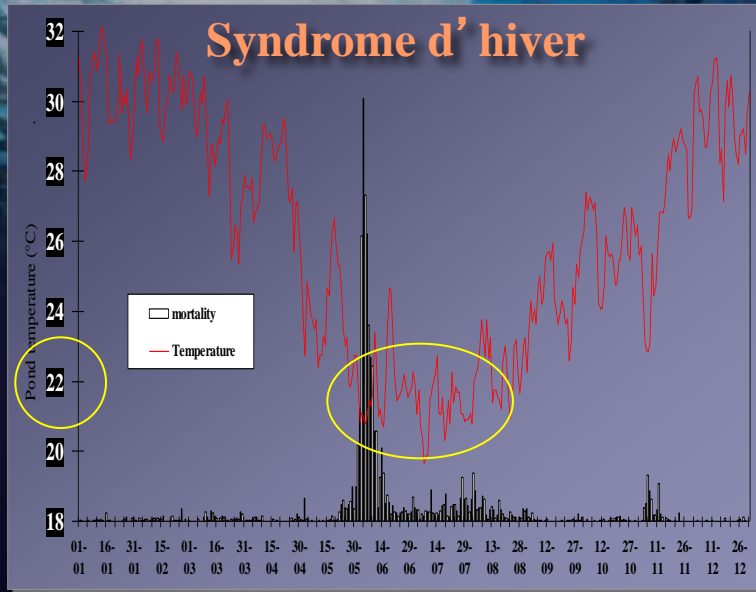
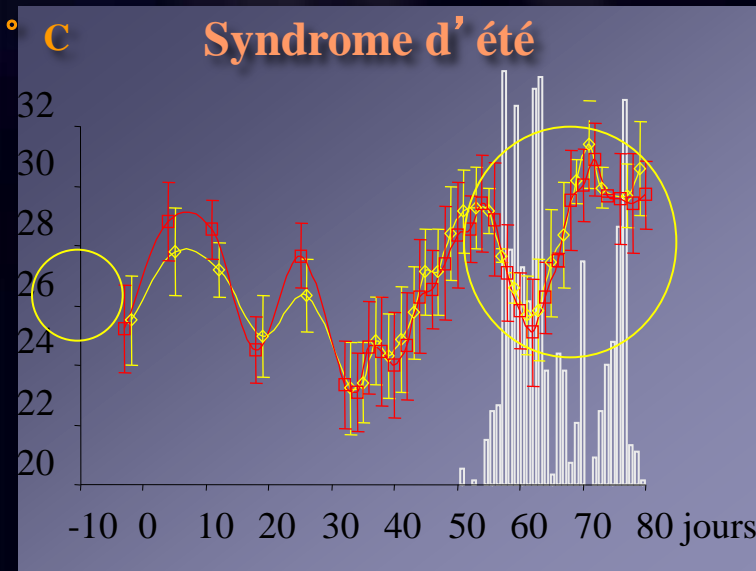


# Deux syndromes limitent les élevages de crevettes



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

1993



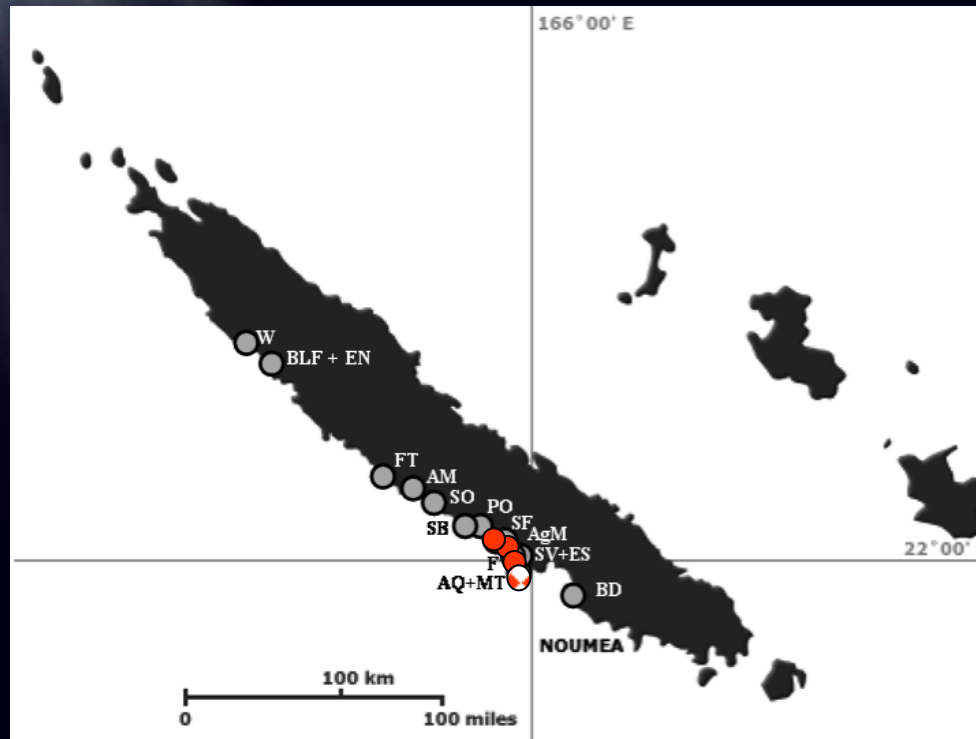
**Syndrome d'été**  
(mi-novembre à mi-avril)

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 ?

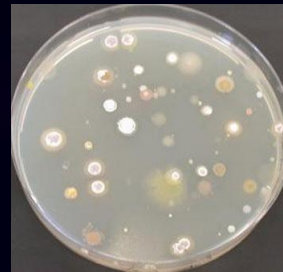
# 1- Quel rôle des pathogènes dans les mortalités ?



