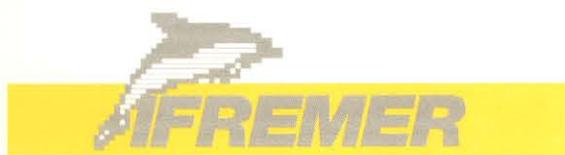


Station d'Aquaculture de Saint-Vincent

IFREMER
BIBLIOTHEQUE
LA TREMBLADE



Nouvelle-Calédonie



et le GIE Recherche Aquacole



PROVINCE NORD



PROVINCE SUD

STATION D'AQUACULTURE DE SAINT-VINCENT

Contrat Cadre « Crevettes » n° 99/1213397/YNC

**Suivi épidémiologique de *Vibrio penaeicida* :
étude de la transmission pseudo-verticale : suivi des écloseries.**

Rédacteur :
Cyrille GOARANT, Equipe Pathologie, SASV.

Type de rapport et n° :

**Fiche biotechnique
99.08**

Résumé :

Dans le cadre du suivi épidémiologique de *Vibrio penaeicida* dans les élevages de crevettes du Territoire, il importait de considérer l'éventualité d'une transmission pseudo-verticale du pathogène, c'est-à-dire des géniteurs aux larves et post-larves. Ce suivi a concerné des productions de quatre écloseries du Territoire (Ecloserie du Nord, Ecloserie de Mara, Ecloserie de Montagnès et Ecloserie de la SASV) à différentes saisons, et sur différents stades de développement. Le portage de *V. penaeicida* est confirmé sur les géniteurs, mais la transmission pseudo-verticale semble exclue au vu des résultats de ce suivi.

**Suivi épidémiologique de *Vibrio penaeicida* :
étude de la transmission pseudo-verticale : suivi des écloséries.**

Le Syndrome 93 est une pathologie qui affecte les élevages de crevettes au cours de la phase de grossissement en bassins en Nouvelle-Calédonie. Il a été démontré que les postlarves ne sont pas sensibles à *Vibrio penaeicida*, agent étiologique majeur du Syndrome 93 (fiche biotechnique 97.15). Toutefois, dans le cadre du suivi épidémiologique de ce *Vibrio* pathogène, il importait de vérifier s'il existait une transmission de ce germe des géniteurs à leur descendance, par une voie que l'on peut qualifier de "pseudo-verticale".

La transmission verticale vraie impliquerait la présence de *Vibrio penaeicida* à l'intérieur d'ovocytes (ou de spermatozoïdes) viables, ce qui semble hautement improbable. La contamination peut par contre se faire par le biais de l'eau, des fèces ou des particules en suspension, qui permettraient à *V. penaeicida* d'être fixé en surface des œufs et de contaminer les larves après éclosion (comme c'est notamment le cas avec le virus MBV). Pour décrire ce mécanisme le terme de transmission "pseudo-verticale" a été choisi.

I. Matériel et méthodes :

I.1 : Sites de l'étude

Les quatre écloséries étudiées sont situées le long de la côte Ouest de la Nouvelle-Calédonie. On trouve du Nord au Sud les écloséries "du Nord" (à Koné, proche de la ferme Blue Lagoon Farms), "de Mara" (à Moindou, proche de la ferme Sodacal), de la SASV (à la Ouenghi, sur le site de la Station d'Aquaculture de Saint Vincent) enfin "de Montagnès" (à Tontouta, proche de la ferme Aquamon). Ces écloséries disposent chacune de leurs propres élevages de géniteurs, dans des bassins de terre attenants à la ferme dont ils sont voisins, et bénéficiant de la même adduction d'eau. Les écloséries du Nord et de Montagnès utilisent des algues unicellulaires aux stades Zoé phytophagiques, les écloséries de Mara et de la SASV n'utilisent que des microparticules.

