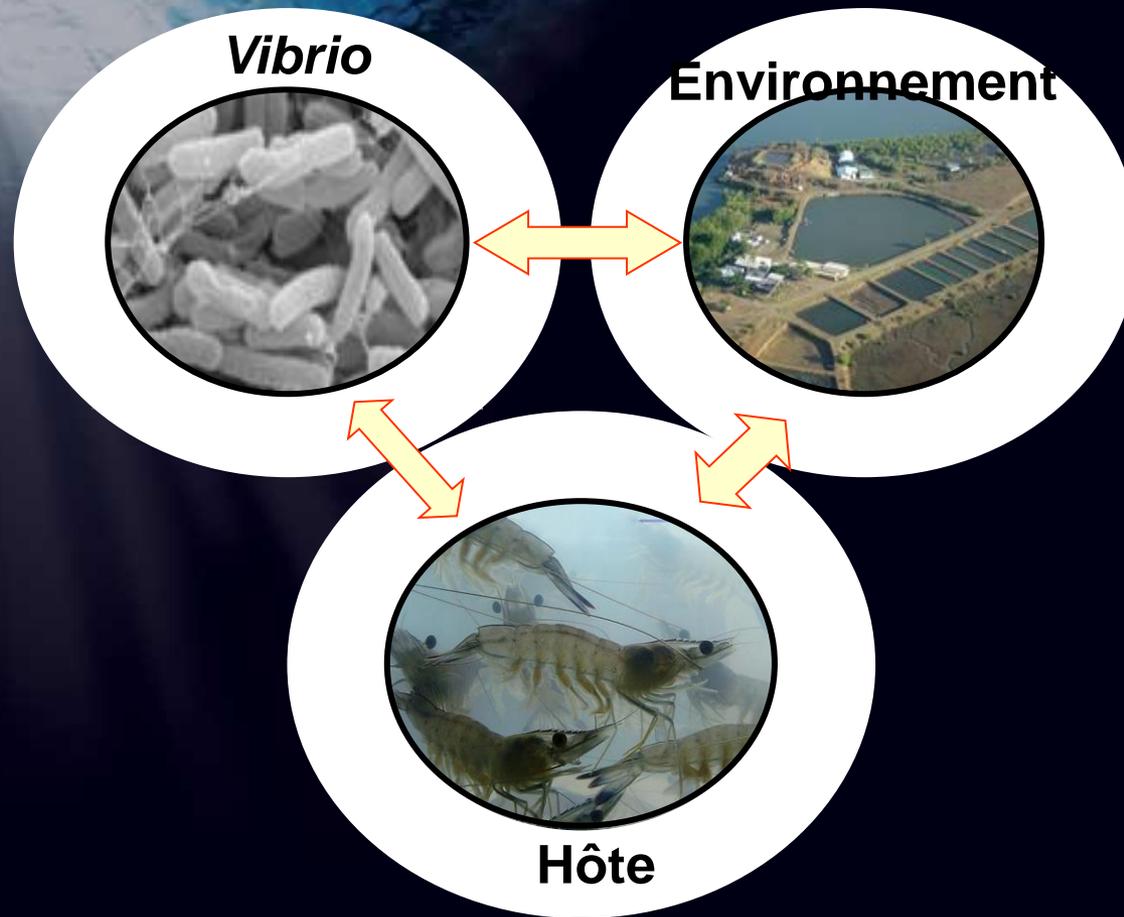
Microb Ecol (2012) 63:127–138
DOI 10.1007/s00248-011-9951-3

ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY

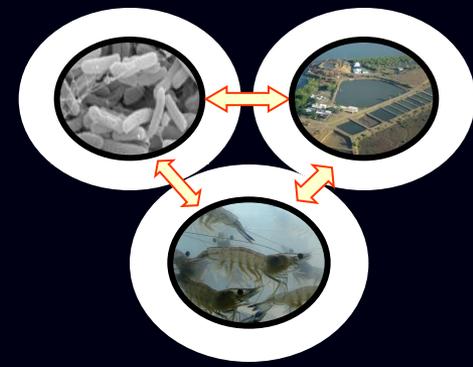
Pathotyping of *Vibrio* Isolates by Multiplex PCR Reveals a Risk of Virulent Strain Spreading in New Caledonian Shrimp Farms

Yannick Labreuche · Laurane Pallandre ·
Dominique Ansquer · José Herlin · Billy Wapoto ·
Frédérique Le Roux

De nombreuses questions....

