

De la maladie au bien-être, 20 ans d'évolution de la perception de la pathologie chez le loup d'élevage (*Dicentrarchus labrax*)

Zootecnie ou pathologie

Durant les 2 décennies précédant les années 90 les recherches en aquaculture de poissons marins furent très nombreuses et se basaient sur les rares expériences antérieures en s'inspirant essentiellement des élevages en eaux douces, saumon excepté. Les recherches portaient sur de multiples espèces et les expériences allaient dans de nombreuses directions mêlant, vue l'absence de connaissances fiables, zootecnie de base et recherches plus fondamentales. A cette époque on était incapable de distinguer si les problèmes de mauvaise santé du poisson étaient consécutifs à une pathologie ou liés à un problème d'élevage. Les traitements des « pathologies » étaient symptomatiques, empiriques et essentiellement anti-infectieux.

Les verrous tant sur la qualité de l'eau, les élevages larvaires, la nutrition et le sevrage, l'absence de vessie natatoire sautèrent un à un mais les publications sur cette période sont rares. En revanche, de nombreux rapports internes existent et sont archivés sous forme papier à la bibliothèque de la station IFREMER de Palavas (MERA 1985, Etat actuel de l'élevage de loup en éclosierie. Colloque franco japonais océanogr., Marseille 16-21 septembre 85, 8, 31-40) et quelques rares sont numérisés. (1) (2)

Les travaux et publications avant 1990 sur la pathologie et immunologie des poissons et du loup en particulier sont très rares. Un projet d'étude en 1980 sur les fonctions immunes chez le loup, précise que l'étude bibliographique n'a permis de trouver que 2 références portant sur la truite, une de Chiller en 1969 et l'autre de Rijkers en 1980. Ce dernier, surtout connu pour ses travaux en immunologie humaine à l'université Roosevelt en Hollande, avait fait sa thèse en 1980 sur le système immunitaire de la truite. La thèse d'Angelidis, en 1987 (Université de Brest) portée sur les éléments du système immunitaire du bar et de la truite.

A cette période les rares publications relatives à l'immunologie traitaient d'immunologie aspécifique et spécifique, dans ce dernier cas il s'agissait d'activité anticorps et non de présence d'immunoglobuline. (3) (4)

Les rares ouvrages généraux sur les systèmes de défenses des poissons marins contenaient souvent des extrapolations hâtives des données mammifères ou de vertébrés, plus évolués que le poisson. E. Ellis, du laboratoire d'Aberdeen, qui est devenu une référence en immunologie poisson, disait en 1977 dans une « review » publiée dans *Journal of Fish Biology* « Beaucoup de publication contradictoires, on extrapole trop les similitudes de structure chez les mammifères à la fonction ». Les connaissances ont beaucoup évoluées mais ce travers persiste. Un trait génétique peut se retrouver chez un descendant (en termes de phylogénie) mais il est hasardeux d'avancer le contraire.

Les premiers papiers sur les gènes d'immunoglobulines chez le poisson datent de 1990. Ceci s'explique par le fait que ce n'est qu'en 1988 que le remplacement du fragment de Klenow de *E. coli* par une polymérase thermorésistante a permis à la PCR (Polymerase Chain Reaction) d'être plus fiable et automatisable.

Quelles pathologies futures ? Acquisition de connaissances et d'outils généraux.

De nombreux problèmes de zootechnie au niveau des élevages larvaires, du pré-grossissement et du grossissement du loup étaient résolus et l'on pouvait, dans nombre de cas, distinguer les problèmes de zootechnie de ceux de pathologie infectieuse ou virale. Les problèmes pathologiques liés à l'élevage du loup étaient peu importants, y compris ceux liés aux parasites, depuis l'installation des élevages en mer et des solutions curatives satisfaisantes existaient pour les problèmes ponctuels.

En termes de pathologie l'évolution vers une production industrielle devait logiquement déboucher, à plus ou moins long terme, sur l'apparition de pathologies connues ou nouvelles avec une évolution en épidémie.

Trois facteurs permettaient de prévoir cette évolution :

-L'absence de sélection naturelle tant au niveau des mortalités larvaires qu'au niveau de la concurrence vitale pour la nourriture.

-Absence de prédateurs éliminant les faibles, mais surtout les malades avant qu'ils ne contaminent les autres.

-Promiscuité favorisant la contamination et exportation de la maladie par les échanges intra et inter fermes au niveau national et international.