Prélèvement de sang



Etalement de l' extrait



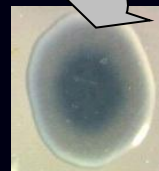
Culture des bactéries



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

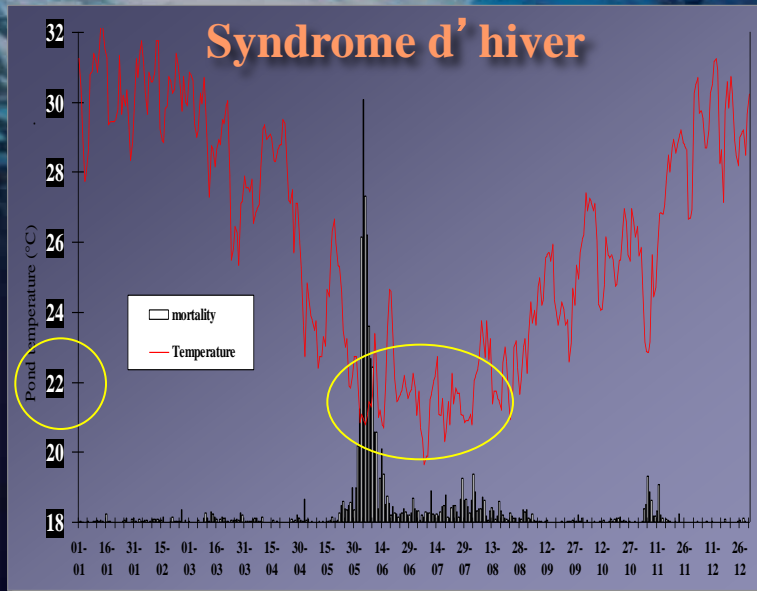
# identification des souches pathogènes

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



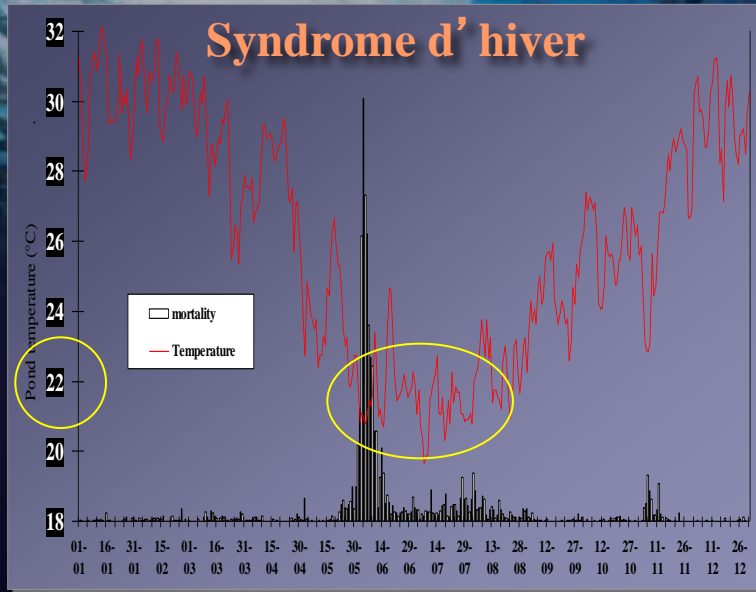
# identification des souches pathogènes



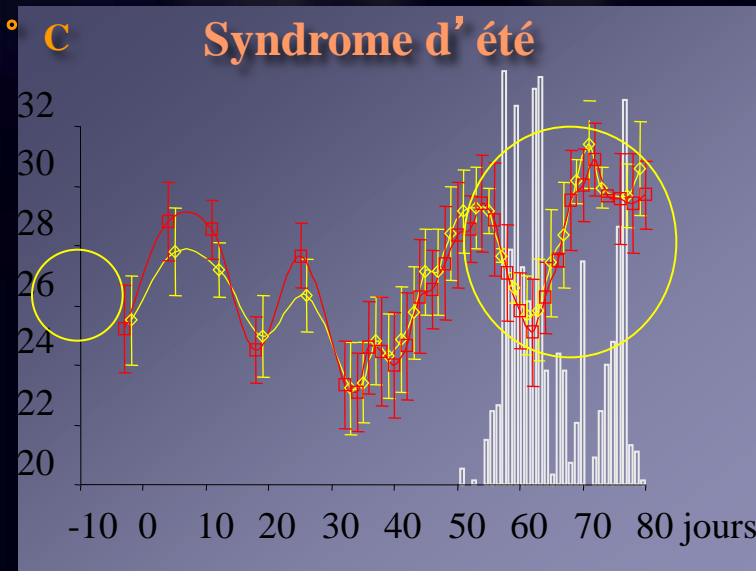
**Syndrome d'hiver**  
*Vibrio penaeicida*



# identification des souches pathogènes



**Syndrome d'hiver**  
*Vibrio penaeicida*



**Syndrome d'été**  
*Vibrio nigripulchritudo*

Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

 **SCIENCE @ DIRECT**

Aquaculture 253 (2006) 105–113

[www.elsevier.com/locate/aqua-online](http://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

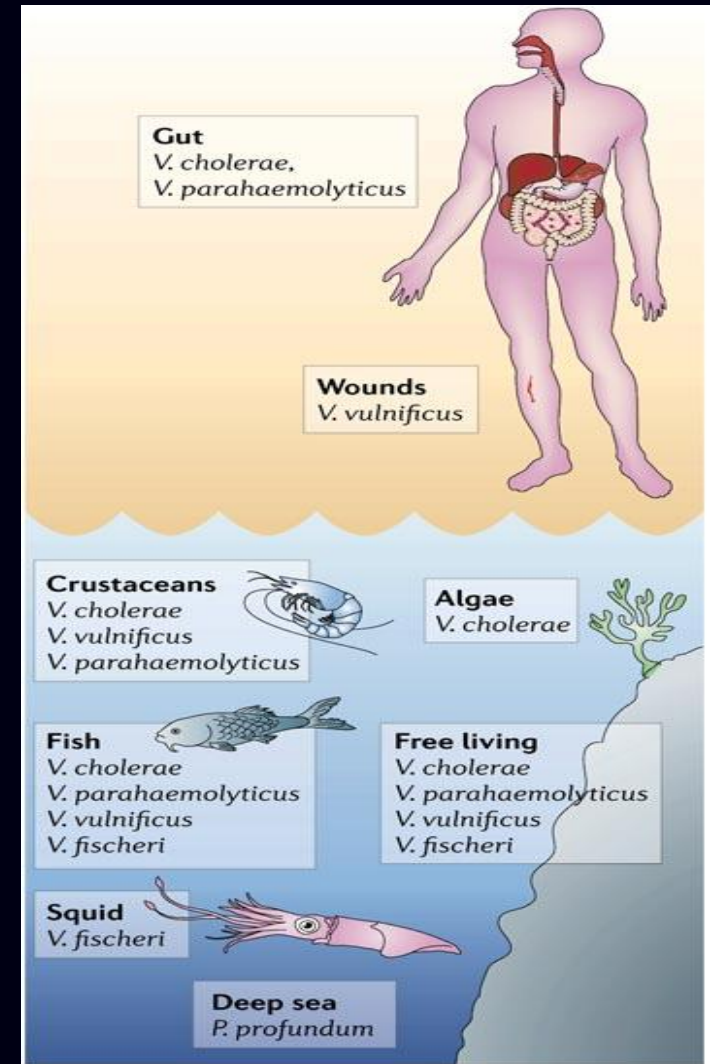
# Les *Vibrio* ?

\* bactéries marines

\* présentes partout

\* symbiotiques, pathogènes,  
commensales

→ problème majeur pour  
l'aquaculture



Copyright © 2006 Nature Publishing Group  
Nature Reviews | Microbiology

# Différents degrés de virulence chez *V. nigripulchritudo*



mortalité



souches Hautement Pathogènes (HP)