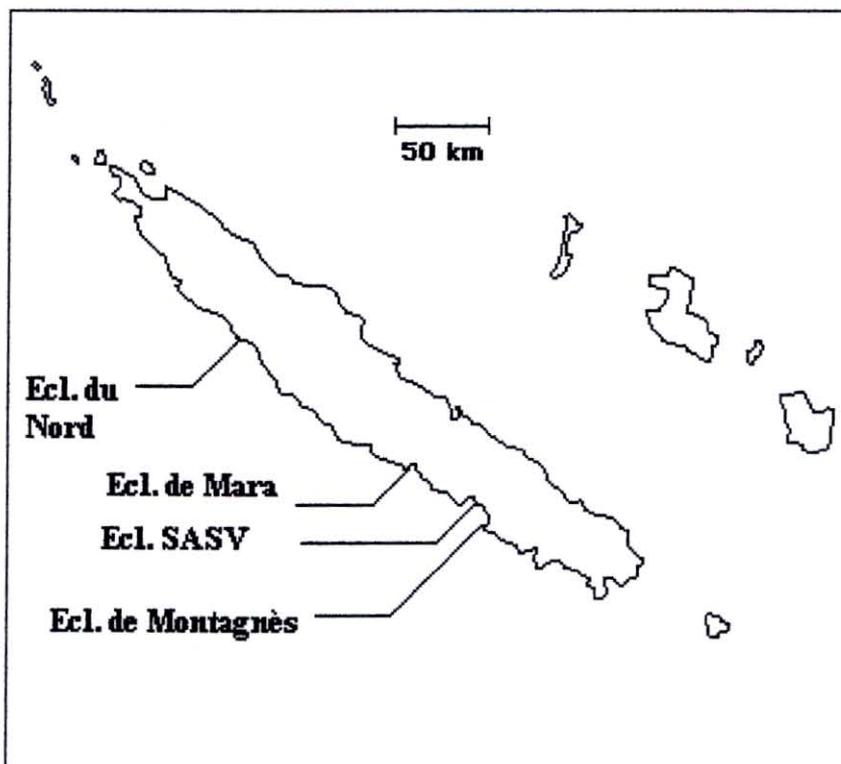


Figure 1 : Localisation des sites de l'étude.

I.2 : Méthodes

Les échantillons sont prélevés tel que décrit dans le tableau ci-dessous.

Nature	Technique
Géniteurs (5 mâles et 5 femelles) en salle de maturation	Ponction d'hémolymphe en solution d'Alsever (voir fiche biotechnique 98.21)
Nauplii	environ cent individus issus d'un mélange de pontes de la veille (avant la mise en bac d'élevage larvaire) broyés.
Postlarves à la sortie des bacs d'élevage larvaire	20 à 30 PL broyées au moment (parfois la veille) de la sortie de nursery
Postlarves à la sortie de la nursery	20 PL au jour de la pêche de la nursery broyés (parfois la veille, parfois au moment de l'ensemencement du bassin destinataire)

Les hémolymphe des géniteurs sont traitées de façon identique aux hémolymphe des animaux issus des bassins de grossissement (cf. fiche biotechnique 98.21).

Les broyats sont effectués après rinçage à l'eau de mer stérile et avec le moins d'eau possible dans un mortier de 1 ml (Nauplii) ou 5 ml (Postlarves). Dix µl de broyat sont repris à la micropipette et placés dans la suspension de chelex + protéinase K (cf. fiche biotechnique 98.21).

Les prélèvements, faits particuliers et résultats sont présentés dans le tableau en annexe 1.

II. Résultats et discussion :

Certaines productions de certaines écloséries n'ont pratiquement pas été étudiées ; toutefois, les résultats sont suffisamment concordants pour apporter les informations recherchées.

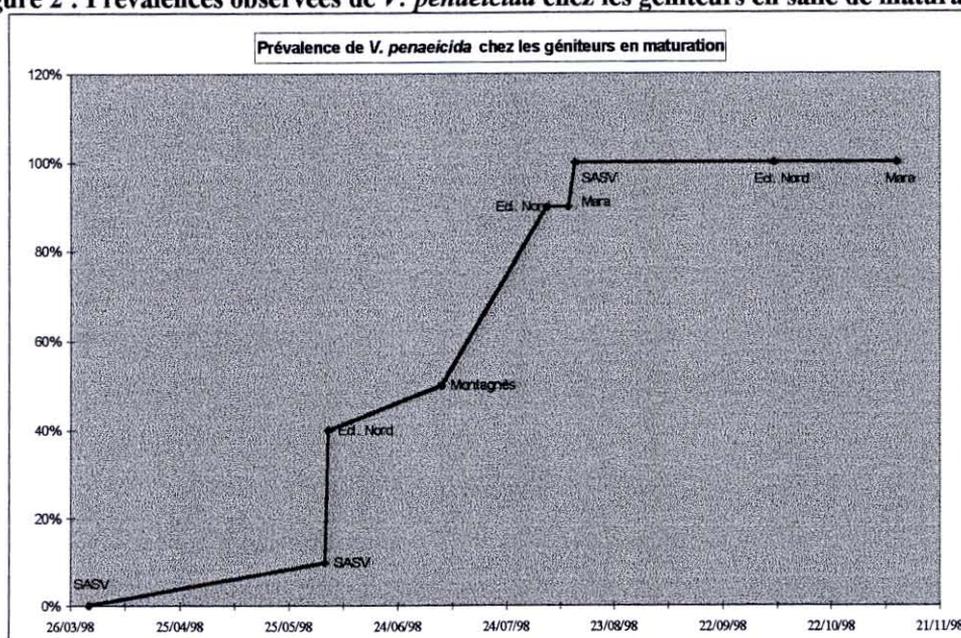
II.1. Géniteurs :

Le tableau 1 présente les survies des élevages géniteurs, la mortalité des mâles durant une semaine après l'entrée en maturation, des femelles durant 4 à 6 jours après l'entrée en maturation et avant épédonculation, la prévalence observée de *Vibrio penaeicida* dans les hémolymphe et le nombre de jours entre l'entrée en maturation et l'observation de cette prévalence.

