



Appel à projets 'soutien à l'innovation' 2002
Programme terminé en décembre 2004

**Etude de l'amélioration de la rentabilité et de la sécurité sanitaire des filières truite arc-en-ciel et bar
par l'utilisation de probiotiques par voie alimentaire**

Chef de file : INRA SEMII
Barrage du Drenec BP 17 - 29450 SIZUN
Tél. : +33 (0)2 98.68.89.36 - Fax : +33 (0)2 98.24.10.08 - Courriel : joel.aubin@rennes.inra.fr
Contact : Joël Aubin

Partenaires : IFREMER (Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer)
AFSSA (Agence Française de sécurité sanitaire des aliments) - site de Brest
SARL Lallemand Nutrition Animale
S.A Viviers de France
S.A. Aquanord

■ Contexte du programme

L'objectif de ce programme est de tester l'intérêt d'une approche probiotique, utilisant une bactérie lactique (*Pediococcus acidilactici*), une levure (*Saccharomyces cerevisiae var boulardii*) ou leur mélange dans l'alimentation des poissons, pour l'amélioration de la santé (résistance aux maladies) et des performances d'élevage chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), à l'échelle expérimentale et à l'échelle de la production. Un essai comparatif est réalisé sur un élevage de bars.

Sur un plan plus scientifique, cette étude doit permettre de montrer la capacité de ces microorganismes de s'implanter et de modifier la flore digestive de leur hôte. Par ailleurs les paramètres de l'immunité sont contrôlés afin d'éclaircir le mode d'action des probiotiques sur la santé des poissons.

■ Etude menée en installation expérimentale

La première phase de l'étude est conduite à la SEMII où les alevins sont nourris dès l'ouverture de la bouche avec l'aliment standard, ou ce même aliment supplémenté en usine avec Levucell (*S. boulardii*), Bactocell (*P. acidilactici*) ou le mélange des deux microorganismes à des taux de 10^6 CFU¹/g pour chacun des probiotiques.

Le suivi microbien du tube digestif a permis de montrer que les deux microorganismes survivent et transitent dans l'intestin des truites (10^5 CFU/g de contenu intestinal). Ils influent notablement sur la composition de la flore digestive, bien que *P. acidilactici* ne semble pas s'implanter dans le tube digestif. *S. boulardii* chez les poissons traités au Levucell est associée à la muqueuse intestinale pendant le premier mois d'alimentation (10^3 CFU/g d'intestin). Pendant les 20 premiers jours, une levure autochtone, *Debaryomyces hansenii*, est observée en grande quantité (10^4 CFU/g).

¹ CFU = colonie formant unité

Les paramètres zootechniques contrôlés jusqu'au stade portion ne montrent aucune différence entre les poissons traités avec des probiotiques et les poissons témoins ni en terme de croissance ni en terme de survie. Des mesures de rétention azotée montrent une tendance à l'amélioration avec les traitements Bactocell et Levucell seuls, mais ces résultats ne sont pas significatifs. La même tendance est observée avec le taux de poissons atteints par les compressions de vertèbres qui diminuent (de façon non significative) avec les traitements Bactocell et Levucell. Sur les paramètres de qualité de chair contrôlés au stade portion (rendements de découpe, couleur du filet, et composition proximale), seule la teneur en lipides du muscle distingue les traitements de façon significative. Le traitement Levucell induit une teneur en lipides intra musculaires significativement supérieure au témoin et au traitement mélange (Bactocell + Levucell). Ces résultats montrent l'innocuité du traitement dans les conditions de l'expérience.

Un test de résistance à une infection expérimentale avec *Yersinia ruckeri* (agent de la maladie de la bouche rouge) réalisé à l'AFSSA, montre une très bonne protection des poissons de 4 mois, traités avec le Levucell et avec le Bactocell dans une moindre mesure. Par contre, même si elle existe encore, la protection des poissons traités avec le mélange des deux microorganismes est significativement inférieure à celle des 2 lots précédents. Parmi les poissons survivants à l'infection, on remarque aussi une diminution significative des porteurs sains avec les traitements Levucell et Bactocell. Néanmoins aucun effet des probiotiques n'est montré sur les paramètres immunitaires humoraux. Une étude sur les paramètres immunitaires cellulaires est à envisager.

Les effets observés indiquent que chacun des deux probiotiques donne généralement des résultats meilleurs lorsqu'il est appliqué séparément. Une supplémentation en mélange n'est donc pas à retenir à la suite de cette première phase. Le Levucell est choisi comme probiotique à tester à l'échelle de la production sur la truite arc-en-ciel et sur le bar.

■ Etude menée en pisciculture de production de truite arc-en-ciel

Sur le site de Lévignacq de Viviers de France, l'étude est reprise depuis le démarrage alimentaire et jusqu'au stade portion. Sur ce site, une pression pathologique plus forte a induit l'apparition de maladies à plusieurs reprises, ainsi qu'un accident de qualité d'eau qui a provoqué la mort d'une partie du cheptel 4 mois avant la fin de l'expérience. Même si l'on observe un écart de poids en faveur des poissons traités au Levucell en fin de période, on ne peut imputer ce résultat au traitement probiotique mais plutôt à la conduite d'élevage avec une densité d'élevage plus faible chez les poissons traités.

Aucune amélioration de la survie avec le traitement n'a été observée dans les conditions de la production. Néanmoins l'apparition d'une pathologie avant même la période d'efficacité potentielle du Levucell, nécessitant l'utilisation de traitements antibiotiques et le recours à la vaccination, a pu être un facteur perturbateur ayant influencé l'efficacité du probiotique.

