

## Interactions Vibrio-hôte

### De la niche environnementale à la virulence

Garance Chabannes<sup>1\*</sup>, Tessa Martins<sup>1\*</sup>, Helena Montereale<sup>1\*</sup>,  
Elisa Montredon<sup>1\*</sup>, Sophie Tronnet<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Master 2 Microbiologie intégrative et fondamentale, Aix-Marseille université, Marseille, France.

<sup>2</sup>Aix-Marseille université, CNRS, Centrale Med, Institut des sciences moléculaires de Marseille (iSm2), Marseille, France.

[garance.chabannes@etu.univ-amu.fr](mailto:garance.chabannes@etu.univ-amu.fr)

[tessa.martins@etu.univ-amu.fr](mailto:tessa.martins@etu.univ-amu.fr)

[helena.montereale@etu.univ-amu.fr](mailto:helena.montereale@etu.univ-amu.fr)

[elisa.montredon@etu.univ-amu.fr](mailto:elisa.montredon@etu.univ-amu.fr)

\*Contributions équivalentes

Auteur pour la correspondance : [sophie.tronnet@univ-amu.fr](mailto:sophie.tronnet@univ-amu.fr)

> Les bactéries du genre *Vibrio* sont des bacilles didermes<sup>1</sup>, omniprésents dans les écosystèmes marins et estuariens, et vivant sous forme planctonique ou associés à d'autres microorganismes et surfaces au sein de biofilms. Ces bactéries possèdent une capacité remarquable à établir des interactions, souvent commensales, avec de nombreux organismes aquatiques incluant poissons, mollusques, crustacés, coraux et amibes [1, 2] (Figure 1A).

Douze espèces sont identifiées comme pathogènes pour l'Homme (dont *V. cholerae* et *V. parahaemolyticus*), chez qui elles provoquent majoritairement des gastro-entérites. D'autres espèces, comme *V. crassostreae* ou *V. tasmaniensis* (membres du clade Splendidus), sont à l'origine d'une forte mortalité chez divers organismes marins, en particulier les huîtres juvéniles [2].

La France, premier producteur européen d'huîtres avec 81000 tonnes annuelles, exploite principalement l'huître creuse *Crassostrea gigas* [3]. Les mortalités récurrentes d'huîtres, dues notamment aux vibrioses, affectent la stabilité économique de l'ostréiculture. Les huîtres sont des organismes filtreurs qui possèdent un système circulatoire semi-ouvert (Figure 1B), le système hémolympatique, dans lequel coexistent un microbiote et des cellules immunitaires : les hémocytes, cellules cibles des vibrios pathogènes. Ainsi, l'huître creuse est un modèle pertinent d'étude de la virulence

bactérienne et des réponses immunitaires de l'hôte.

Dans cet article, nous présentons les avancées portant sur les mécanismes cellulaires et moléculaires qui mènent au succès de la colonisation de l'huître par *V. tasmaniensis* et *V. crassostreae*. Pour bien comprendre la dynamique de ces infections, l'interaction entre vibrios et amibes est également abordée, car elle contribue à l'acquisition de la virulence des vibrios. Ces avancées invitent à redéfinir l'émergence des facteurs de virulence comme le résultat d'une adaptation évolutive des vibrios à leurs niches environnementales.

#### Diversité des mécanismes cytotoxiques des vibrios

La lyse des hémocytes est un déterminant majeur de la pathogénicité des vibrios pour l'huître, mais les mécanismes cytotoxiques sont variés et spécifiques de l'espèce [1]. Deux stratégies principales se distinguent : une cytotoxicité extracellulaire, reposant sur un contact direct avec les cellules hôtes (caractéristique de *V. crassostreae* J2-9), et une cytotoxicité intracellulaire, dépendant de la phagocytose (pour *V. tasmaniensis* LGP32) (Figure 1C).

