

5^{es} Journées de la Recherche Filière Piscicole

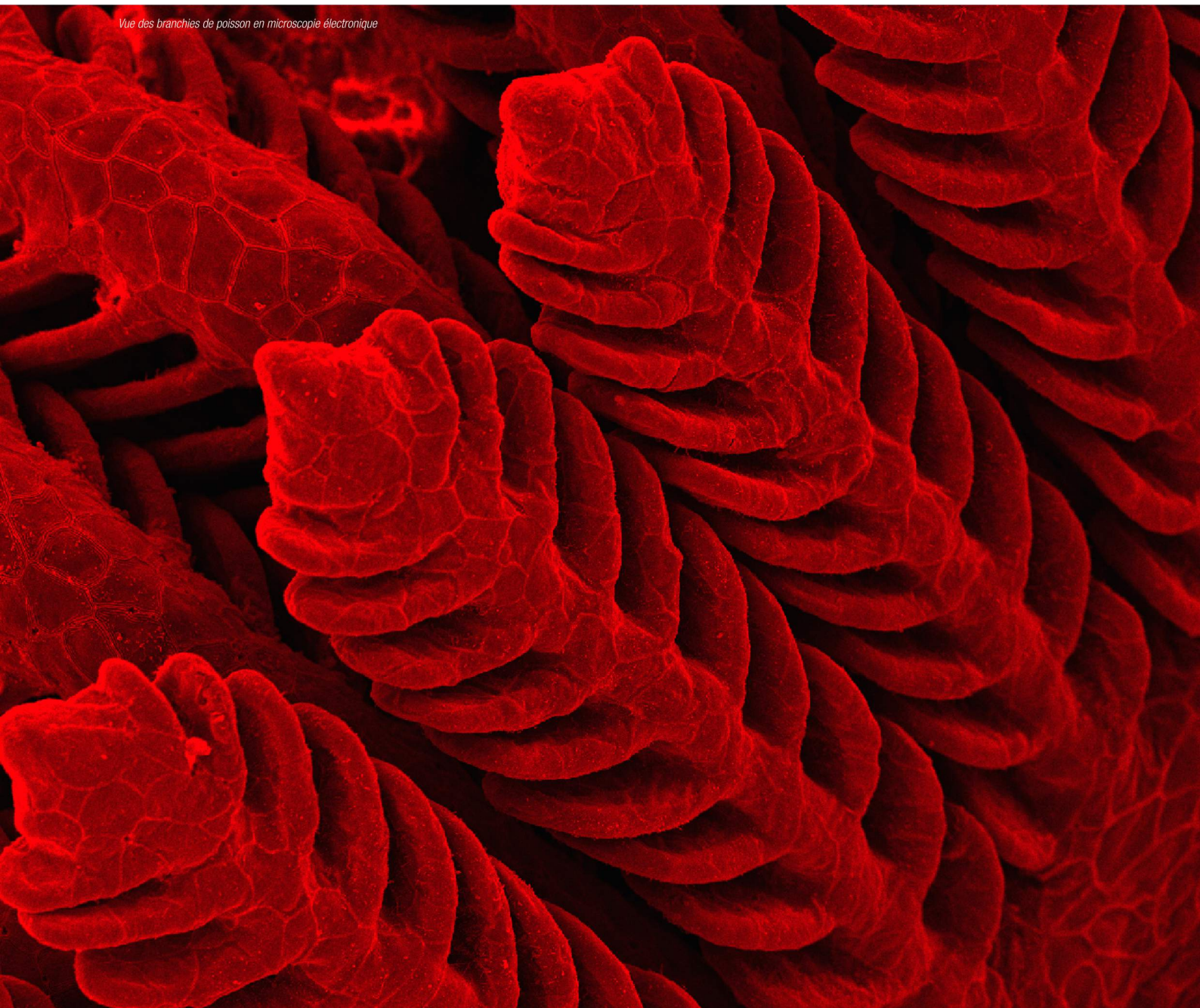


Paris

5 et 6 juillet 2016

FIAP Jean Monnet 30 rue Cabanis - 75014 PARIS
Métro : Glacière / Denfert-Rochereau

Vue des branchies de poisson en microscopie électronique



L'art délicat de la protection

Protec est l'aliment de Skretting développé pour renforcer la santé des poissons d'élevage.

Protec permet de renforcer la protection de la peau, du tube digestif et des branchies, de soutenir le système immunitaire, d'apporter les éléments constitutifs nécessaires au renouvellement des cellules et enfin, d'assurer l'équilibre entre les poissons, les microbes et l'environnement.