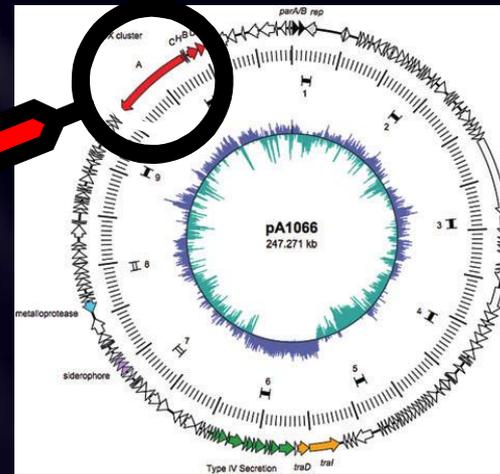


De nombreuses questions....



- La virulence des *Vibrio* / mode d'action

La toxine

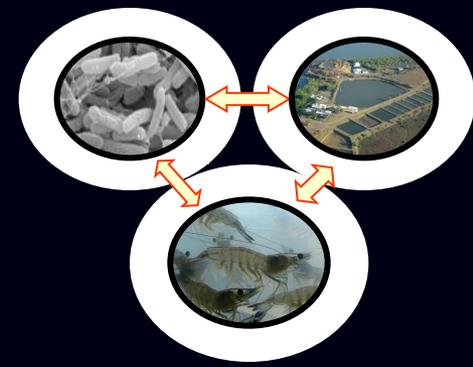


Comprendre comment elle agit ...
pour la bloquer ?

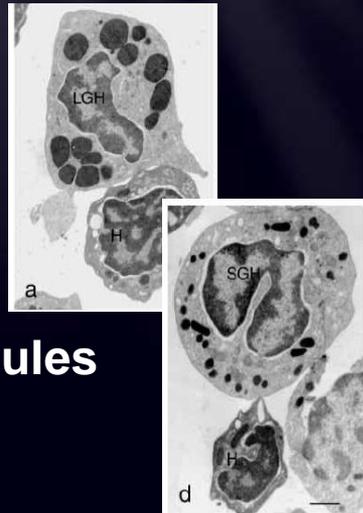


De nombreuses questions....