Le rôle central du système de sécrétion de type VI (T6SS) pour la cytotoxicité de *V. tasmaniensis* LGP32 a été mis en évidence en utilisant la technique de *dual RNA-seq* [1] : la délétion du gène structural codant VipA, un composant du fourreau contractile de ce système de sécrétion, entraîne une perte de la virulence et de la cytotoxicité *in vivo*. Chez

*V. crassostreae* J2-9, la perte du plasmide de virulence *pGV1512* qui encode un T6SS réduit la virulence *in vivo*, mais ce T6SS n'est pas le seul facteur impliqué dans la cytotoxicité de cette souche de vibrio [1, 4], qui dépend aussi d'un facteur ancestral exporté et de fonction inconnue, nommé R5.7. Le gène *r5.7* (VCR9J2v1\_730268) est fortement induit lors de la colonisation par cette bactérie, et sa délétion fait perdre la cytotoxicité. L'activation de *r5.7* pourrait faciliter l'action d'autres facteurs de virulence.

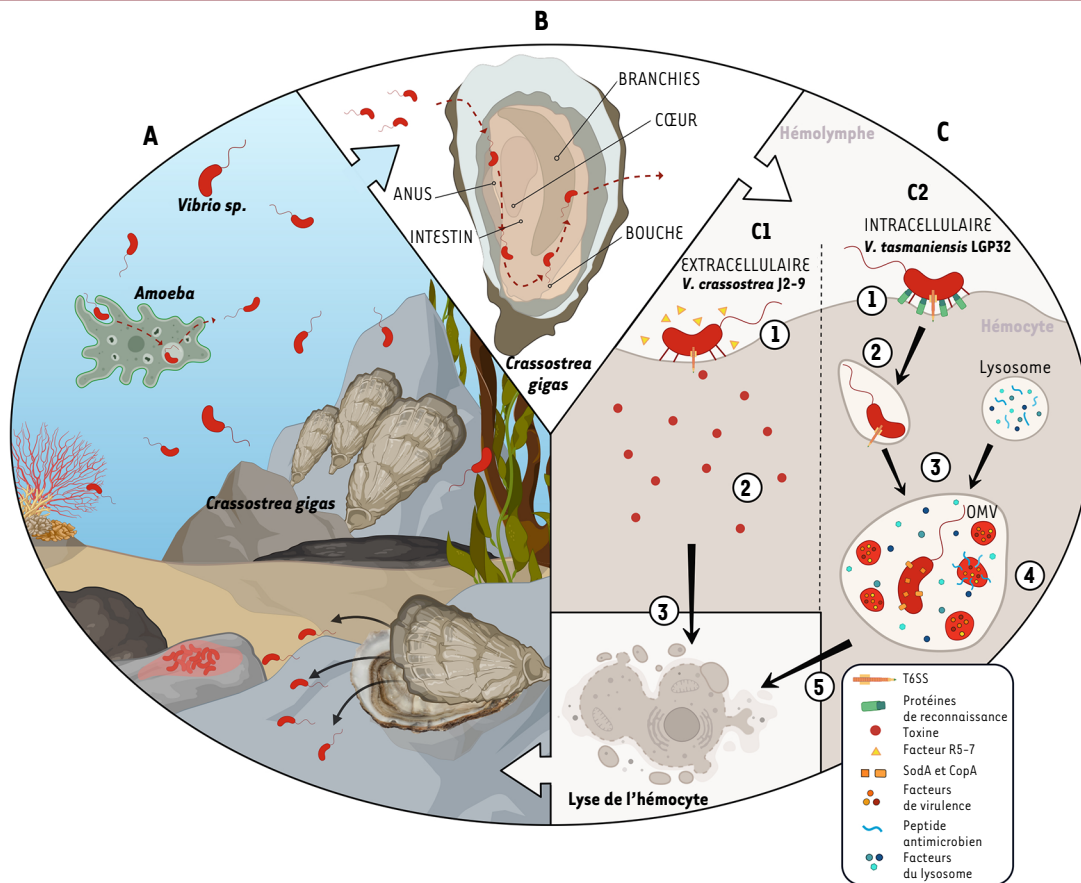
Par ailleurs, une forte surexpression des gènes codant les toxines RTX est constatée chez les deux espèces de vibrios pendant l'infection, ce qui pourrait conduire à la lyse des hémocytes de l'huître par la formation de pores membranaires [1]. La virulence de la souche LGP32 de *V. tasmaniensis* repose également sur la production, par cette bactérie, de vésicules de membrane externe transportant divers facteurs de virulence, dont la sérine-protéase Vsp, potentiellement impliquée dans la lyse membranaire des hémocytes [5].