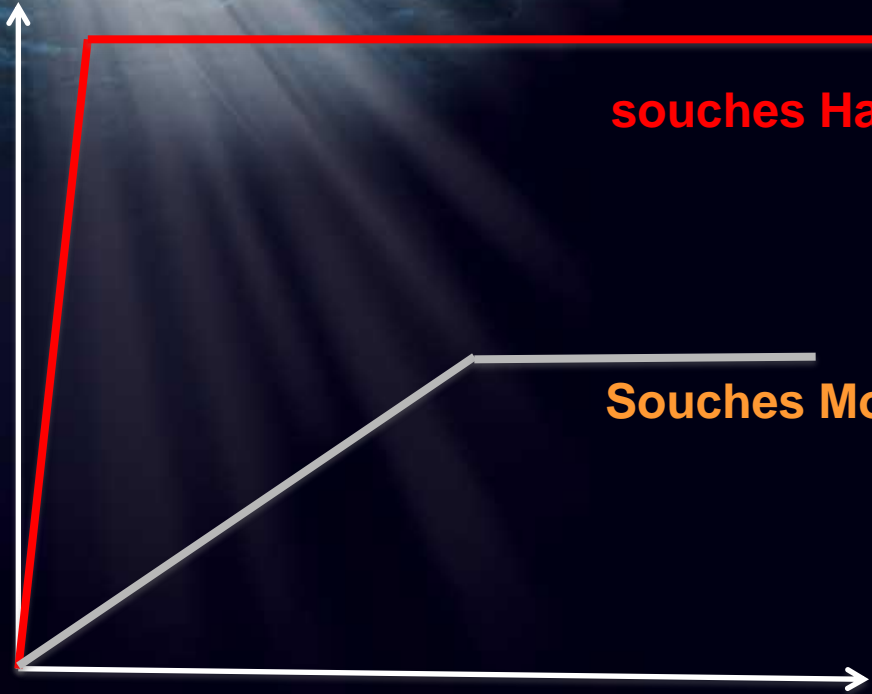


temps

# Différents degrés de virulence chez *V. nigripulchritudo*



mortalité



souches Hautement Pathogènes (HP)

Souches Moyennement Pathogènes

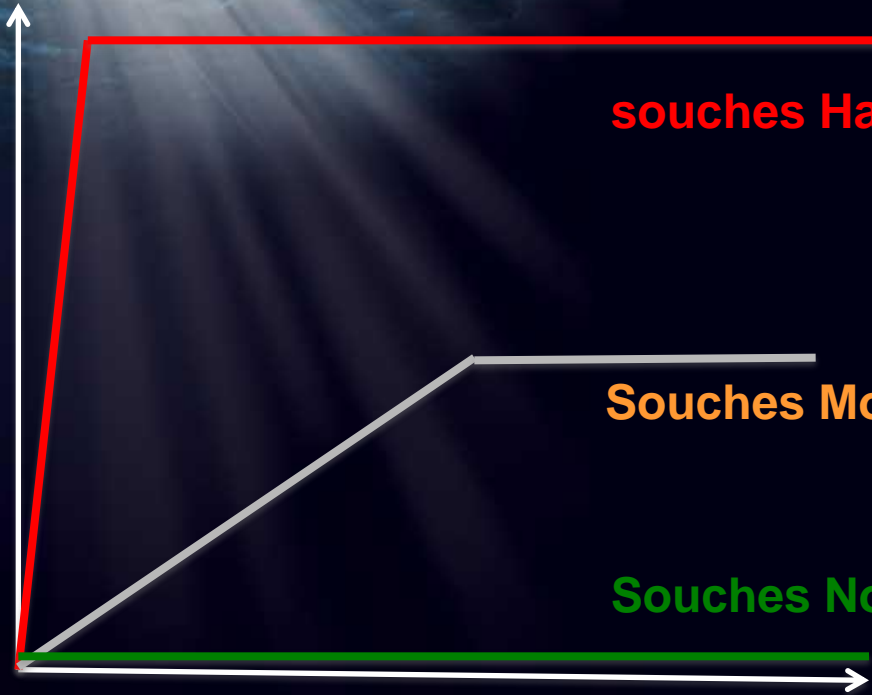
temps



# 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](http://www.sciencedirect.com)

ScienceDirect

Systematic and Applied Microbiology 29 (2006) 570–580

SYSTEMATIC AND  
APPLIED MICROBIOLOGY

[www.elsevier.de/syapm](http://www.elsevier.de/syapm)

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

Cyrille Goarant<sup>a,\*</sup>, Yann Reynaud<sup>a,b</sup>, Dominique Ansquer<sup>a</sup>, Sophie de Decker<sup>a</sup>, Denis Saulnier<sup>b</sup>, Frédérique le Roux<sup>b</sup>

# Comment distinguer les souches HP et NP ?

ADN souche HP

ADN souche NP

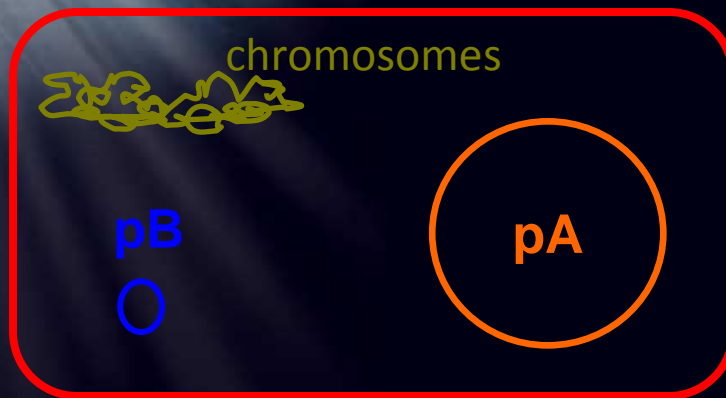


Comparaison des génomes = génomique comparative



# 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*<sup>V</sup>

Yann Reynaud,<sup>1,2</sup> Denis Saulnier,<sup>1</sup> Didier Mazel,<sup>3</sup> Cyrille Goarant,<sup>2†</sup> and Frédérique Le Roux<sup>1,3\*</sup>

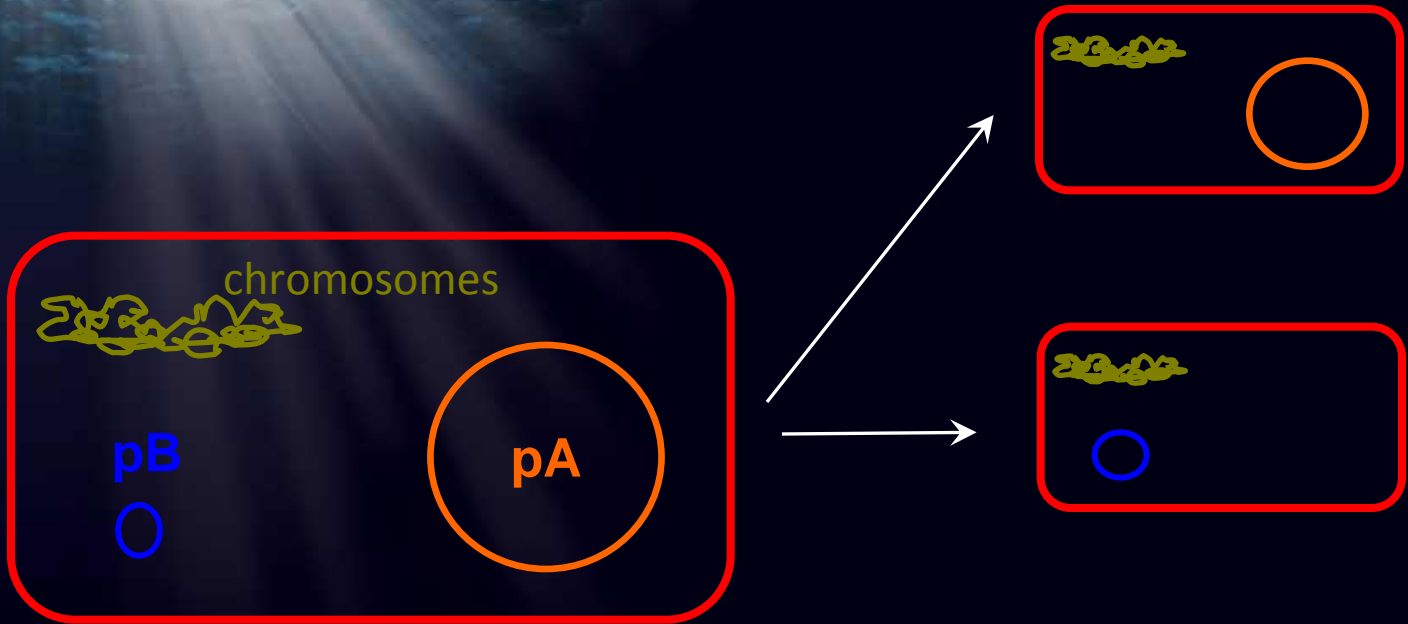
Laboratoire de Génétique et Pathologie, Ifremer, 17390 La Tremblade, France<sup>1</sup>; Département Aquaculture en Nouvelle-Calédonie, Ifremer, BP 2059, 98846 Nouméa Cedex, Nouvelle-Calédonie<sup>2</sup>; and Unité Plasticité du Génome Bactérien, CNRS URA 2171, Institut Pasteur, 25 Rue du Dr. Roux, 75724, Paris, France<sup>3</sup>