PARTENAIRES

DES 5^{es} JOURNEES DE LA RECHERCHE

PISCICOLE

Avec le partenariat

- Du Ministère de l'Ecologie du Développement durable et de l'Energie / Direction des Pêches Maritimes et de l'Aquaculture
- Du Compte d'Affectation Spécial pour le Développement Agricole et Rural (CASDAR)
- De l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA)
- De l'Institut Technique de l'Aviculture (ITAVI)
- Du Comité Interprofessionnel des Produits de l'Aquaculture (CIPA)
- Du Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD)
- De l'Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la MER (IFREMER)
- Du Syndicat des Sélectionneurs Avicoles Aquacoles Français (SYSAAF)
- De l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD)
- De la Fédération Française d'Aquaculture (FFA)
- Du Réseau des Enseignants Aquacoles
- De la Direction Générale de l'Enseignement et de la Recherche (DGER)
- Du GIS Piscicultures Demain (PsD)

Et des structures suivantes



**5^{es} Journées de la Recherche
Filière Piscicole**

SANITAIRE

Paris

5 et 6 juillet 2016

RISQUES ASSOCIES AUX VIROSES D'ESTURGEONS

L. Bigarré¹, M Lesné², A Lautraite³, V. Chesneau⁴, M Jamin⁶, PM Boitard⁶, S Labrut⁷, A Charrier², P Daniel²

¹ ANSES, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, Université Bretagne-Loire, Plouzané, France

² Laboratoire des Pyrénées et des Landes, Mont-de-Marsan, France

³ Vétérinaire, Grisolles, France

⁴ Groupement de Défense Sanitaire Aquacole Aquitain, Mont-de-Marsan, France

⁵ ANSES, laboratoire de Ploufragan-Plouzané, rue des fusillés, Ploufragan, France

⁶ Fili@vet, Saint-Martin-des-Champs, France

⁷ ONIRIS, AMaROC, LUNAM University, Nantes, France

Résumé

L'élevage d'esturgeon est en essor à l'échelle mondiale, à la fois pour la production de caviar

et pour le repeuplement des espaces naturels. Les virus font partie des risques sanitaires majeurs menaçant économiquement les élevages. Les professionnels sont donc attentifs aux méthodes de contrôle existantes et exploratoires. A ce jour, des virus appartenant à cinq familles ont été recensés, associés à une ou plusieurs espèces d'esturgeon: *Betanodaviridae*, *Rhabdoviridae*, *Adenoviridae*, *Herpesviridae* et *Iridoviridae*. C'est parmi les deux dernières familles que l'on trouve les pathogènes les plus dommageables.

Au moins deux herpesvirus, les *Acipenser herpesvirus* type 1 et 2 (AciHV1 et AciHV2), ont été décrits à ce jour. L'AciHV1 a été décrit aux Etats-Unis et en Italie. L'AciHV2 a provoqué plusieurs épidémies dans plusieurs régions, notamment en Russie en 2009 sur *Acipenser baerii*. En ce qui concerne les iridovirus, plusieurs ont été identifiés dès 1990 sur le continent Nord-Américain, affectant les élevages de plusieurs espèces d'esturgeon dont l'esturgeon blanc *Acipenser transmontanus*. Le premier identifié est le White Sturgeon Iridovirus (WSIV), encore mal connu au niveau génétique. Depuis, plusieurs virus apparentés au WSIV ont été décrits, dont le Missouri River Sturgeon Iridovirus (MRSIV) et le Namao virus (NV). Ces virus sont tous épithéliotropiques et forment dans les cellules dermiques des inclusions basophiles pathognomoniques, parfois difficiles à observer. Pour le diagnostic moléculaire, seules des séquences du gène majeur de la capsid de ces virus sont disponibles à ce jour pour ciblage par PCR. Ces séquences montrent de fortes similarités entre elles, indiquant l'existence d'un cluster Américain, mais également des différences ponctuelles suffisantes pour suggérer la présence de plusieurs espèces virales. Etonnamment, ces séquences se distinguent fortement de celles de tous les autres *Iridoviridae* connus, mais présentent certaines similarités avec des virus géants apparentés aux *Mimiviridae*. En Europe, un seul iridovirus a été signalé associé à un épisode de mortalité en 1998, mais aucune donnée moléculaire n'est disponible (Adkinson *et al.* 1998). Depuis, un virus apparenté aux virus américains, mais bien distinct, l'AciV-E a été détecté sur quatre espèces d'esturgeon (Beluga, Adriatique, Sibérien, Russe) dans trois pays Européens (Bigarré *et al.* sous presse). Un test de diagnostic de l'AciV-E (par qPCR) est en cours de validation (projet ACIVIR).

Plusieurs facteurs contribuent à la dissémination des virus d'esturgeon à l'échelle internationale: transferts internationaux de matériel infecté (géniteurs), mélange d'espèces, hybridations, stress des poissons, etc. La mise au point d'outils de diagnostic spécifiques de chaque virus permettrait d'établir des protocoles sanitaires afin de réduire leur propagation et leur impact en élevage.

Adkinson M., et al. (1998). "Identification of an iridovirus in Russian sturgeon (*Acipenser guldenstadi*) from Northern Europe." Bull. Eur Assoc Fish Pathol **18**(1).

Bigarré L., Lesné M, Lautraite A, Chesneau V, Leroux A, Jamin M, Boitard PM, Toffan A, Prearo M, Labrut S., Daniel M. Molecular identification of iridoviruses infecting various sturgeon species in Europe. JFD sous presse.

ETAT DES LIEUX DE LA PRESSION PARASITAIRE DANS LES ELEVAGES FRANÇAIS DE TRUITES ARC-EN-CIEL.

Guillaume Le Reste et Loïck Clavier

AQUA TECHNA, BP10, 44 220, Couëron, France

Le parasitisme est un obstacle majeur du développement de l'aquaculture en Europe et dans le monde. Les traitements efficaces disponibles sont rares et certains d'entre eux sont régulièrement décriés (formaldéhyde). De plus, les traitements par balnéation sont difficiles, voire impossibles, à réaliser dans certains contextes d'élevage (cas des cages en mer).