#### Les mécanismes d'adaptation et de survie des vibrios à l'environnement

L'adaptation des vibrios à l'environnement hostile de l'hôte et leur capacité à neutraliser ses défenses cellulaires conditionnent la cytotoxicité. *V. crassostreae* J2-9 et de *V. tasmaniensis* LGP32 présentent, entre 2 et 9 jours après l'infection d'huîtres, des réponses transcriptomiques traduisant une profonde reprogrammation métabolique au sein de leurs hôtes [1]. Dès 8 h post-infection,

<sup>1</sup> Ce qualificatif désigne les bactéries qui possèdent deux membranes biologiques.





**Figure 1. Modèle du cycle de vie de *V. crassostreae* et *V. tasmaniensis*, pathogènes pour l'huître.** **A.** Dans l'environnement marin, les vibrios rencontrent aléatoirement différents hôtes. Ici, une amibe par « broutage » et une huître par filtration. **B.** Lors d'une infection, les vibrios virulents filtrés par l'huître traversent sa barrière épithéliale et colonisent son hémolymphe, dans laquelle ils interagissent avec les hémocytes. **C.** Stratégies d'infection par *V. crassostreae* J2-9 et *V. tasmaniensis* LGP32. **C1.** Mécanisme de cytotoxicité extracellulaire de *V. crassostreae* J2-9 dépendant du contact. Cette bactérie adhère à la cellule hôte grâce aux pili de type IV, sécrète le facteur R5.7 essentiel à sa virulence (1), et injecte des toxines à l'aide de son système de sécrétion de type VI (T6SS) (2), induisant la mort cellulaire de l'huître (3). **C2.** Mécanisme de cytotoxicité intracellulaire de *V. tasmaniensis* LGP32 dépendant de la phagocytose. La bactérie exprime des pili de type IV et des adhésines pour faciliter son attachement à la cellule hôte, engageant la phagocytose (1). LGP32 se retrouve dans un phagosome (2), qui fusionne avec un lysosome (3) pour former un phagolysosome (4). Pour assurer sa survie, *V. tasmaniensis* LGP32 synthétise des enzymes antioxydantes (superoxyde dismutase, SodA), des exporteurs d'ions métalliques (CopA), et produit des vésicules issues de sa membrane externe (OMV), qui jouent aussi un rôle cytotoxique en délivrant des facteurs de virulence, en plus du T6SS qui injecte des toxines. L'hémocyte est lysé (mort cellulaire) (5), après quoi les vibrios colonisent les tissus conjonctifs en provoquant une infection systémique qui entraîne la mort de l'huître. Figure réalisée avec BioRender.

près de 50 % des gènes bactériens sont différenciellement exprimés, reflétant une adaptation rapide au microenvironnement de l'hôte. La majorité de ces gènes codent des protéines impliquées dans le catabolisme de composés carbonés ainsi que dans le transport et le métabolisme des acides aminés, permettant ainsi au pathogène d'utiliser de nouvelles ressources nutritives.

Pour faciliter son attachement et son internalisation, *V. tasmaniensis* LGP32 induit l'expression, par la cellule hôte, d'adhésines, telles que la protéine MshM (VS\_0329) et la protéine d'assemblage du pilus de type IV PilB (VS\_2548) [1]. Contrairement à *V. crassostreae* J2-9, qui adopte une stratégie extracellulaire, *V. tasmaniensis* LGP32 pénètre activement dans les cellules

de l'hémocyte et y persiste. La réponse transcriptomique de *V. tasmaniensis* LGP32, observée peu après son entrée dans l'hémocyte, révèle également l'induction de gènes impliqués dans l'utilisation des glucides et autres composés carbonés, ainsi que dans la biogénèse de la paroi cellulaire, la résistance au stress oxydant et l'homéostasie des métaux. Ces adaptations reflètent les

contraintes spécifiques de l'environnement intracellulaire et contrastent avec la stratégie extracellulaire de *V. crassostreae* J2-9, soulignant des modes de survie fondamentalement distincts au sein de l'hémolymphe de l'hôte.