# Le rôle des plasmides ?

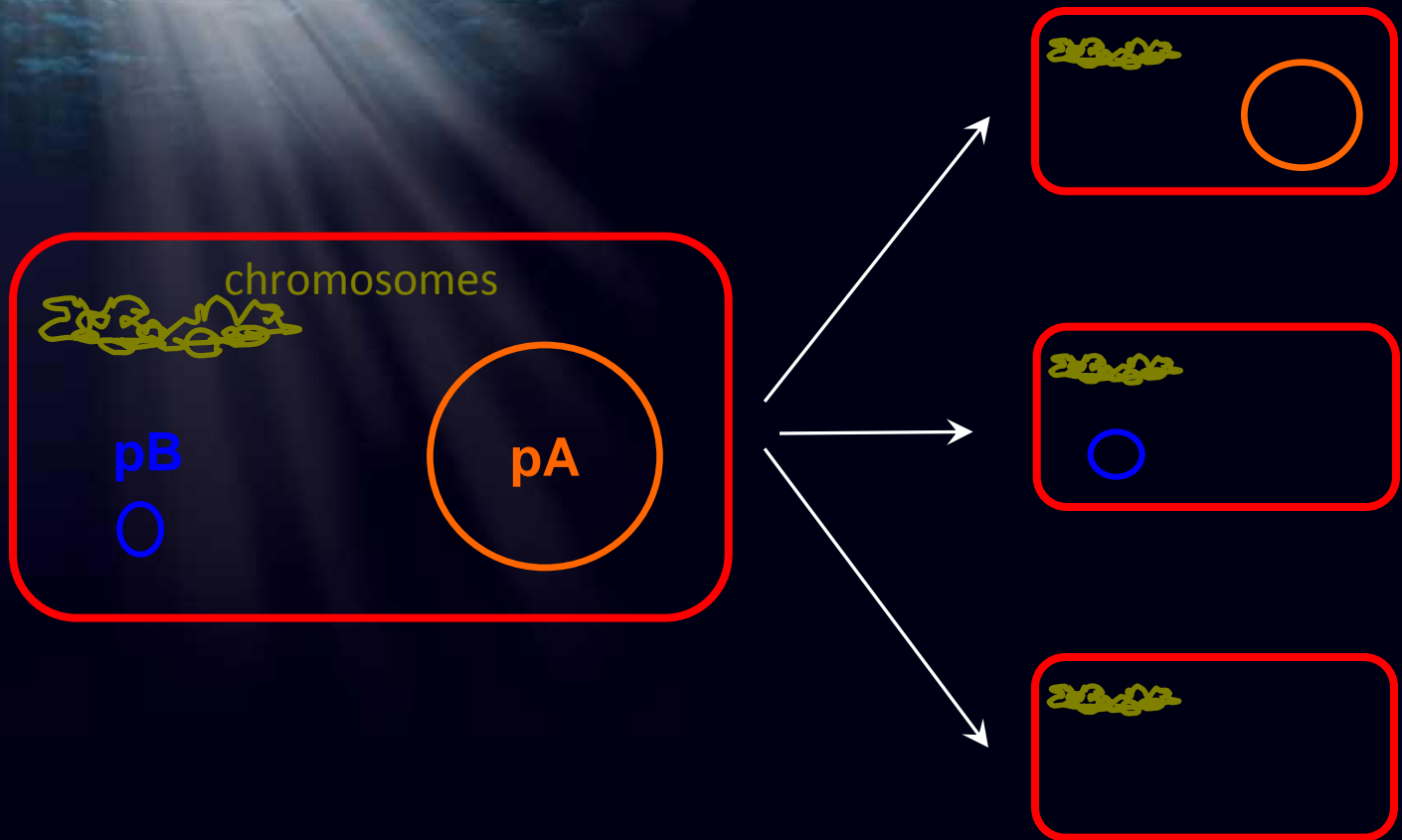




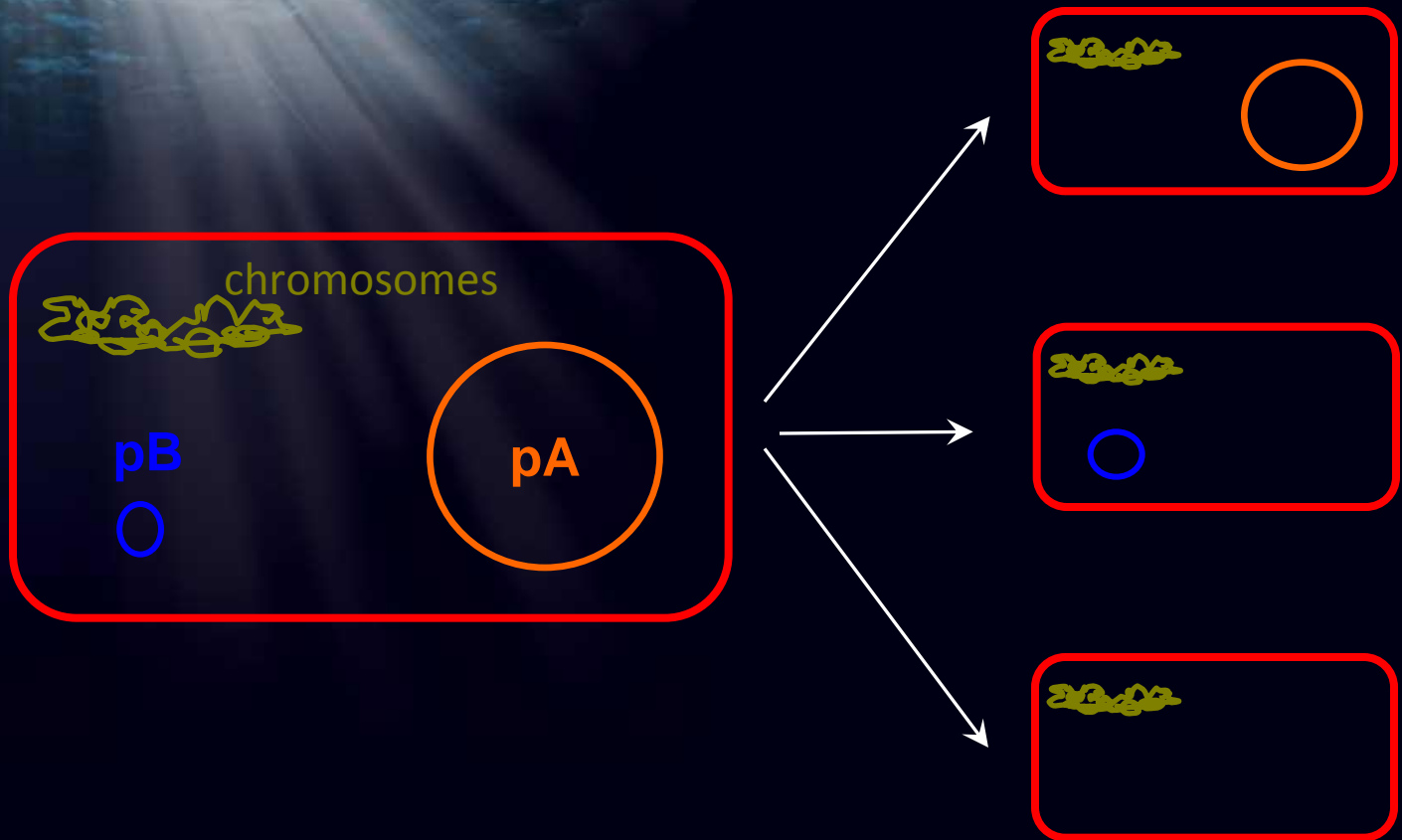
# Le rôle des plasmides ?



