



*Appel à projets 'soutien à l'innovation' 2003
Programme terminé en août 2005*

FLAVOFIMER : Essais de diminution du portage de *Flavobacterium psychrophilum* en éclosion de truite, évalués par PCR

Chef de file : SYSAAF (Syndicat des sélectionneurs avicoles et aquacoles français)
Station SCRIBE / INRA, Bat 16 A, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes
Tel : 02.23.48.53
Contact : Pierrick Haffray
Partenaires : ENITA de Bordeaux : Laboratoire de Microbiologie et Biochimie Appliquée
Groupement de Défense Sanitaire Aquacole d'Aquitaine (Mont de Marsan)

■ Rappel des objectifs du programme

La flavobactériose constitue l'une des principales pathologies bactériennes rencontrées en truiticulture d'eau douce. Elle peut être à l'origine de mortalité élevée (jusqu'à 70 %). Elle touche principalement les alevins à leur stade le plus jeune mais on assiste depuis quelques années à des atteintes de truites de plus grande taille. A ce jour aucun vaccin n'est disponible sur le marché. En cas de crise le seul recours est l'antibiothérapie. Des travaux scientifiques ayant émis l'hypothèse d'une transmission de la bactérie *in ovo*, il était important :

- de vérifier cette hypothèse pour préciser les risques de diffusion de cet agent pathogène par les éclosures,
- de réaliser une étude du niveau de portage des reproductrices,
- et d'envisager différentes approches pour le limiter.

Au cours de ces travaux, la présence de la bactérie a été recherchée par une technique de nested-PCR développée depuis plusieurs années par l'ENITA de Bordeaux.

1. Etude de la transmission verticale de la flavobactériose

Différents travaux scientifiques tendent à démontrer la transmission *in ovo* de *F. psychrophilum* alors que d'autres laissent supposer une transmission *ex ovo*. L'objet de cette partie du programme était de confirmer ou d'infirmer l'hypothèse d'une transmission *in ovo*.

Les travaux réalisés, après la mise au point d'une méthode de désinfection de la surface des œufs, concluent à l'absence de *F. psychrophilum* à l'intérieur des ovocytes alors que leur surface est contaminée par cette même bactérie.

2. Etude du portage de *F. psychrophilum* dans le fluide cœlomique

Le pourcentage de femelles présentant des fluides cœlomiques positifs (taux de portage) varie suivant les piscicultures de 8 % à 64 %. Le taux de 8 % illustre la possibilité d'obtenir un taux de portage faible si des précautions sanitaires strictes sont appliquées systématiquement (zonage, sas, désinfection des œufs œillés, règles de circulation du personnel, désinfection du matériel, port de tenues spécifiques). La contamination est majoritairement « faible » (< 100 bactéries/mL). A noter que le niveau de contamination des fluides cœlomiques est indépendant du taux de portage des poissons. Une relation positive entre la densité d'élevage et le taux de portage est présente pour 5 sites sur les 6 étudiés.

3. Mise au point d'une procédure de détection de *F. psychrophilum* dans la laitance de néomâle
Une procédure de détection de *F. psychrophilum* dans la laitance de néomâle a été développée par dilutions successives des extraits testiculaires dans le Stor-Fish (afin de diluer les inhibiteurs de PCR présents en grande quantité dans la laitance). Cette méthode permet de détecter les laitances porteuses.

4. Effet d'un autovaccin

L'effet d'un autovaccin utilisé par une des entreprises adhérentes du SYSAAF a été évalué par analyse comparative des taux de portage chez des femelles vaccinées par rapport à des femelles non traitées. Assez curieusement, le lot de femelles vaccinées a présenté un taux de portage supérieur à celui du lot non traité (28 % vs 8,3 %). Le faible taux de portage du lot non traité n'a pas permis de conclure à un effet positif de l'utilisation d'un autovaccin.

5. Effet d'un traitement antibiotique préventif à l'amoxicilline

L'effet d'un traitement antibiotique préventif pour réduire le taux de portage chez les femelles a été testé en pisciculture. Les faibles taux de portage observés, en comparant les fluides coelomiques des femelles traitées ou non traitées (1/19 vs 1/23), ne permettent pas de conclure sur l'effet positif d'une injection préventive d'amoxicilline.

6. Intérêt d'une désinfection des œufs au stade œillé (non prévue initialement dans le programme)

L'effet d'une baignade des œufs au stade œillé dans du glutaraldéhyde (250 ppm pendant 20 minutes à 10°C) a été évalué lors de la réception d'un lot d'œufs sur une ferme d'alevinage après vérification de la présence de la bactérie. Après 20 minutes de traitement, la contamination avait disparu, cette absence de la bactérie étant toujours observée 3 jours après la mise en élevage des embryons avant l'éclosion. Ce travail confirme l'intérêt d'un traitement des œufs au stade œillé pour couper les risques de transmission pseudo-verticale.

7. Efficacité de l'utilisation d'une flore de compétition en alevinage

Le lot d'œufs désinfectés au glutaraldéhyde (voir 7.) a été élevé sur une ferme d'alevinage et traité par des baignades régulières dans un produit commercial (le Genesyz) composé officiellement de différentes bactéries non pathogènes et d'enzymes. Deux crises de flavobactériose ont été observées. Le traitement au Genesyz n'a pas été suivi d'une réduction du nombre de crises mais dans les lots traités la mortalité cumulée était significativement inférieure : 0,45 % vs 1,05 % en nurserie et 1,2 % vs 1,86 % en prégrossissement.

8. Transfert des résultats

Les résultats ont été transférés aux écloséries adhérentes du SYSAAF et au CIPA. Deux fiches techniques ont été rédigées afin de proposer des stratégies pour constituer un cheptel de reproducteurs en sélection indemne ou pour limiter le portage en éclosérie.

Les analyses PCR sont actuellement réalisées par le laboratoire de recherche de l'ENITA.

La haute technicité nécessaire à sa mise en place de cette technique ne devrait pas permettre son transfert dans tous les laboratoires utilisant la méthode PCR. Il semble plus judicieux d'envisager un transfert à des laboratoires pratiquant déjà la nested-PCR pour d'autres analyses.

■ Conclusions

Le programme apporte une preuve supplémentaire au rejet de l'hypothèse d'une transmission verticale *in ovo* de *F. psychrophilum*, ce qui limite les craintes d'une diffusion de cette bactérie par les écloséries. Il illustre l'intérêt d'une désinfection des œufs au stade œillé pour couper les transmissions horizontales ou pseudo-verticales et souligne la nécessité d'adopter des procédures d'hygiène strictes et adaptées. La possibilité de caractériser le portage des néomâles a été développée. Les essais de vaccination à l'aide d'un autovaccin et de traitement antibiotique préventif n'ont pas permis de conclure à l'efficacité de ces techniques. Le traitement des alevins jusqu'à 5 g avec une flore de compétition du commerce a montré son intérêt pour réduire l'ampleur des mortalités. Ce résultat devra être confirmé par des essais complémentaires.