Au sein de la vacuole phagocytaire, dont *V. tasmaniensis* LGP32 altère la maturation en prévenant son acidification et en limitant la production d'espèces réactives de l'oxygène (Figure 1C2), la bactérie est néanmoins exposée à un environnement hostile, caractérisé par une accumulation de cuivre et la présence de peptides antimicrobiens [1, 6]. Pour survivre à ces conditions défavorables, *V. tasmaniensis* LGP32 induit la synthèse d'enzymes antioxydantes, telles que la superoxyde dismutase (SodA) et le complexe alkyl hydroperoxyde reductase (AphC/AphF).

L'efflux de cuivre est un déterminant essentiel de la survie intracellulaire de *V. tasmaniensis* LGP32. En réponse à l'accumulation toxique de ce métal au sein de la vacuole phagocytaire, la bactérie surexprime des exporteurs actifs, notamment l'ATPase CopA, dont le niveau d'expression est 20 fois plus élevé en condition intracellulaire qu'en condition extracellulaire témoin, contribuant ainsi à limiter le stress oxydant [6].

Au sein du phagosome, *V. tasmaniensis* LGP32 libère également des vésicules de sa membrane externe permettant de piéger les peptides antimicrobiens qui s'insèrent dans les membranes de ces vésicules, ce qui protège l'intégrité de l'enveloppe bactérienne [5]. L'ensemble de ces mécanismes converge pour transformer la vacuole phagocytaire en niche permissive, favorisant la survie, la multiplication et la virulence intracellulaire de *V. tasmaniensis* LGP32.

### Les amibes, terrain d'entraînement de la virulence des vibrios

La survie des vibrios en milieu aquatique est influencée par des prédateurs comme les amibes libres (Figure 1A). Ces protistes unicellulaires dotés de

pseudopodes, « broutent » (*graze*, en anglais) les bactéries qu'elles rencontrent par phagocytose. Face à cette pression sélective biotique, plusieurs vibrios opportunistes ont développé des mécanismes de résistance variés. *V. parahaemolyticus* neutralise l'acidification des lysosomes en sécrétant l'effecteur T3SS VopQ, qui interagit avec le domaine conservé  $V_0$  de la V-ATPase pour provoquer une fuite de protons [7]. Selon les conditions nutritives, les vibrios peuvent se répliquer dans le phagosome ou envahir le cytosol, puis sont libérés par exocytose ou lyse de l'amibe [7, 8].

*V. tasmaniensis* LGP32 possède plusieurs mécanismes de résistance à la phagocytose par l'amibe marine *Vannella* sp., présente sur les sites ostréicoles français. L'analyse génétique a révélé que deux facteurs de virulence relatifs à l'infection des hémocytes d'huîtres sont essentiels à la résistance au « broutage » par cette amibe : la pompe d'efflux du cuivre CopA, qui favorise la résistance à la dégradation intracellulaire, et la métalloprotéinase Vsm. Cette dernière, déterminant majeur de la toxicité de *V. tasmaniensis* LGP32 chez l'huître [9], est une protéase sécrétée dans le milieu extracellulaire qui semble inhiber la motilité de l'amibe, limitant ainsi l'efficacité du broutage [10].

Plus récemment, une association intracellulaire naturelle et stable a été identifiée entre l'amibe *Paramoeba atlantica* et *V. bathopelagicus* (clade Splendidus), phylogénétiquement proche des vibrios pathogènes de l'huître. Ce vibrio résiste à la digestion intracellulaire et se réplique au sein de la vacuole phagocytaire sans altérer la viabilité de son hôte amibien. Bien qu'une pathogénicité naturelle chez l'huître n'ait pas été établie pour cette espèce, *V. bathopelagicus* s'est révélé cytotoxique pour les hémocytes et virulent *in vivo* après son injection dans des huîtres juvéniles [7]. Cette capacité à survivre et à persister dans une vacuole phagocytaire est par ailleurs largement conservée chez divers vibrios (clades