Les objectifs de cette enquête sont donc : de déterminer dans quelles mesures le parasitisme est un problème pour les éleveurs de truites Français et d'évaluer succinctement leurs ressentis vis-à-vis des moyens de traitements disponibles.

Un questionnaire en ligne (outil Google Docs) a été administré à des éleveurs de truites Arc-en-Ciel français entre le 1^{er} et le 30 Septembre 2015. Ce questionnaire contenait des questions sur : les caractéristiques de l'élevage, les parasites rencontrés, les difficultés qu'ils génèrent et les moyens de lutte et de prévention utilisés. La liste des éleveurs contactés a été établie sur la base d'un annuaire professionnel.

Deux cent quatre-vingt-six sites de production ont été identifiés puis contactés par téléphone et par mail. Soixante-cinq établissements ont renvoyé des questionnaires entièrement remplis. Le parasitisme est considéré comme un problème pour 51% des éleveurs ayant répondu. Les parasites évoqués comme étant les plus problématiques sont Costia, Gyrodactyles et Ichtyophthirius (respectivement cités par 37%, 29% et 15% des éleveurs).

La présence de parasites génère des problèmes en termes de diminution des performances, de mortalités et de coût des traitements. La perception de la nocivité des solutions par les éleveurs est assez différentes en fonction des produits utilisés. La satisfaction des personnes répondant à cette enquête vis-à-vis des produits utilisés diffère beaucoup d'un produit à l'autre.

Cette étude constitue la première étape d'une réflexion autour de la mise au point de produits destinés à accompagner les aquaculteurs dans leur recherche de solutions permettant de mieux faire face à la pression parasitaire.

Elle se poursuit aujourd'hui par la recherche d'ingrédients fonctionnels susceptibles d'être incorporés aux aliments et de faciliter la gestion de ces problématiques.

PROGRESSION DE LA MALADIE DU SOMMEIL DE LA CARPE EN FRANCE ETUDE D'UN CAS RECENT CARACTERISTIQUE

Leguay Emmanuel¹, Pallandre Laurane², Baud Marine², Stone David³, Bigarré Laurent²

¹ Vetofish – 7 rue de la Salamandre – 13500 – Châteauneuf-les-Martigues, France

² ANSES – Technopole Brest Iroise – 29280 – Plouzané, France

³ CEFAS – Weymouth – Dorset – Grande-Bretagne

Contexte du thème

Depuis sa première description au Japon en 1974 sur des carpes koi (*Cyprinus carpio* var. *koi*), la maladie du sommeil de la carpe s'est répandue en Europe, et notamment en France où le nombre de cas diagnostiqués ces dernières années est en augmentation. Les caractéristiques de la maladie restent encore mal connues. En particulier, la température permissive reste discutée. De plus, il existe encore peu de données génétiques sur le virus associé, le Carp Edema Virus (CEV).

Objectifs de l'étude

Un des cas de maladie du sommeil identifié en France au printemps 2016 sur carpe commune (*Cyprinus carpio carpio*) est décrit afin de préciser la symptomatologie, la pathologie et l'épidémiologie de l'infection. Le virus CEV est recherché et sa séquence partielle comparée avec celles d'autres d'échantillons d'origines distinctes afin de rechercher un lien épidémiologique.

Protocole succinct

Une carpe commune morte a été prélevée dans un carpodrome. L'ADN extrait de branchies et de peau a été testé par qPCR et cPCR selon le protocole du CEFAS. Un séquençage Sanger sur une portion du génome a été réalisé et la séquence obtenue a été alignée avec d'autres séquences françaises et étrangères.

Principaux résultats

Au printemps 2016, une mortalité faible mais régulière de carpes communes (*Cyprinus carpio carpio*) est constatée dans un étang de pêche de plusieurs dizaines d'hectares. Depuis l'automne dernier, de nombreux empoissonnements d'espèces variées (carpes, esturgeons, brèmes, gardons, silures, etc.) avaient été réalisés dans ce plan d'eau. Dans le cas présent, les carpes sont toutes identifiées par transpondeur RFID, ce qui permet de savoir que la mortalité a affecté plus de 50% des individus introduits avant l'hiver.

Les analyses de routine (autopsie, parasitologie et bactériologie) ont conduit à suspecter l'implication du CEV. Des analyses PCR sur tissus congelés ont confirmé la présence du virus. La séquence génétique comparée à d'autres cas (français et étrangers), montre un regroupement de ce virus dans un génogroupe particulier contenant d'autres échantillons français de 2014 et 2015.

Perspectives d'application.

De nouveaux outils diagnostiques moléculaires ont permis de confirmer la présence de CEV en France ces dernières années dans des cas de mortalités de carpes inexplicables. La multiplication des analyses PCR, le séquençage et la remontée d'informations cliniques et épidémiologiques permettront de mieux connaître cette maladie et d'évaluer son impact. La sensibilisation des professionnelles est primordiale, car cette maladie est encore trop méconnue.