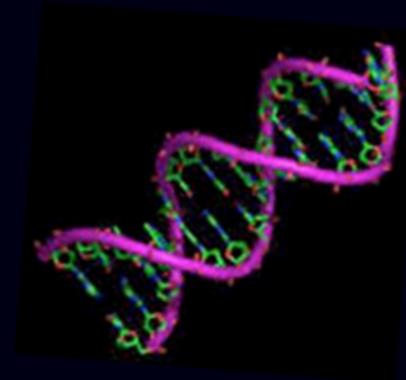
- La virulence des *Vibrio* / crevette



animal



cellules



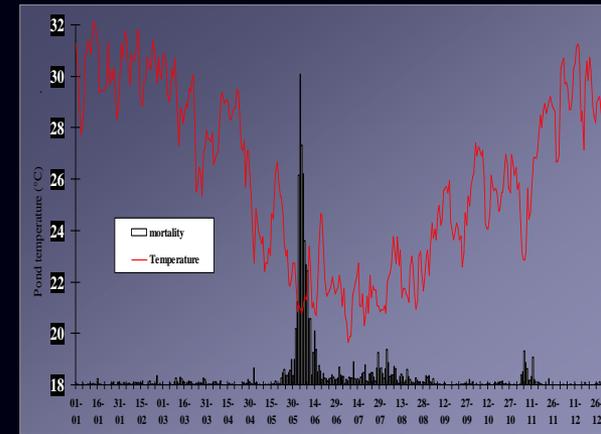
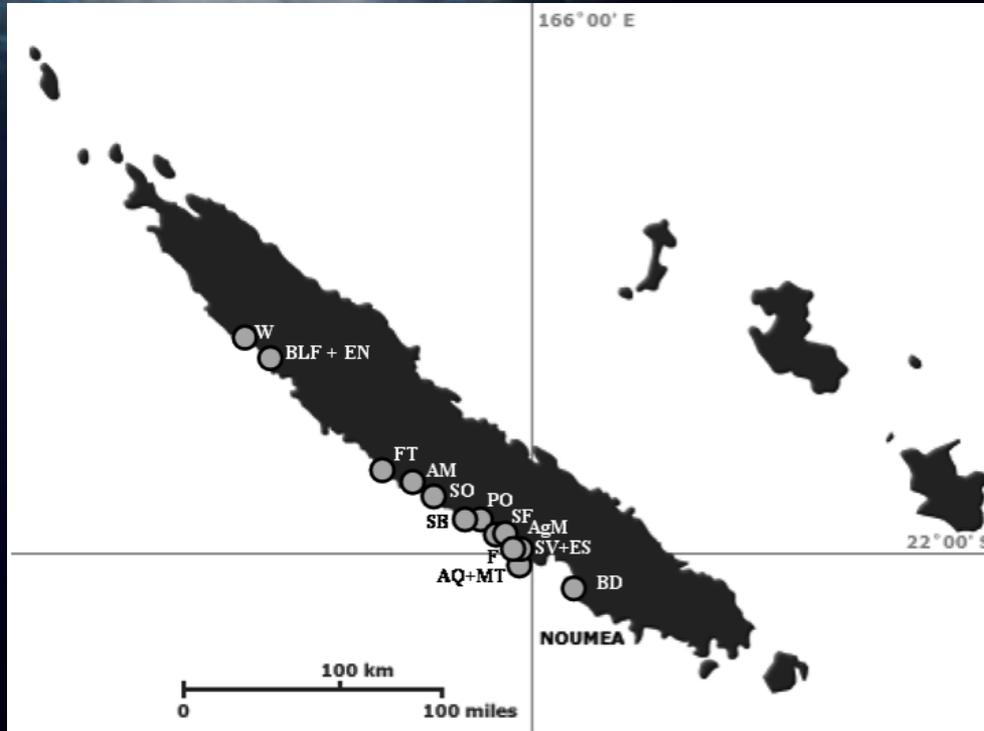
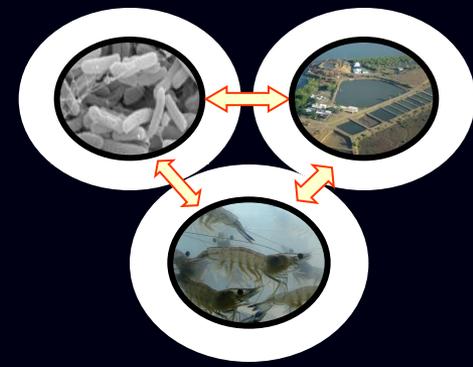
expression génique



Quel est l'impact des *Vibrio* sur la santé des crevettes ?

De nombreuses questions....