*Splendidus*, *Harveyi*, *Anguillarum*). En effet, un criblage *Paramoebidae* marins isolés a montré que 45 isolats sur 76 testés étaient associés à des vibrios [7]. Ces observations soutiennent l'hypothèse d'une évolution co-incidente chez les vibrios opportunistes pathogènes pour les eucaryotes : les facteurs de virulence, initialement sélectionnés chez les vibrios pour échapper aux amibes bactéricides, confèrent également une résistance à la destruction de ces bactéries par les cellules immunitaires animales, contribuant à leur neutralisation. Ce phénomène est illustré par le vibrio pathogène pour l'Homme *V. cholerae*, pour lequel l'amibe d'eau douce *Acanthamoeba castellanii* représente une niche intracellulaire dans l'environnement. Sachant que les microorganismes pathogènes opportunistes se transmettent souvent de l'environnement vers l'hôte, les amibes constitueraient ainsi un « terrain d'entraînement » de la virulence bactérienne, faisant des animaux et de l'Homme des victimes collatérales de cette coévolution.

### Conclusion

Les interactions hôtes-vibrios étant très diverses, une vision anthropocentrée risque d'occulter le caractère évolutif de la pathogénicité des vibrios. L'analyse du comportement de ces bactéries au sein d'hôtes naturels marins, comme l'huître, offre une double lecture : caractérisation des mécanismes de virulence potentiellement transposables aux infections humaines et compréhension des dynamiques écologiques en identifiant les réservoirs intracellulaires naturels. Ces connaissances sont cruciales pour adapter les pratiques aquacoles et anticiper les risques d'épidémies de vibrions, dans un contexte de dérèglement environnemental. En effet, un développement optimal, voire accéléré, des vibrios a été observé dans les eaux « chaudes » (*i.e.*, dont la température est supérieure à 20 °C), ce qui entraîne



une augmentation du risque infectieux, notamment en été, en raison du réchauffement des mers.  $\diamond$

### Vibrio-host interactions: from the environmental niche to virulence

#### LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt.

#### RÉFÉRENCES

1. Rubio T, Oyanedel D, Labreuche Y, et al. Species-specific mechanisms of cytotoxicity toward immune cells determine the successful outcome of *Vibrio* infections. *Proc Natl Acad Sci USA* 2019 ; 116 : 14238-47.
2. Sampaio A, Silva V, Poeta P, et al. *Vibrio* spp: life strategies, ecology, and risks in a changing environment. *diversity*. 2022 ; 14 : 97.
3. Aquaculture : état des lieux, interactions et perspectives. Débat public NAMO, 2023. [https://www.debatpublic.fr/sites/default/files/2023-11/NAMO\\_Fiche\\_18\\_Aquaculture.pdf](https://www.debatpublic.fr/sites/default/files/2023-11/NAMO_Fiche_18_Aquaculture.pdf)
4. Piel D, Bruto M, James A, et al. Selection of *Vibrio crassostreae* relies on a plasmid expressing a type 6 secretion system cytotoxic for host immune cells. *Environ Microbiol* 2020 ; 22 : 4198-211.
5. Vanhove AS, Duperthuy M, Charrière GM, et al. Outer membrane vesicles are vehicles for the delivery of *Vibrio tasmaniensis* virulence factors to oyster immune cells. *Environ Microbiol* 2015 ; 17 : 1152-65.
6. Vanhove AS, Rubio TP, Nguyen AN, et al. Copper homeostasis at the host vibrio interface: lessons from intracellular vibrio transcriptomics. *Environ Microbiol* 2016 ; 18 : 875-88.
7. Onillon L, Dufau A, Delafont V, et al. *Paramoeba atlantica* as a natural intracellular niche for vibrios in marine ecosystems. *Environ Microbiol* 2025 ; 27 : e70122.
8. Sun S, Noorian P, McDougald D. Dual role of mechanisms involved in resistance to predation by protozoa and virulence to humans. *Front Microbiol* 2018 ; 9 : 1017.
9. Binesse J, Delsert C, Saulnier D, et al. Metalloprotease Vsm is the major determinant of toxicity for extracellular products of *Vibrio splendidus*. *Appl Environ Microbiol* 2008 ; 74 : 7108-17.
10. Robino E, Poirier AC, Amraoui H, et al. Resistance of the oyster pathogen *Vibrio tasmaniensis* LGP32 against grazing by *Vannella* sp. marine amoeba involves Vsm and CopA virulence factors. *Environ Microbiol* 2020 ; 22 : 4183-97.