MISE EN EVIDENCE DE GENOMES ATYPIQUES DE KHV SUITE AU SEQUENCAGE COMPLET D'UN GRAND NOMBRE DE SPECIMENS

S. Hammoumi¹, A. Santika², Z. Zainun², T. Vallaeys³, E. Borzym⁴, S. Bergmann⁵, C. Klopp⁶, M. Engelsma⁷, J. C. Avarre^{1*}

¹ IRD, Institut des Sciences de l'Evolution de Montpellier, France

² Main Center for Freshwater Aquaculture Development, Sukabumi, Indonesia

³ Université de Montpellier, France

⁴ National Veterinary Research Institute, Partyzantow, Poland

⁵ Friedrich Loeffler Institut, Federal Research Institute for Animal Health, Greifswald-Insel Riems, Germany

⁶ INRA, Plate-forme bioinformatique Genotoul, Castanet-Tolosan, France

⁷ Central Veterinary Institute of Wageningen, Lelystad, The Netherlands

Le koi herpesvirus (KHV), ou *Cyprinus herpesvirus 3* (CyHV-3), est un pathogène émergent qui provoque des mortalités élevées à travers le monde, dans les élevages de carpe commune (*Cyprinus carpio carpio*) et de carpe koï (*C. carpio koi*). En dépit d'un effort international important pour l'acquisition de connaissances sur cette nouvelle menace virale, peu d'informations sont disponibles concernant la diversité génomique du CyHV-3 ou les mécanismes moléculaires qui conduisent à une telle virulence. Dans ce contexte, nous avons développé une nouvelle méthode consistant à enrichir spécifiquement l'ADN de CyHV-3 à partir de tissus de poissons infectés, permettant ainsi le séquençage de son génome complet. Grâce à cette méthode, un large panel de spécimens a pu être séquençé: 1) des souches isolées à partir d'épisodes de mortalité en Allemagne, Italie, Pays-Bas, Angleterre, Pologne, Taiwan, Indonésie; 2) des souches 'atypiques' de CyHV-3 récemment découvertes, qui n'induisent aucun des symptômes généralement associés à ce virus (ni *in vivo* ni *in vitro*). Les résultats ont montré que le taux d'enrichissement était directement corrélé à la charge virale initiale, et qu'un génome complet pouvait être reconstruit, avec une fiabilité très élevée sur la quasi-totalité du génome, à partir d'échantillons contenant seulement 5000 copies de CyHV-3. Les premières analyses ont également mis en évidence une forte proportion d'hétérogénéité de séquence intra-échantillon, ce qui suggère la présence d'infections mixtes dans de nombreux spécimens. La comparaison des génomes 'typiques' révèle une faible variabilité à l'échelle mondiale (<0,2%) et confirme l'existence de deux lignées, l'une européenne et l'autre asiatique. En revanche, la comparaison des génomes atypiques montre une divergence beaucoup plus élevée (~3% sur la totalité du génome), qui se traduit par l'altération d'un grand nombre de protéines codées par le génome de CyHV-3. Même si la fonction de ces dernières reste inconnue, une analyse plus fine devrait permettre de déterminer leur potentiel rôle dans la virulence de ce virus hautement pathogène. Ces travaux de séquençage massif placent le CyHV-3 comme le virus qui compte le plus de spécimens séquençés parmi tous les herpesvirus. Ils constituent une source d'informations très précieuse non seulement pour une meilleure compréhension des voies de propagation de CyHV-3, mais aussi pour la mise en place de mesures appropriées visant à réduire son incidence.

IMPORTANCE DE LA COMPLEMENTARITE DES OUTILS DE DIAGNOSTIC POUR UNE GESTION SANITAIRE EFFICACE DES MALADIES VIRALES DES POISSONS

Louboutin Lénaïg, Cabon Joëlle, Baud Marine, Pallandre Laurane, Almeras Fabrice, Danion Morgane, Bigarré Laurent, Morin Thierry.

ANSES, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, Unité Pathologie Virale des Poissons (PVP), Laboratoire National de Référence pour les maladies réglementées des poissons, Université Bretagne Loire, Technopôle Brest-Iroise, 29280 Plouzané

Dans un monde où les échanges internationaux favorisent la circulation des pathogènes, la lutte contre les maladies infectieuses constitue une priorité pour le développement durable de l'aquaculture. Les virus piscicoles sont extrêmement nombreux et divers. Un certain nombre d'entre eux sont réglementés au niveau Européen (Directives 2006/88/EC et 2014/22/UE) et/ou listés par l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE, 2015), mais de nombreux autres, souvent mal connus ou émergents, sont à l'origine de problèmes en piscicultures et imposent aux professionnels et aux laboratoires en charge du diagnostic et de la surveillance de s'adapter de manière permanente.

Les méthodes de référence en virologie des poissons sont historiquement basées sur une phase de culture cellulaire permettant une recherche à relativement large spectre de la présence d'un virus puis, en cas d'observation d'effets cytopathogènes, une identification par différentes techniques (immunofluorescence, neutralisation, ...). La montée en puissance des outils moléculaires ces dernières années a conduit à la reconnaissance récente de la PCR, approche très spécifique, comme outil officiel de diagnostic direct (Directive 2015/1554/UE) et à l'utilisation de plus en plus systématique du séquençage, partiel ou total, des isolats épidémiques. S'ajoutent à ces méthodes des approches indirectes de détection d'anticorps (séroneutralisation, Elisa), très utilisées chez les mammifères mais encore peu développées chez les poissons.