L'étude de la microflore du tube digestif des truites de Lévignacq montre une très grande différence avec ce qui est observé à la SEMII, marquée par une charge bactérienne beaucoup plus élevée chez les truites de cinq mois, et des genres dominants et sous-dominants très différents. Citons en particulier la présence d'une souche autochtone de *Saccharomyces cerevisiae* qui représente une part importante des levures du tube digestif au cinquième mois, mais qui n'est plus retrouvée en fin d'expérience. Cependant, la composition de la flore est influencée par le traitement probiotique.

Il n'est pas trouvé d'influence du traitement Levucell sur la croissance ou la conformation du poisson. On retrouve la même tendance à une augmentation de la teneur en lipides musculaires sans dégradation des rendements de carcasse (pas de sur-stockage de lipides en zone péri viscérale).

Par contre le lot traité au Levucell présente une amélioration des rendements en filetage qui n'est pas notée à la SEMII. Il faut néanmoins se rappeler qu'un écart de densité d'élevage entre les deux lots a pu avoir un effet sur la

physiologie des poissons avant de conclure à un effet du Levucell. Cette caractéristique devra donc être vérifiée ultérieurement.

La pigmentation rouge du filet est nettement améliorée par le traitement Levucell à Lévignacq mais pas à la SEMII, où le niveau moyen de pigmentation était plus élevé. On peut poser l'hypothèse que le traitement Levucell a un effet positif sur la pigmentation dans le cas où celle-ci ne serait pas optimale.

Ces deux résultats laissent penser que **le traitement Levucell pourrait se comporter comme un facteur de compensation sur la qualité du muscle en condition non optimale.**

Aucun porteur sain n'a été détecté ni dans le lot Témoin ni dans le lot Levucell quelle que soit la date de prélèvement. Une action propre de *Saccharomyces cerevisiae boulardii* n'est pas à exclure tout au moins pour les animaux du lot Levucell. Cependant cette absence de porteur sain, tant dans le lot Levucell que le lot Témoin, peut également en partie s'expliquer d'une part, par les différents traitements antibiotiques réalisés au cours de l'été et automne 2003 et d'autre part, par l'effet protecteur de la vaccination effectuée en août et septembre 2003.

La concentration en IgM totales plasmatiques des poissons sur le site de Lévignacq est supérieure à celle observée chez les animaux de la SEMII et ce quelle que soient la date de prélèvement et le lot. Il semble donc exister une stimulation immunitaire globale plus importante, probablement consécutive aux différents épisodes pathologiques observés à Lévignacq au cours de l'été 2003 ainsi qu'à la différence de qualité de l'eau de rivière en pisciculture.

Enfin une diminution significative de la concentration en lysozyme est constatée chez les truites du lot Levucell par rapport à celle des poissons du lot Témoin au prélèvement 1. Cette même tendance a déjà été notée chez les poissons maintenus à la SEMII lors de l'étude expérimentale ainsi que chez les animaux ayant survécu à l'infection expérimentale à l'Afssa site de Brest. Il semblerait donc que l'ingestion de *Saccharomyces cerevisiae* provoque une diminution, tout au moins lors des premiers mois du traitement, de la quantité de cette enzyme dans le sang. L'inhibition de l'activité lysozymale n'est cependant que transitoire, en effet à la fin du traitement sur les 2 sites, la concentration en lysozyme est du même ordre dans les lots Levucell et Témoin. Une augmentation de la concentration en IgM Totales plasmatiques est également observée à Lévignacq lors du dernier prélèvement chez les animaux recevant du Levucell.

■ Etude menée en pisciculture de production de bar

L'expérience réalisée à Aquanord sur le bar est conduite sur deux types de structure d'élevage (production et expérimentale) en répliquat, sur des poissons ayant 1,5 g au début de l'essai. L'abattage final a eu lieu à un poids d'environ 90g. Aucun effet sur la croissance et la survie n'est montré par cet essai. Un très fort effet du type de structure d'élevage apparaît. Aucun effet n'est montré sur les paramètres de conformation et de qualité proximale.

La concentration de levure probiotique retrouvée dans l'intestin est très faible. Aucun effet du traitement probiotique n'a pu être observé. Seule l'augmentation de la charge bactérienne entre les alevins en éclosion et les bars en fin de test est significative. Ce résultat pose la question de la survie et de l'adaptation de probiotiques allogènes chez les poissons marins après la métamorphose et d'un mode d'administration le plus adapté.

Un traitement au Levucell de sept mois et demi n'induit pas de modification au niveau des paramètres immunitaires étudiés. Par contre, dans les lots Témoin et Levucell, une augmentation significative de la concentration en IgM totales plasmatiques est observée chez les bars élevés en bassins de grossissement par rapport à celle constatée chez les animaux maintenus dans les bassins Recherche et Développement. Un effet bassin est donc mis en évidence suggérant une plus forte stimulation antigénique dans les bassins de grossissement.

■ Conclusions

Ce programme a permis de montrer les avantages potentiels que peuvent apporter les probiotiques, tant sur le plan de la santé (possible protection contre les pathogènes) que sur celui de l'amélioration de certaines caractéristiques de la qualité de la chair (teneur en lipides, pigmentation...). De nouvelles connaissances sur les interactions entre la flore digestive autochtone et les probiotiques ont été acquises, qui pourront permettre de progresser.

Dans un contexte où l'utilisation du médicament est problématique (difficulté de maîtrise des traitements en milieu aquatique, impact sur l'environnement, accès réduit aux molécules), et où il devient impératif de développer des méthodes plus durables d'amélioration de l'état sanitaire des élevages, les probiotiques ont un rôle important à jouer en aquaculture.

Néanmoins, il ne faut en aucun cas les considérer comme une solution miracle. Leur mode d'action et les paramètres environnementaux, en particulier la flore microbienne des élevages, modulant l'expression de leur activité doivent être étudiés plus avant.