#### Entretien avec Guillaume Charrière

Guillaume Charrière est professeur à l'université de Montpellier et co-responsable de l'équipe *Transmission, résistance et virulence* (TRéV) au sein du laboratoire *Interactions hôtes-pathogènes-environnement* (IHPE). Avec ses collaborateurs, il s'intéresse actuellement aux mécanismes d'interactions entre les pathogènes opportunistes du genre *Vibrio* et le système immunitaire des mollusques bivalves (en particulier l'huître creuse) et les amibes marines. Il est également membre du comité du Réseau d'écologie des interactions durables (REID).



© Hugues Alamaoui-Charrière

**Comment en êtes-vous arrivé à faire le métier de chercheur ? Comment parvenez-vous à équilibrer les exigences de ce métier avec votre vie personnelle ?**

J'ai toujours été passionné par la nature, ce qui m'a poussé à vouloir être vétérinaire. Une scolarité en demi-teinte m'a fermé les portes des écoles vétérinaires, et c'est donc frustré que je me suis tourné vers la faculté de biologie. Finalement, les cours m'ont passionné et la curiosité m'animait. À la suite d'un master en physiopathologie à Toulouse, je poursuis un doctorat sous la supervision de Louis Casteilla, mon premier mentor. J'y découvre l'univers du macrophage et de la phagocytose. Pour le post-doctorat, je comprends vite qu'aller à l'étranger n'est pas négociable, et j'en profite pour découvrir la recherche dans les laboratoires américains, figure de proue de la recherche à cette époque. N'ayant aucun réseau dans le domaine de l'immunité innée, cela me pousse à provoquer la chance en envoyant des candidatures spontanées. Je rejoins finalement Alan Ezekowitz à Boston. C'est à cette occasion que je fais la rencontre de Lynda Stuart, avec qui j'ai beaucoup appris. Après quelques années aux États-Unis et une famille qui s'agrandit, nous rentrons en France à Toulouse, et j'intègre l'équipe dirigée par Isabelle Maridonneau Parini. Le

travail de recherche de financements que j'ai alors dû effectuer m'a énormément formé pour la suite de ma carrière. Après deux refus aux concours de chercheur titulaire, je me tourne vers les postes de maître de conférences, conscient du défi que représente l'équilibre entre enseignement et recherche. J'obtiens un poste à Montpellier dans l'équipe alors dirigée par Delphine Destoumieux-Gazon, et que je dirige actuellement. Comme chef d'équipe, je m'épanouis dans les projets de recherche que je construis. Pour la gestion de l'équilibre entre ma vie professionnelle et ma vie personnelle, il y a eu plusieurs phases. Pendant de nombreuses années, ma vie s'est construite autour de la recherche. Des événements personnels m'ont appris à redonner plus de temps et d'importance à ma vie extra-professionnelle et à avoir une vie qui me semble plus équilibrée aujourd'hui.

**Comment avez-vous choisi ce sujet ? Et pourquoi s'orienter vers une approche plus environnementale ?**

Je suis passionné depuis toujours par les cellules de l'immunité innée. Malgré les spécificités du système immunitaire des mollusques, celui-ci présente des phagocytes spécialisés analogues aux macrophages. Mes compétences en biologie cellulaire constituaient un atout pour l'équipe de Montpellier que j'ai rejointe dans l'analyse de la phagocytose et des interactions cellulaires. En l'absence d'outil moléculaire fonctionnel chez l'huître, nos travaux se sont appuyés sur la possibilité de réaliser des modifications génétiques des *Vibrio* pour des études fonctionnelles. Pour cela nous avons beaucoup collaboré avec l'équipe dirigée par Frédérique Le Roux. Cela m'a ouvert à la microbiologie, que je connaissais peu. Concernant l'aspect environnemental, je l'ai découvert au contact de la communauté scientifique de Montpellier, extrêmement ouverte sur l'idée qu'une interaction ne se limite pas à deux organismes isolés, mais s'étend à des populations d'organismes intégrées dans un écosystème, et qu'elle est donc multifactorielle.