# Le rôle des plasmides ?



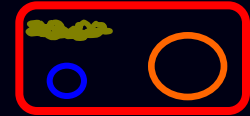
# Le rôle des plasmides ?



# Le rôle des plasmides ?



mortalité

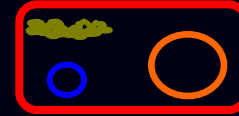
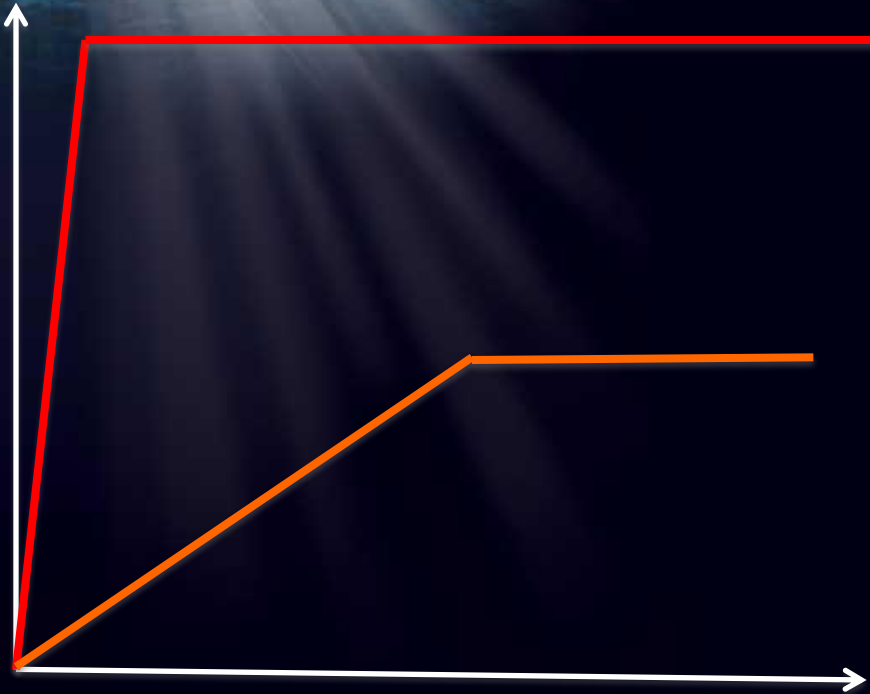


temps

# Le rôle des plasmides ?



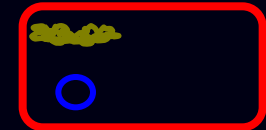
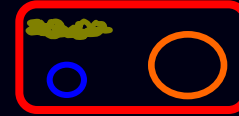
mortalité



temps

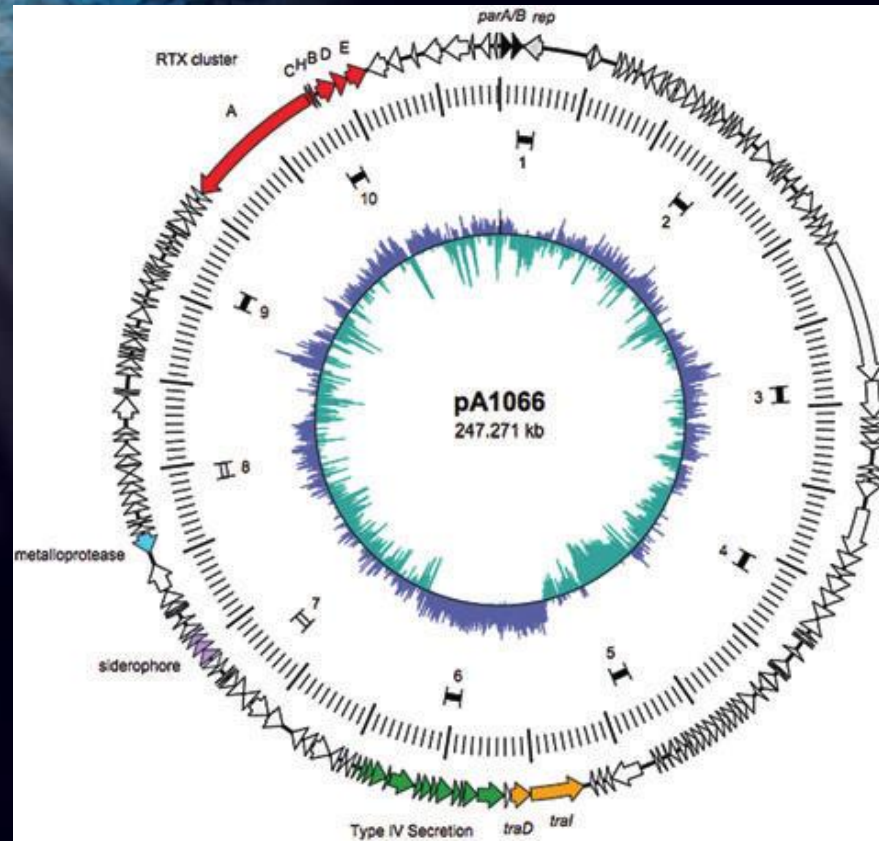
# Le rôle des plasmides ?