De plus la captivité empêchait les poissons de trouver des conditions de milieu plus favorables pour fuir par exemples les lentilles d'eau désoxygénées et/ou polluées, comme cela avait été constaté dans les étangs Corses, ou de rechercher une température permettant une pseudo-fièvre limitant les infections.(5)

Les problèmes connus (parasites, vibrio ...) n'auguraient en rien des problèmes à venir. Les solutions trouvées empiriquement pour les pathologies antérieures souffraient, fautes de connaissances fondamentales suffisantes, d'un manque d'explications scientifiques et limitaient les chances de succès de leur extrapolation à des problèmes nouveaux. Il fallait donc rechercher des méthodes générales qui seraient aisément adaptables aux cas particuliers à venir et entamer une étude fondamentale du système immunitaire du loup.

La première étape fut la mise en évidence puis la caractérisation physique des immunoglobulines sériques du loup. Ces molécules d'un poids moléculaire supérieur à 800 kD sont composées de quatre monomères, d'où leur appellation d'IgM par analogie à un des types d'immunoglobulines humaines (pentamériques) mais, contrairement à l'homme, la majorité des poissons ne possède que ce seul type d'immunoglobuline. La seconde étape fut la production de deux sondes monoclonales anti-immunoglobulines du loup, outils indispensables à cette étude.(6) (7)

Evolution des Immunoglobulines chez le loup.

Ces sondes permirent la mise au point de techniques de recherche des IgM sur coupes histologiques ou leur dosage dans différents tissus et le sérum. Cela permit d'étudier l'ontogenèse des immunoglobulines du loup et d'évaluer le transfert des IgM du géniteur à la larve. (8) (9)

Une autre application fut la recherche de l'évolution temporelle de la concentration d'immunoglobulines sériques suite à l'injection de pathogène tué ou à l'exposition a des concentrations sub-létales d'ammoniaque. Dans le premier article (10) apparaît la notion de relation potentielle entre les immunoglobulines et les protéines sériques mais aussi les protéines liées à la gestation. Le deuxième (11) apportait des éléments dans ce sens et avançait l'hypothèse d'un pool de réserve de «motif protéiques de base» utilisés selon le besoin ou l'urgence et reconstitué ensuite. Les méthodes d'identification des fractions

peptidiques de l'époque ne permettaient pas de répondre et malgré des données allant dans ce sens aucune confirmation ni infirmation de ces hypothèses n'ont été apportées par la suite. Les limites floues entre la réaction à l'agression dans l'urgence, la compensation, l'adaptation potentielle ou la décompensation et surtout l'impact de variations importantes d'un facteur du milieu restant dans les limites sub-létales apparaissent dans ce travail et montrent les limites des méthodes classiques de toxicologie telle que la DL50.

La nodavirose : de la théorie à la pratique

Cette nouvelle maladie virale se manifesta dans les années 1987 en Martinique en affectant le système nerveux central des larves de loup puis sur la côte méditerranéenne française enfin chez le baramundi en Australie. Cette encéphalopathie et rétinopathie provoquée par le nodavirus, était devenue la maladie virale prépondérante dans les élevages de loup en France et en Europe. Les pertes économiques très importantes subies en 1995 doublèrent en 1996, auquel venait s'ajouter l'effet psychologique engendré par la dénomination de la maladie, évocatrice d'une pathologie très médiatisée en 1996, l'Encéphalopathie Spongiforme Bovine dite maladie de la vache folle. Cet ensemble risquait, à terme, de pousser les aquaculteurs marins à abandonner l'élevage du loup au profit d'autres espèces de poissons marins dont la dorade, considérée comme non sensible et de provoquer un effondrement des cours de cette dernière. Il fut montré plus tard que la dorade était un porteur sain de ce virus. (12)

Les études portèrent sur plusieurs axes et furent facilitées par l'identification récente d'une lignée cellulaire (SSN1) permissives au virus qui permit la production et la quantification de ce dernier. Elles furent dirigées dans plusieurs directions : connaissance du virus et son génome (13), transmission de la maladie, méthodes de détection du virus vivant, par cultures cellulaires ou des ses traces telles la séropositivité par ELISA (14) ou l'amplification de fractions protéiques par PCR (15), complétant les méthodes plus anciennes de recherche de lésions encéphaliques.

La voie curative étant impossible avec un virus, l'accent fut porté sur la prévention : l'hygiène, la désinfection et la vaccination. Les avancées théoriques furent importantes tant sur la connaissance du virus, l'étude épidémiologique et le mode de transfert chez l'adulte et les larves ainsi que sur les méthodes de vaccination, mais la solution trouvée fut purement « zootechnique », une hygiène, une désinfection rigoureuse, l'élimination de toutes possibilités de transmission intra ou inter élevages et l'élimination des animaux ayant été en contact avec le virus (bio-sécurisation) quelque soit leur état de santé.