**Observe-t-on une influence des paramètres environnementaux, comme par exemple le réchauffement climatique, sur la répartition, la virulence ou l'émergence saisonnière des vibrios pathogènes ? Pensez-vous que ces études, axées sur l'écologie des vibrios, pourraient permettre d'anticiper et de prévenir l'émergence de possibles épidémies ostréicoles ou humaines ?**

D'après les travaux du laboratoire dirigé par Luigi Vezzulli, entre autres, le réchauffement climatique pourrait accroître la prévalence de vibrios pathogènes, entraînant une augmentation des épisodes infectieux causés par ces bactéries. Malgré le caractère fondamental de nos recherches, nos données pourront permettre d'améliorer les modèles épidémiologiques et de circulation des pathogènes dans l'environnement, ainsi que de sensibiliser le milieu professionnel ostréicole pour adapter au mieux leurs pratiques et diminuer la transmission des pathogènes. Cela permettra aussi d'orienter les systèmes de surveillance vers les réservoirs prioritaires à surveiller. Nos travaux s'orientent également vers le développement de méthodes de détection spécifiques des toxines, afin d'en faire des bioindicateurs de pathogènes émergents ou à risque.

**Avez-vous déjà observé une synergie d'infections des huîtres ?**

Nous avons déjà observé une synergie entre un virus de la famille herpèsvirus et des vibrios opportunistes. Pour l'instant, nous n'avons pas la finesse d'analyse pour étudier une synergie des vibrios entre eux par manque de résolution taxonomique. Nous avons néanmoins publié un article sur les vibrios du clade Harveyi, pour lesquels l'infection est accompagnée de vibrios « tricheurs ».

**Quelles difficultés rencontrez-vous dans la mise en œuvre de vos travaux ?**

Les stratégies de financement ne sont pas du tout les mêmes pour les huîtres et pour les amibes, puisque les intérêts socio-

économiques sont complètement différents. Il est plus simple d'obtenir des financements pour le modèle de l'huître en raison de son intérêt économique pour l'ostréiculture, contrairement aux amibes dont l'étude manque d'impact permettant de valoriser cette recherche. Néanmoins, le coût réduit des travaux sur les amibes compense cette difficulté d'accès aux subventions. Les approches de génétique fonctionnelle chez les huîtres et les amibes restent compliquées, sans certitude quant à leur résolution future. Cela nous force à rester réalistes sur nos questions de recherche. Plusieurs membres de l'équipe cherchent à développer des techniques de génétique fonctionnelle de l'huître, mais les résultats ne sont pas concluants pour le moment.

**Quelle est la suite de votre travail ?**

Nous poursuivrons l'étude des SST6 et des toxines anti-eucaryotes, facteurs clés de l'adaptation souche-spécifique et potentiellement à l'origine d'une grande capacité d'adaptation des vibrios. Au-delà des mollusques, nous commençons à élargir nos recherches à des hôtes aquatiques autres que les amibes, en collaborant avec des équipes travaillant sur les interactions entre *Vibrio*-anémone ou *Vibrio*-éponge.

**Quelle question auriez-vous aimé que l'on vous pose ?**

Probablement celle-ci : « Quels conseils donneriez-vous à l'étudiant en thèse que vous étiez ? ». Ma réponse serait la suivante : « Ne t'inquiète pas, tout est possible et tu vas y arriver, cela ne dépend que de toi », « Aie confiance en toi », « Crée du contact, discute de science avec les autres, et essaie plusieurs laboratoires ». Il n'y a pas d'idée unique en science, c'est une communauté de scientifiques qui avance collectivement dans la même direction. C'est cette dynamique qui nous fait avancer plus vite.