Cette présentation a pour objectifs d'illustrer, dans un contexte méthodologique et réglementaire en forte évolution et au travers d'exemples issus du terrain, l'intérêt de disposer d'outils de diagnostic multiples et complémentaires pour i) optimiser les chances de détection d'un pathogène viral potentiel chez les poissons et ii) obtenir une caractérisation précise des agents pathogènes détectés, qui soit informative en termes épidémiologique.

Références :

-Directive 2006/88/CE du 24 octobre 2006 du Conseil relative aux conditions de police sanitaire applicables aux animaux et aux produits d'aquaculture, et à la prévention de certaines maladies chez les animaux aquatiques et aux mesures de lutte contre ces maladies. Journal officiel de l'Union européenne du 24/11/2006 L328, 14-56.

-Directive d'exécution 2014/22/UE de la Commission du 13 février 2014 modifiant l'annexe IV de la Directive 2006/88/EC du Conseil en ce qui concerne l'anémie infectieuse du saumon (AIS). Journal officiel de l'Union européenne du 14/02/2014 L44, 45-47

-Décision d'exécution 2015/1554/UE de la Commission du 11 septembre 2015 portant modalités d'application de la directive 2006/88/CE en ce qui concerne les exigences relatives à la surveillance et aux méthodes de diagnostic. Journal officiel de l'Union européenne du 23/09/2015 L247, 1-62.

QUEL USAGE DES ANTIBIOTIQUES EN SALMONICULTURE CONTINENTALE EN FRANCE ?

Le Bouquin S.¹, Baron S.¹, Thomas R.¹, Jamin M.², Hanne-Poujade S.¹, Chauvin C.¹

¹ Anses – Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, 22440 PLOUFRAGAN, France

² FILI@VET, 29600 Saint Martin des Champs, France

Résumé

L'antibiorésistance est aujourd'hui reconnue par l'ensemble de la communauté scientifique comme l'un des enjeux majeurs de santé publique pour les prochaines décennies. Parmi les différents plans d'action déployés par les autorités sanitaires pour faire face à ce problème, le dispositif national de réduction des usages d'antibiotiques en médecine vétérinaire (Eco Antibio 2017) s'est fixé de réduire de 25% l'usage global des antibiotiques en médecine vétérinaire sur une période de 5 ans. Il existe une grande variabilité d'usage entre filières animales et toutes ne sont pas exposées aux mêmes molécules antibiotiques. Le niveau d'exposition de même que les voies d'exposition diffèrent aussi entre filières. Les vétérinaires aquacoles disposent quant à eux d'un arsenal thérapeutique restreint pour faire face aux maladies des poissons, cette production étant considérée comme mineure en France. Peu de données sont disponibles mais elles montrent une faible exposition de la filière aquacole aux antibiotiques, comparée à d'autres. Cependant, les modalités de dissémination des bactéries résistantes dans l'environnement sont différentes et plus rapides en milieu aquatique qu'en milieu terrestre. Afin de mieux connaître ces usages, une étude transversale (étude AnPi) a été conduite entre février 2014 et avril 2015. Ses objectifs étaient 1/ de faire un état des lieux quantitatif et qualitatif des usages d'antibiotiques en salmoniculture d'eau douce et 2/ d'analyser les usages (motifs d'utilisation et facteurs associés) en lien avec les pratiques d'élevage et les pathologies rencontrées. Un échantillon représentatif d'une centaine de salmonicultures d'eau douce réparties sur tout le territoire français ont été investiguées. Un questionnaire épidémiologique portant sur les caractéristiques de l'élevage, la qualité de l'eau, les pratiques d'élevage, la situation sanitaire et les usages médicamenteux sur une année complète ont été collectées. Cette étude a permis de confirmer un recours limité aux antibiotiques, en lien avec le développement de méthodes de prophylaxie sanitaires efficaces, et l'absence d'utilisation des antibiotiques aujourd'hui considérés comme critiques. Le Florfénicol est la molécule la plus fréquemment rencontrée, avec 53% des élevages utilisateurs, essentiellement pour lutter contre la flavobactériose. Pour cette maladie largement répandue chez les alevins, aucune autre méthode alternative de traitement n'a été identifiée à ce jour. La prévention de la flavobactériose apparaît donc comme un élément incontournable si l'on veut pouvoir réduire les usages en florfénicol.

Références

-Suivi des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en France en 2012 (<http://www.anses.fr/fr/documents/ANMV-Ra-Antibiotiques2012.pdf>)

-Ecoantibio, réduire l'utilisation des antibiotiques vétérinaires (http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/130208PlaqAntibioFR_BD_cle0447e7.pdf)

Programme conduit en partenariat avec l'ITAVI-Service Aquaculture et le CIPA.

L'ENROFLOXACINE : POINT SUR UNE MOLECULE EFFICACE ET CONTROVERSEE

Ségolène Calvez,^{1,2} Marie-Line Morvan,¹ Carole Peroz,^{1,2} Diane-Gaëlle Douet,³ Patrick Daniel,⁴ and Chantal Thorin¹

¹ LUNAM Université, Oniris, Ecole nationale vétérinaire, agroalimentaire et de l'alimentation Nantes-Atlantique, Nantes F-44307, France.