mortalité



Les plasmides jouent un rôle dans la virulence

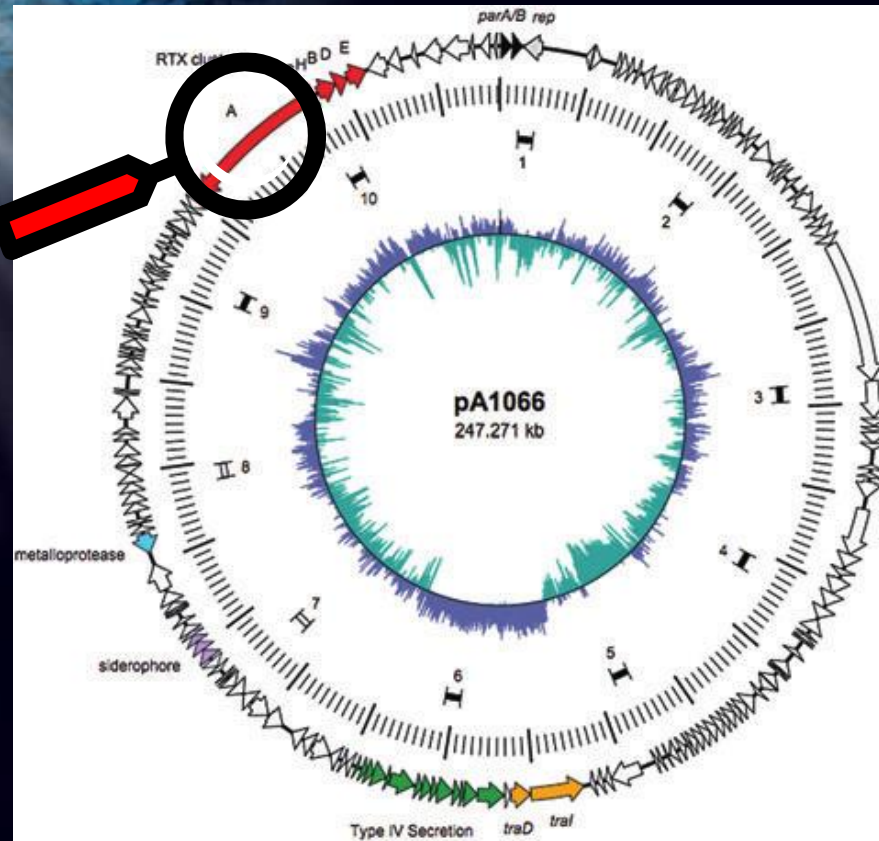
# Le grand plasmide de *V. nigrripulchritudo*



**179 gènes potentiels = 179 protéines**

# Le grand plasmide de *V. nigrripulchritudo*

toxine ?



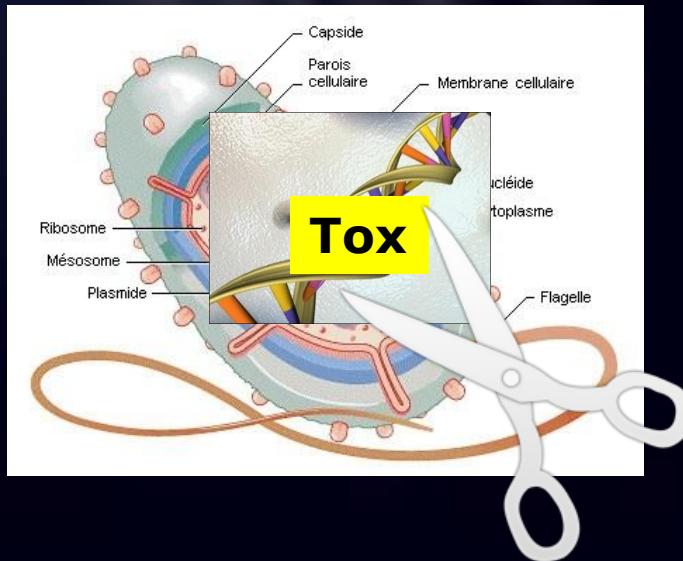
179 gènes potentiels = 179 protéines



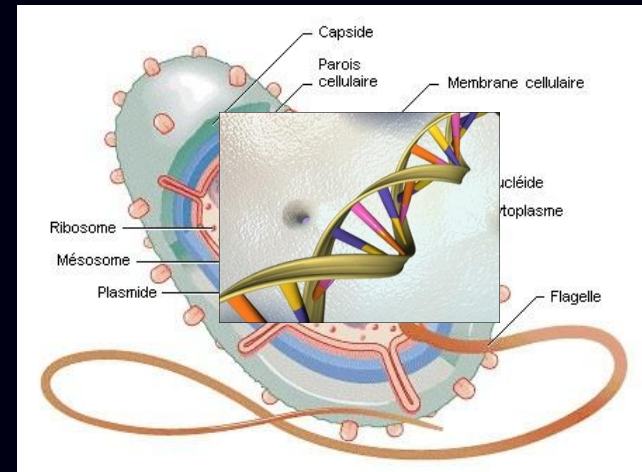
# Le grand plasmide de *V. nigripulchritudo*

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



environmental microbiology 

Environmental Microbiology (2011) 13(2), 296–306 doi:10.1111/j.1462-2920.2010.02329.x

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

Frédérique Le Roux,<sup>1,2\*</sup> Yannick Labreuche,<sup>3</sup> Brigid M. Davis,<sup>2</sup> Naeem Iqbal,<sup>4,5</sup> Sophie Mangenot,<sup>6</sup> Cyrille Goarant,<sup>7</sup> Didier Mazel<sup>4,5</sup> and Matthew K. Waldor<sup>1,2\*</sup>

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 ?

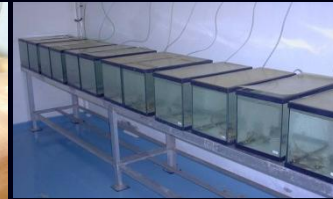


# Outils de diagnostic

= pathogène ?



Infection  
expérimentale



Quelques jours

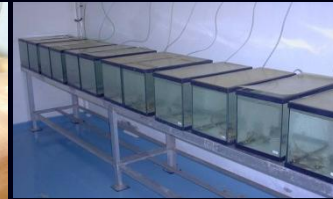


# Outils de diagnostic

= pathogène ?