Les résultats démontrent une prévalence relativement importante de *Vibrio penaeicida* chez les géniteurs. Ce portage n'affecte pas la survie des élevages géniteurs (voir tableau 1), ce qui souligne encore l'importance des conditions d'élevage sur les facteurs déclenchant la mortalité due au Syndrome 93. La prévalence semble marquée par la saison (voir figure 2), avec un minimum en début de suivi (Mars 1998) et un maximum atteint dès le mois d'août 1998 qui se maintient jusqu'en fin du suivi (Novembre 1998).

N.B. : L'éventualité d'une contamination d'un des ingrédients d'extraction (chelex ou protéinase K) par de l'ADN de *Vibrio penaeicida* vers la fin du suivi a été prise en considération. Cette hypothèse s'est avérée fautive, puisque dans la même période, de nombreux échantillons étaient négatifs (nauplii, postlarves, ainsi que des hémolymphe d'animaux en bassin de grossissement).

Figure 2 : Prévalences observées de *V. penaeicida* chez les géniteurs en salle de maturation.



Ces résultats confirment que les géniteurs peuvent être porteurs sains de *Vibrio penaeicida*, et que les stress que constituent l'entrée des géniteurs en salle de maturation et leur confinement en bacs peuvent être responsables du déclenchement d'une vibriose septicémique comme cela a déjà été observé. Cette mortalité observée lors de l'entrée en maturation peut donc être considérée comme un épisode de Syndrome 93 déclenché par le stress de transfert, et par suite relativement indépendant des conditions climatiques.

Toutefois, aucune corrélation entre la prévalence de *Vibrio penaeicida* et ce type de mortalité à l'entrée en maturation n'est notée (voir tableau 1). Les conditions de pêche et de transfert pourraient expliquer les différences de mortalité observées lors de l'entrée en maturation entre les différentes écloséries et les différentes productions.

Tableau 1 : Survies des élevages géniteurs, mortalité après l'entrée en maturation, prévalence de *Vibrio penaeicida* et nombre de jours entre l'entrée en maturation et l'observation de cette prévalence.

Lot de géniteurs	Prévalence observée (Jour)	Survie élevage géniteurs	Mortalité entrée en maturation
SASV Mars 98	0 / 10 (J 27)	87 %	4,7 % femelles 3,4 % mâles
SASV Juin 98	1 / 10 (J 12)	82,7 %	11,6 % femelles 4,2 % mâles
Ecl. Nord Juin 98	4 / 10 (J 14)	49,9 %	1,9 % femelles 1,2 % mâles
Ecl. Montagnès Juillet 98	5 / 10 (J 13)	74,4 %	8,1 % femelles 4,4 % mâles
Ecl. Nord Août 98	9 / 10 (J 13)	86 %	4,6 % femelles 12,2 % mâles
Ecl. Mara Août 98	9 / 10 (J 11)	79,5 %	0,7 % femelles 2,7 % mâles
SASV Août 98	10 / 10 (J 8)	84,5 %	16,7 % femelles 36,7 % mâles
Ecl. Nord Octobre 98	10 / 10 (J 11)	69,3 %	1,3 % femelles 6,4 % mâles
Ecl. Mara Novembre 98	10 / 10 (J 11)	69 %	19 % femelles mâles : non consigné (0 % ?)

II.2. Nauplii

Aucun des 9 prélèvements de larves au stade Nauplius effectués entre le 31 mars et le 9 novembre 1998 dans les quatre écloseries suivies n'a donné de résultat positif à l'amplification génique à l'aide des amorces spécifiques de *V. penaeicida*. Ce résultat est cohérent avec les connaissances acquises dans les suivis bactériologiques des élevages larvaires. La flore Vibrionacée est classiquement à un niveau extrêmement bas au cours des premiers jours d'élevage larvaire. Ce résultat est probablement obtenu par la technique mise en œuvre au moment de l'éclosion. Cette technique présente deux avantages considérables :

- Les œufs et les larves écloses subissent un rinçage abondant avec une eau filtrée tout au long du processus d'éclosion.
- La récolte des larves viables sélectionnées par phototropisme en surface des éclosoirs permet également de ne transférer dans les bacs d'élevage ni les œufs non éclos, ni les éventuels contaminants provenant du pondoir (fèces notamment).