² INRA, UMR1300 BioEpAR, F-44307 Nantes, France

³ Groupe de Défense Sanitaire Aquacole Aquitain, F-40000 Mont de Marsan, France

⁴ Laboratoire des Pyrénées et des Landes, F-40000 Mont de Marsan, France

Résumé

L'arsenal thérapeutique disponible en médecine vétérinaire aquacole n'est pas le même selon le continent/pays dans lequel on se trouve. En Europe, huit molécules antibiotiques possèdent une AMM (Autorisation de Mise sur le Marché) et en France, les cinq molécules avec AMM pour les espèces aquacoles sont limitées à un usage thérapeutique. Les praticiens vétérinaires peuvent utiliser le principe de la cascade pour pouvoir prescrire d'autres molécules antibiotiques. Dans ce cadre, l'enrofloxacin peut être utilisée mais depuis l'arrêté du 18 mars 2016 fixant la liste des substances antibiotiques d'importance critique (AIC) avec une entrée en vigueur au 1 avril 2016, son emploi est beaucoup plus contraint.

L'enrofloxacin est une quinolone de deuxième génération avec un usage exclusif au monde vétérinaire présentant un large spectre d'action (Gram – et mycoplasmes)¹. Il est important d'apporter des connaissances sur les propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques (PK/PD) des antibiotiques. Nous avons donc étudié les propriétés pharmacocinétiques de l'enrofloxacin chez deux profils « génétiques » (diploïde vs triploïde) de truite arc en ciel (*Oncorhynchus mykiss*), et ce, pour quatre concentrations (5- 10- 20 et 40 mg/kg) après une administration unique par voie orale. En parallèle, l'efficacité de l'enrofloxacin a été évaluée vis-à-vis de l'agent pathogène *Yersinia ruckeri* en conditions contrôlées (challenge).

Nous proposons de faire un point sur le décret portant sur les antibiotiques d'importance critique pour expliciter le cadre d'usage de cette molécule et de présenter des travaux réalisés sur les propriétés pharmacocinétiques de cet antibiotique chez la truite arc en ciel.

Mots clefs : Antibiotique importance critique, enrofloxacin, pharmacocinétique

Références :

1- Brown, S. A. (1996). Fluoroquinolones in animal health. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 19(1), 1-14.

AQUARES : DEVELOPPEMENT D'OUTILS ADAPTES AU SUIVI DE L'ANTIBIORESISTANCE EN AQUACULTURE

Baron Sandrine¹, Larvor Emeline^{1, 3}, Le Bouquin Sophie², Tocqueville Aurélien³, Jouy Eric¹, Gaumé Matthieu³, Chauvin Claire⁴, Kempf Isabelle¹

ANSES - ¹ Mycoplasmatologie-Bactériologie - ² Épidémiologie et bien-être en aviculture et cuniculture,

⁴Épidémiologie et bien-être porcin - Ploufragan, France

³ITAVI - Service Technique Aquaculture - Rouen, France

Résumé

Dans les filières d'élevage terrestre, le suivi de l'antibiorésistance est réalisé lors de plans de surveillance à l'abattoir et/ou à l'étal, via le réseau de surveillance des bactéries pathogènes (Resapath : <https://www.resapath.anses.fr/>), ou lors d'enquêtes ciblées. En filière piscicole, il n'existe pas de plan de surveillance et les données collectées par le Resapath ne sont actuellement pas exploitables tant qualitativement que quantitativement.

Du fait des particularités de cette filière (intégration dans l'environnement aquatique, gestion de l'acheminement des animaux à l'abattoir, part relative de la production française dans la consommation) l'intérêt d'une approche environnementale de l'étude de l'antibiorésistance mérite d'être étudiée.

Le projet Aquares, financé dans le cadre du plan EcoAntibio, avait pour objectifs (i) de proposer une sélection pertinente d'indicateurs de la dissémination de l'antibiorésistance, (ii) de définir une méthodologie d'échantillonnage et analytique.

Durant l'hiver et l'été 2014, des prélèvements d'eau, de sédiment et/ou de biofilm ont été réalisés en amont, en aval et/ou dans les bassins de 20 piscicultures. La recherche ciblant plusieurs genres/espèces bactériennes (*Aeromonas*, *Enterococcus*, ...) a été conduite par culture sur milieux sélectifs supplémentés ou non en antibiotiques (appartenant aux principales familles).

Sur la base de cette étude pilote, les constats et propositions suivants peuvent être faits :

Echantillon : l'eau est le plus simple des prélèvements, plus standardisable que le biofilm et il est toujours réalisable, contrairement au sédiment. Un protocole de prélèvement Amont/Aval est obligatoire afin de caractériser au mieux l'élevage dans son environnement.

Méthode : utilisation de milieux de culture non supplémentés en antibiotique et conservation de 5 isolats pour *Enterococcus* et *Aeromonas* ; pour *E. coli*, l'utilisation de milieux supplémentés en céphalosporines de troisième génération (C3G) est indispensable si l'on cible cette résistance.