Infection  
expérimentale



Quelques jours

PCR multiplexe



Quelques heures

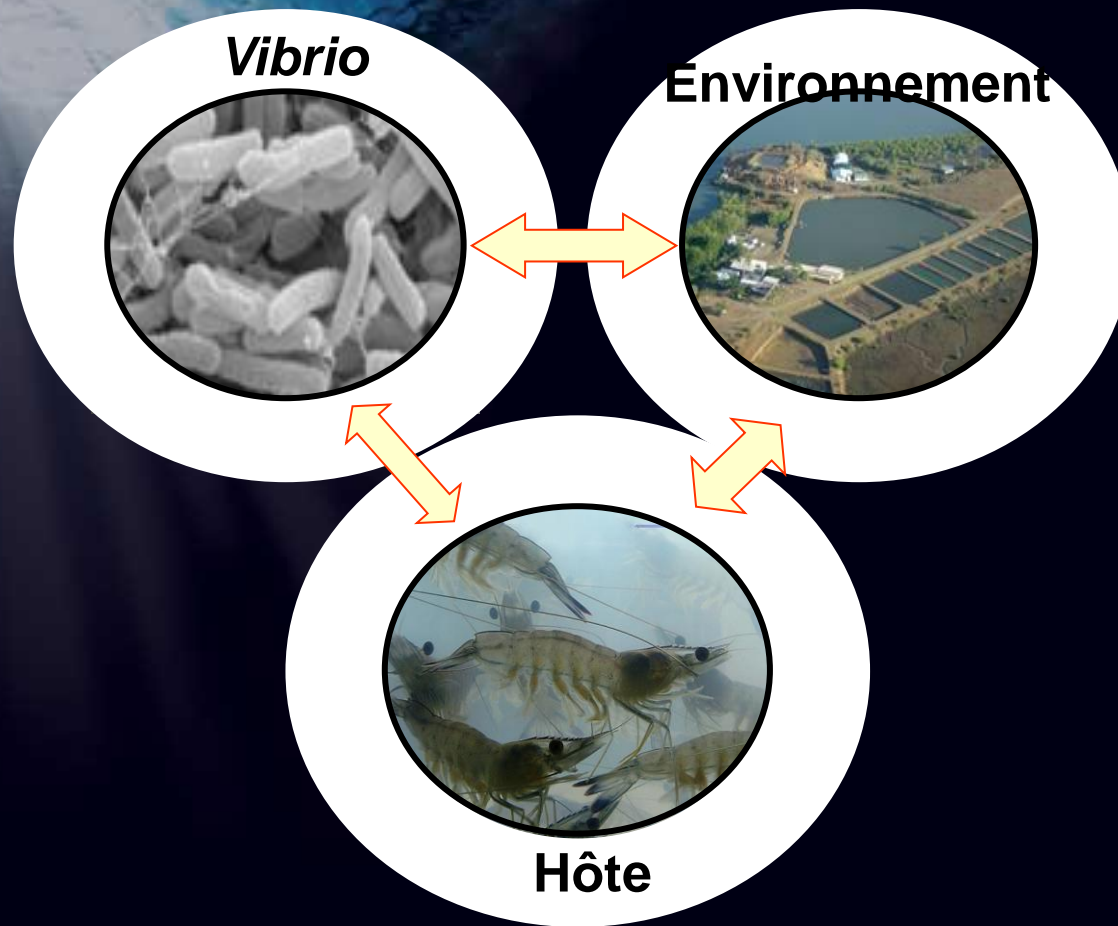
Microb Ecol (2012) 63:127–138  
DOI 10.1007/s00248-011-9951-3

ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY

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

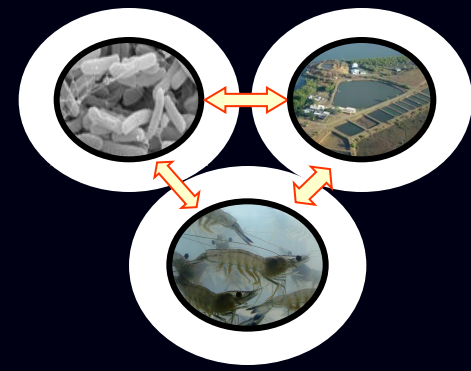
Yannick Labreuche · Laurane Pallandre ·  
Dominique Ansquer · José Herlin · Billy Wapoto ·  
Frédérique Le Roux

# De nombreuses questions....



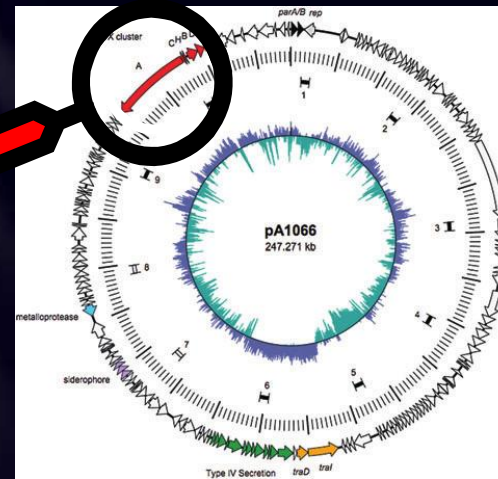


De nombreuses questions....



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

La toxine

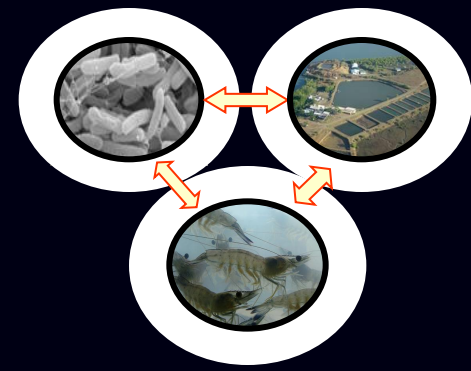


Comprendre comment elle agit ...  
pour la bloquer ?

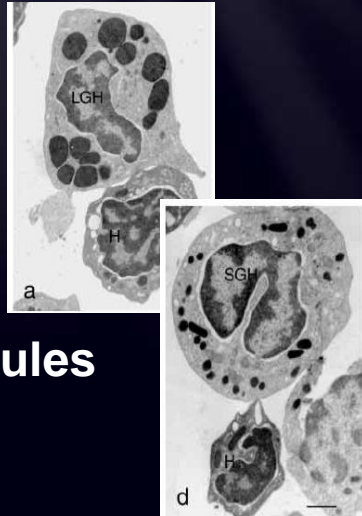


De nombreuses questions....