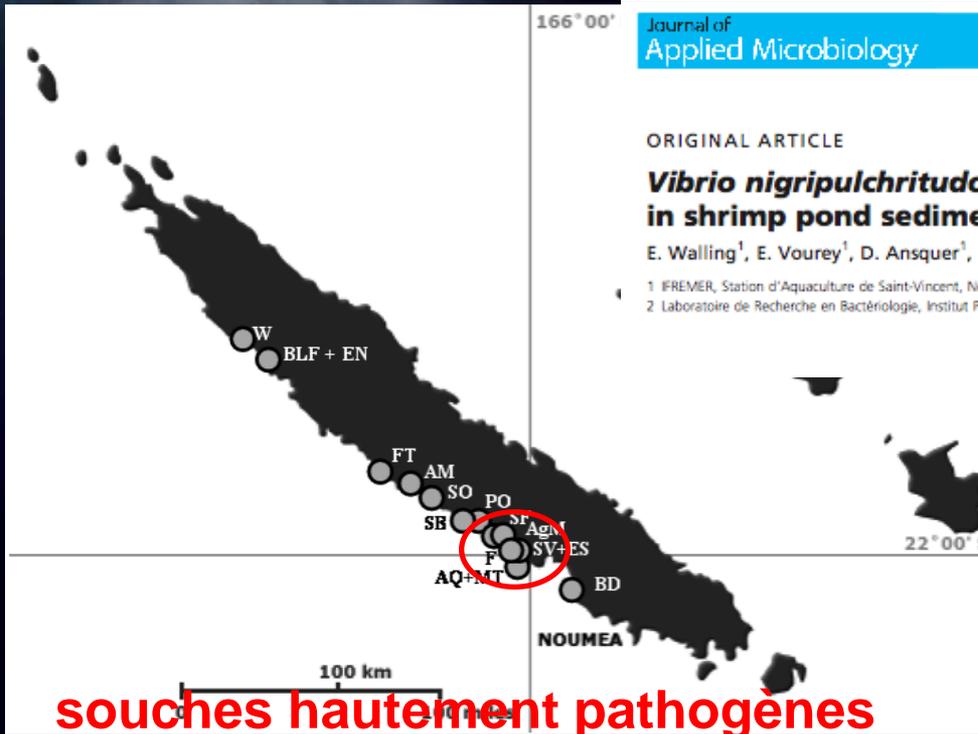
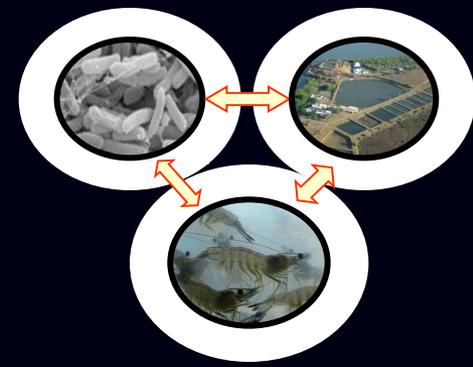
- La virulence des *Vibrio* / environnement



Quels sont les facteurs environnementaux qui régulent la virulence ?

De nombreuses questions....

- Les réservoirs: le sédiment et.....



Quels sont les réservoirs des *Vibrio* ?



Équipe Pathogènes, Infection & Epidémiologie

Les « anciens » : C. Goarant, E. Walling, Y. Labreuche

Les thésards: C. Goarant, J. de Lorgeril, Y. Reynaud

Les VSC: S. de Decker, E. Vourey, M. Vic, L. Pallandre, C. Dauga

+ une quinzaine de stagiaires

(Master 1 & 2, Licence Pro, BTS, école vétérinaire, etc)

V. Boulo, D. Ansquer, C. Dauga

Les collaborations



Institut Pasteur

Paris Nouméa

D. Mazel, C. Goarant

Génomoscope

Evry

C. Medigue

Équipe Génomique des Vibrio

Station Biologique – Roscoff

Y. Labreuche, F. Le Roux, D. Goudenège, A. Lemire

Suivi sanitaire

J. Herlin, B. Wapotro, AL. Marteau

Équipe Pathogènes, Infection & Epidémiologie

V. Boulo, D. Ansquer, C. Dauga

Harvard Med School

Boston, Etats-Unis

MK. Waldor, BM Davis

Équipe Réponse immunitaire

Ifremer Montpellier

E. Bachère, D. Destoumieux, J. De Lorgeril et Coll.

MIT

Cambridge, Etats-Unis

MF. Polz



Ifremer

Merci ...