Ces propositions essayent de prendre en compte des aspects pratiques (coût, faisabilité) mais ne demeurent que des suggestions. Elles nécessiteraient d'être testées sur un plus grand nombre de sites présentant des caractéristiques variées.

EFFICACITE DE BIOCIDES ET DE FORMULATIONS NETTOYANTES SUR LE DECROCHAGE DU BIOFILM DE *FLAVOBACTERIUM PSYCHROPHILUM*

Thomas Guiraud, Annie Richard, Sandrine Papillon, Le Hénaff Michel

Bordeaux Sciences Agro – 1 Cours du Général de Gaulle – CS 40201 – 33175 – Gradignan, France

Résumé

Dans leur très grande majorité, les microorganismes tendent naturellement à adhérer à la surface de supports variés pour y former des biofilms. C'est également le cas pour *Flavobacterium psychrophilum*, une bactérie Gram-négative psychrotrophe qui infecte les salmonidés d'élevage et qui a la capacité à adhérer sur les supports sans que les mécanismes de cette adhésion soient bien connus (Högfors-Rönnholm et coll. 2011 ; Papadopoulou et coll. 2015). Comme pour les autres bactéries, *F. psychrophilum* à l'intérieur du biofilm est plus résistante à l'action des antibiotiques que les formes planctoniques en raison probablement d'un moindre accès des xénobiotiques aux microorganismes et/ou de changements dans la perméabilité membranaire. Récemment, nous avons objectivé l'efficacité d'un certain nombre de biocides pour traiter des œufs de truite arc-en-ciel contre *F. psychrophilum* en réévaluant les conditions bactéricides de ces molécules (concentration et temps de contact) sur la forme planctonique de cette bactérie (Grasteau et coll., 2015). Il restait à vérifier que ces conditions sont également efficaces pour se débarrasser des cellules adhérentes. Aussi, nous avons testé la capacité de ces biocides à réduire des biofilms de *F. psychrophilum* expérimentaux obtenus sur une surface en polystyrène et comparé celle-ci avec celle de nouvelles formulations nettoyantes supplémentées avec des enzymes.

Des biofilms bactériens ont été obtenus sur le fond de puits de microplaques à partir de suspensions de *F. psychrophilum* JIP02/86 ou d'une souche récemment isolée d'une pisciculture. Cinq biocides (bronopol, peroxyde d'hydrogène, glutaraldéhyde, Incimaxx Aquatic™, et chloramine T) et cinq formulations nettoyantes [(A) = formulation nettoyante [association de dérivés de pin et d'enzymes] ; (B) = (A) dépourvue de dérivés de pin ; (C) = (A) dépourvue d'enzymes ; (D) et (E) : deux formulations nettoyantes enzymatiques utilisées en hygiène professionnelle] ont été testées sur les biofilms obtenus en évaluant les paramètres (i) durées de contact (5, 15 ou 60 minutes) et (ii) températures d'action (10 ou 20 °C).

Les observations réalisées au cours de ce travail soulignent l'inefficacité des biocides sur le décrochage des biofilms de *F. psychrophilum* alors que les formulations nettoyantes permettent l'élimination quasi-totale du biofilm. Ces formulations nettoyantes, en particulier celles qui associent des enzymes moins impactantes sur l'environnement, devraient trouver leur place dans les plans de nettoyage/désinfection pour limiter le développement de biofilms de *F. psychrophilum*.

Références

- Grasteau A., Guiraud T., Daniel P., Calvez S., Chesneau V. & Le Hénaff M. (2015) Evaluation of glutaraldehyde, chloramine-T, bronopol, Incimaxx Aquatic® and hydrogen peroxide as biocides against *Flavobacterium psychrophilum* for sanitization of rainbow trout eyed eggs. *J Aquac Res Development* **6**, 382. doi:10.4172/2155-9546.1000382.
- Högfors-Rönnholm E., Norrgård J. & Wiklund T. (2011) Adhesion of smooth and rough phenotypes of *Flavobacterium psychrophilum* to polystyrene surfaces. *J Fish Dis* **38**, 429–437.
- Papadopoulou A., Howell A & Wiklund T. (2015) Inhibition of *Flavobacterium psychrophilum* adhesion *in vitro*. *FEMS Microbiol Lett* **362**, fnv203. doi: 10.1093/femsle/fnv203.

INEFFICACITÉ DE L'IODE POUR LA DÉSINFECTION DES ŒUFS DE TRUITE PORTEURS DE *FLAVOBACTERIUM PSYCHROPHILUM* ET ESSAIS DE DÉCONTAMINATION DES BACS D'ÉLEVAGE

Bernardet Jean-François¹, Rigau deau Dimitri², Houel Armel¹, Rochat Tatiana¹, Duchaud Eric¹

¹ INRA, Unité de Virologie et Immunologie Moléculaires, Domaine de Vilvert, 78350 Jouy-en-Josas, France

² INRA, Unité Expérimentale Infectiologie Expérimentale des Rongeurs et des Poissons, Secteur piscicole, Domaine de Vilvert, 78350 Jouy-en-Josas, France

Résumé

La bactérie *Flavobacterium psychrophilum* (Fp) reste un des principaux agents pathogènes des salmonidés dans le monde entier. Des expérimentations *in vivo* et *in vitro* ont été menées dans le but d'évaluer d'une part sa présence à la surface des œufs et des matériaux constituant les bacs d'élevage et d'autre part l'efficacité des dérivés iodés et de l'eau de Javel pour sa destruction.