Vue la concordance de ces neuf résultats négatifs, la transmission pseudo-verticale de *V. penaeicida* peut être exclue.

II.3. Postlarves en sortie de bac d'élevage larvaire et en sortie de nursery

Au même titre, aucun des 21 prélèvements de postlarves (10 en sortie de bacs d'élevage larvaire et 11 en sortie de nursery) ne donne de résultat positif à l'amplification génique à l'aide des amorces spécifiques de *V. penaeicida*. Il a été montré par des séries d'infections expérimentales que les postlarves, jusqu'à l'acquisition de la formule rostrale définitive n'étaient pas sensibles à l'infection par *V. penaeicida* (fiche biotechnique 97.15). Obtenu en conditions d'élevage industriel, ce résultat confirme d'une certaine façon le caractère "réfractaire" des stades postlarvaires à ce pathogène. Il démontre en outre que les postlarves ne sont pas porteuses de ce *Vibrio* pathogène au moment où elles sontensemencées en bassin.

III. Conclusions :

Ce volet "écloseries" du suivi épidémiologique de *Vibrio penaeicida* a exploré la possibilité d'une transmission pseudo-verticale de ce pathogène.

Les résultats permettent d'exclure une transmission pseudo-verticale de *Vibrio penaeicida* dans les élevages de grossissement. Ils confirment que la voie d'entrée majeure de ce pathogène est l'eau de pompage, comme l'avait laissé entrevoir l'étude de typage moléculaire des souches en AP-PCR (rapport scientifique et technique 97.01) et les résultats préliminaires du suivi épidémiologique de ce pathogène sur les fermes de grossissement (fiches biotechniques 98.21, 98.23 et 99.03).

Toutefois, la répartition actuelle d'un autre vibron pathogène, *Vibrio nigripulchritudo*, et son extension géographique depuis sa répartition initiale (voir rapport scientifique et technique 97.01) évoquent la possibilité que des postlarves ont pu véhiculer ce pathogène. A cet égard, il serait intéressant de pouvoir utiliser des amorces spécifiques de *V. nigripulchritudo* sur ces mêmes échantillons pour réaliser une étude similaire. Dans l'attente de cette seconde étude, les précautions recommandées dans le rapport scientifique et technique 97.01 et rappelées ci-dessous restent d'actualité.

Recommandation du RST 97.01

"La mesure prioritaire à mettre en oeuvre semble être de proscrire les échanges d'animaux juvéniles ou adultes (notamment géniteurs) entre fermes ou écloseries. En cas d'absolue nécessité, ces échanges pourraient avoir lieu, s'ils étaient précédés d'une antibiothérapie ciblée et dont l'efficacité devrait être montrée par des analyses de sensibilité des souches bactériennes présentes."

Annexe 1 :

Calendrier des prélèvements et résultats des amplifications géniques
à l'aide des amorces spécifiques de *Vibrio penaeicida*.

date	Ecl. du Nord	Ecl. de Mara	Ecl. SASV	Ecl. Montagnès	Résultat de l'amplification
31-mar-98			10 géniteurs Nauplii		0 positif sur 10 négatif
06-avr-98			PL sortie éclosion		négatif
14-avr-98			PL sortie nursery		négatif
04-jun-98			10 géniteurs Nauplii		1 positif sur 10 négatif
05-jun-98	10 géniteurs Nauplii				4 positifs sur 10 négatif
09-jun-98			PL sortie éclosion		négatif
18-jun-98	PL sortie éclosion				négatif
02-jul-98	PL sortie nursery				négatif
06-jul-98				10 géniteurs Nauplii	5 positifs sur 10 négatif
21-jul-98				PL sortie éclosion	négatif
04-août-98	10 géniteurs Nauplii				9 positifs sur 10 négatif
05-août-98				PL sortie nursery	négatif
10-août-98		10 géniteurs Nauplii			10 positifs sur 10 négatif
12-août-98			10 géniteurs Nauplii		10 positifs sur 10 négatif
21-août-98	PL sortie éclosion				négatif
31-août-98		PL sortie éclosion			négatif
03-sep-98	PL sortie nursery				négatif
19-sep-98			PL sortie nursery		négatif
23-sep-98				PL sortie éclosion	négatif
06-oct-98	10 géniteurs Nauplii				10 positif sur 10 négatif
07-oct-98				PL sortie nursery	négatif
09-oct-98		PL sortie nursery			négatif
19-oct-98	PL sortie éclosion				négatif
02-nov-98	PL sortie nursery				négatif
09-nov-98		10 géniteurs Nauplii			10 positif sur 10 négatif
27-nov-98		PL sortie nursery			négatif
24-déc-98		PL sortie nursery			négatif
13-jan-99				PL sortie nursery	négatif
14-jan-99	PL sortie éclosion				négatif