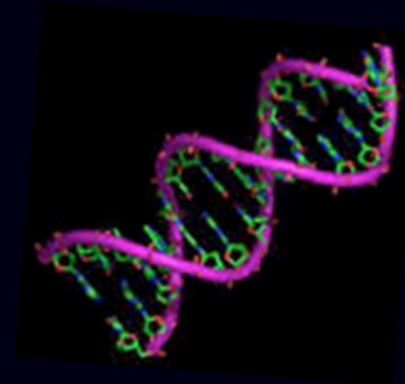
- La virulence des *Vibrio* / crevette



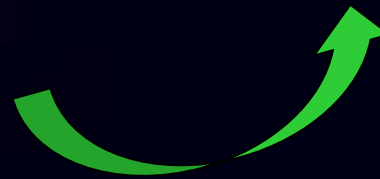
animal



cellules



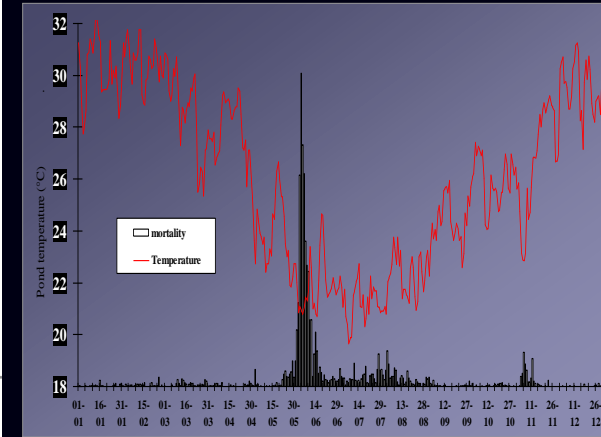
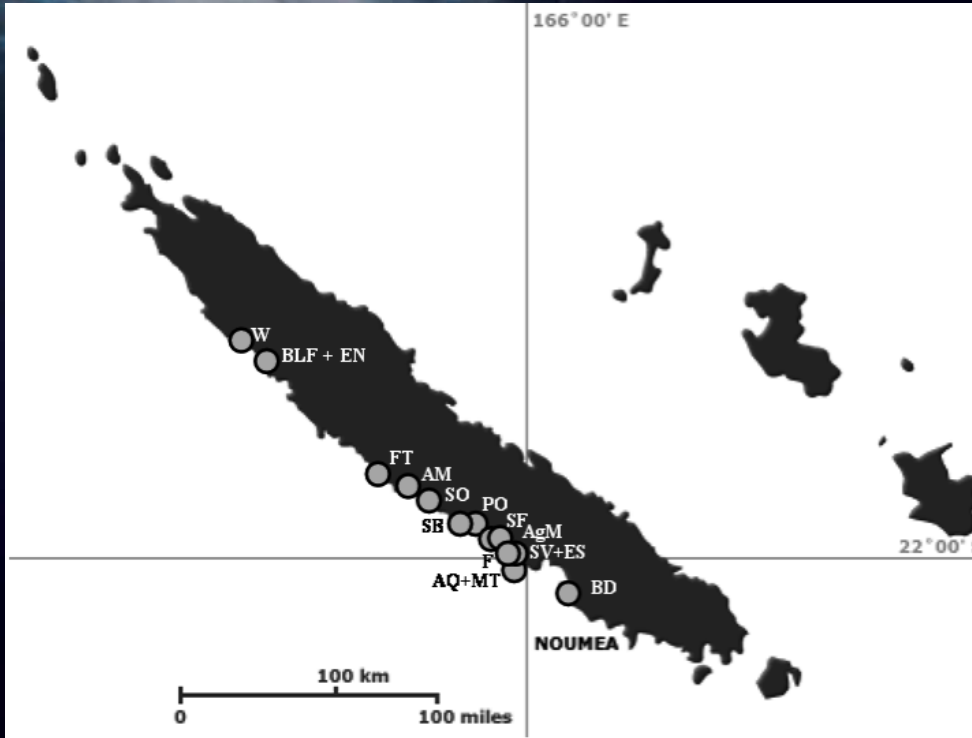
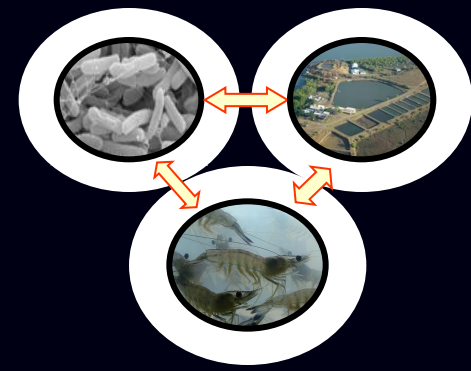
expression génique



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

De nombreuses questions....

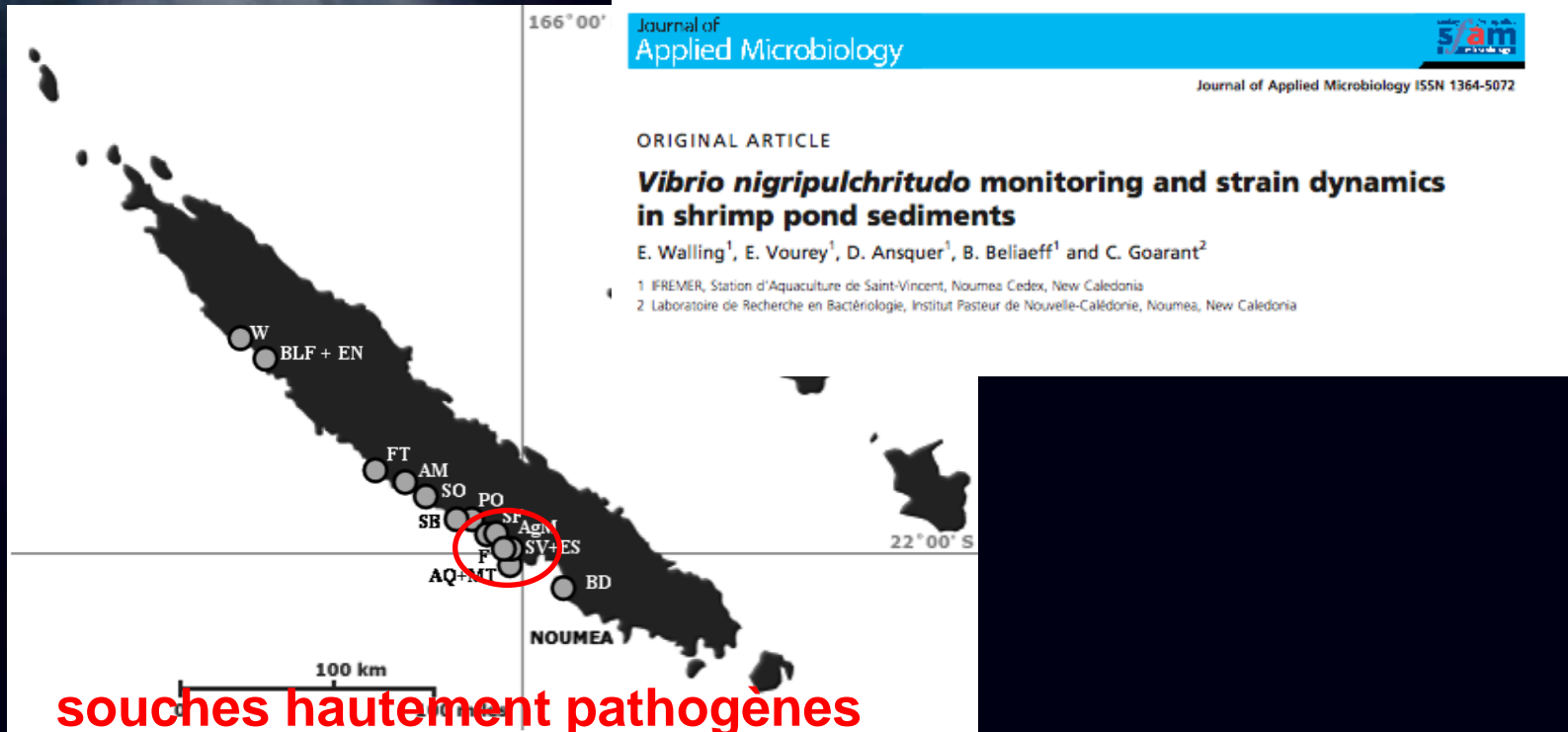
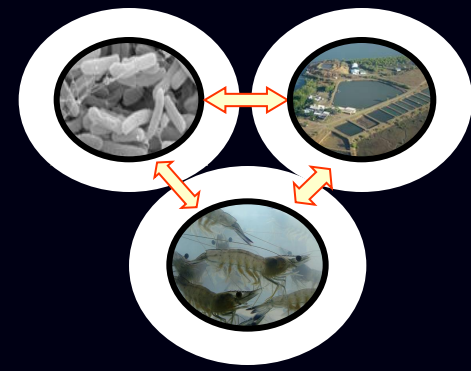
- La virulence des *Vibrio* / environnement



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

**Génoscope**

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 Lorget et Coll.

**MIT**

Cambridge, Etats-Unis

MF. Polz



**Ifremer**

**Merci ...**