Des œufs de truite sains ou contaminés expérimentalement ont été soumis ou non à un protocole classique de désinfection à l'iode. La mortalité a été enregistrée et la charge bactérienne de chaque lot évaluée par des techniques conventionnelle (culture) et moléculaire (qPCR). Le traitement à l'iode a peu ou pas augmenté la mortalité des œufs sains et infectés mais Fp a été détecté par les différentes techniques dans les alevins issus des œufs expérimentalement infectés, qu'ils aient ou non été traités à l'iode. Un nouveau procédé de désinfection des œufs doit donc être adopté.

Fp a été cultivé sur les matériaux constituant les aquariums (PVC) ou les Ewos (fibre de verre) afin de tester *in vitro* son adhérence ainsi que sa résistance à différents protocoles de décontamination (eau de Javel, brossage, assec). Ces expériences ont montré que la quantité de bactéries présente sur la surface lisse du PVC est environ 1000 fois inférieure à celle retrouvée sur la fibre de verre, dont la surface est très irrégulière. L'assec de une semaine ainsi que l'eau de Javel (0,1% pendant une nuit ou 1% pendant 15 minutes) ont totalement éliminé Fp sur les deux matériaux dans ces tests effectués en laboratoire.

Afin de vérifier l'efficacité du protocole de désinfection en conditions réelles, deux aquariums en PVC ont été contaminés avec une suspension de Fp puis décontaminés ou non à l'eau de Javel. Cinquante alevins d'une famille de truite très sensible à Fp ont ensuite été introduits dans les deux aquariums. Au bout d'un mois, la mortalité a atteint 100% dans l'aquarium non désinfecté, démontrant que Fp avait persisté après rinçage et remise en eau. Aucun poisson n'est mort dans l'aquarium désinfecté et la bactérie n'a pas non plus été détectée chez les survivants, ce qui confirme l'efficacité de l'eau de Javel dans la décontamination des matériaux.

Les améliorations possibles des protocoles de désinfection sont discutées.

**EFFETS DES FEUILLES DE *LITSEA CUBEBA* (LAURACEAE) SUR LA
CROISSANCE, L'IMMUNITÉ ET LA SURVIE DE LA CARPE COMMUNE
(*CYPRINUS CARPIO*) APRES INFECTION AVEC *AEROMONAS HYDROPHILA*.**

Sarter Samira^{1*}, Nguyen Hai Van², Trinh Thi Trang³, Nguyen Ngoc Tuan³, Chu Ky Son²,
Caruso Domenico⁴

¹ CIRAD, ISEM UMR 116, 73 rue JF Breton, F-34398 Montpellier, France

² Hanoi University of Science and Technology. 1, Dai Co Viet, Hanoi. Vietnam

³ Vietnam National University of Agriculture. Trau Quy, Gia Lam, Hanoi. Vietnam

⁴ IRD, ISEM UMR 226 CC 065 Place Eugène Bataillon 34095 Montpellier cedex 05, France

Email* : samira.sarter@cirad.fr

Litsea cubeba est un petit arbre (5-8 mètres) appartenant à la famille Lauraceae, largement distribuée dans le sud de la Chine, le Japon, Taiwan et en Asie du Sud-Est. L'objectif de cette étude était d'évaluer les effets biologiques induits par une alimentation enrichie avec la poudre de feuilles sur la croissance, l'immunité non spécifique et la survie de la carpe commune, *Cyprinus carpio*, infectée expérimentalement avec *Aeromonas hydrophila*.

Les poissons ont été alimentés avec une addition de 0% (témoin), 2%, 4% et 8% de poudre de feuilles pendant 21 jours. Les paramètres de l'immunité humorale non spécifique (lysozyme, activités hémolytique et bactéricide du plasma) ont été évalués après 21 jours d'alimentation et avant l'infection expérimentale.

Le gain de poids, le taux de croissance spécifique et la conversion alimentaire ont été améliorés par la supplémentation de *L. cubeba* d'une manière dose-dépendant et une différence significative est obtenue à la dose la plus élevée (8%) par rapport au témoin. L'augmentation du lysozyme plasmatique a été significative pour tous les groupes traités. L'activité hémolytique a été plus élevée pour les groupes nourris avec 4% et 8% de plantes. L'activité antibactérienne a augmenté de manière significative pour la dose de 8% seulement.

L. cubeba augmente l'immunité non spécifique des carpes de manière dose-dépendant. Après l'infection avec *A. hydrophila*, les survies des poissons nourris avec des doses de 4% et 8% de *L. cubeba* étaient significativement plus élevées que celles observées chez le contrôle et les carpes nourries avec 2% de plantes.

En conclusion, la supplémentation de 4% à 8% de feuilles de *L. cubeba* (à partir du chemotype spécifique riche en linalol) peut être utilisée en prévention de MAS (Motile Aeromonads Septicemia) provoquée par *A. hydrophila* et ainsi réduire l'usage des antibiotiques en élevage.

Keywords: Antimicrobiens naturels, Immunité non spécifique, *Aeromonas hydrophila*, *Cyprinus carpio*, *Litsea cubeba*.