La vaccination un bon choix pour la santé ?

L'injection de gènes codant pour la capsidie inclus dans un plasmide, l'injection de peptides synthétisés chimiquement et enfin l'injection d'une capsidie vide de tout matériel viral obtenue artificiellement (16) furent testées contre la Nodavirose. Ces nouvelles méthodes n'avaient jamais été appliquées aux poissons. Elles étaient comparées à un vaccin «classique» tué par la chaleur qui se révéla plus tard être un vaccin vivant, non cultivable sur culture de cellules, mais infectieux. Bien que ce fut déjà expérimenté sur la truite, et quels que soient les résultats obtenus, le traitement des loups par l'injection d'un plasmide les transformait en organismes génétiquement modifiés et engendrerait des problèmes éthiques et surtout commerciaux. La vaccination par peptides synthétiques n'avait jamais été expérimentée chez le poisson et seul un vaccin humain contre le paludisme avait atteint la phase des essais cliniques sans jamais être commercialisé, bien que son inventeur

Patarroyo ait proposé de faire don du brevet à l'Organisation Mondiale de la Santé. Le choix des peptides potentiellement protecteurs fut recherché par informatique et par « peptid spots » ancêtres des puces, deux méthodes issues des recherches sur les mammifères et, pour la seconde, adaptée au loup (17). Les travaux sur la vaccination par peptides synthétiques montrèrent les difficultés d'extrapolation du mammifère au poisson et ne révélèrent aucune différence significative pour les animaux déclarant la maladie mais une augmentation du pourcentage de guérison (18). Cet avantage précieux en médecine humaine peut devenir un handicap en médecine vétérinaire où un animal malade revient souvent plus cher qu'un animal mort.

Nonobstant du coût en temps, argent et risque de perte pondérale ou de mortalité induite, la vaccination pose toujours des problèmes de commercialisation car les animaux devenant séropositifs, les acheteurs ne peuvent plus les distinguer de ceux qui ont été en contact avec la maladie. La gestion de l'épizootie de fièvre aphteuse de 2001 au Royaume-Uni le rappela brutalement. Bien qu'un vaccin exista, le Royaume-Uni avait euthanasié ses bovins car, comme le Canada et les Etats-Unis, elle avait fait et maintenu le choix commercial de ne pas vacciner son bétail.

Cette distorsion entre les avancées scientifiques intéressantes et une solution pratique simple alimenta la réflexion sur la place de la pathologie dans les élevages de poissons. Cette réflexion avait déjà commencé de manière diffuse plusieurs années plus tôt (19). Les échanges entre chercheurs étaient assez importants mais souvent informels et n'ont laissés que peu de traces écrites (annexes 1 et 2). Celles-ci restent néanmoins très instructives et montrent la lente maturation qui aboutira à considérer la gestion des maladies ou plutôt de la santé en élevage comme n'étant qu'un des volets de la zootechnie s'incluant dans une politique commerciale globale. Ce type de réflexion, déjà avancée pour les élevages terrestres, permit l'émergence des notions de « produit », d' « image » et de « bien-être » plus difficilement appréhendables pour les scientifiques traditionnels.

De la santé au bien-être.

Dans les travaux qui suivirent il ne sera plus question de maladie ou de pathologie mais de santé, de stress et de bien-être en regard de pratique et/ou de conditions environnementales parfois extrêmes mais sans conséquences pathologiques. Les seuls liens qui furent conservés avec les travaux précédents étaient les méthodes de dosage sérique ou tissulaire issues de la pathologie, non pas pour évaluer l'état clinique des poissons mais pour trouver des critères biologiques discriminant et pratiques pour évaluer leur état physiologique perturbé ou non. Les pathogènes n'étant plus utilisés que comme un moyen parmi d'autres lors des challenges pour évaluer l'impact de différentes conditions d'élevages testés. (20), (21), (22)

On en revient à la notion de conditions anormales mais ni létales ni pathogéniques, restant dans des limites physiologiques et entraînant un stress probable et évaluable par opposition au bien-être où le poisson est dans des conditions optimales d'élevage. Des études montrèrent qu'un transfert des poissons d'un bassin à un autre entraînait un stress plus important que des conditions de densité, d'hyperoxie ou d'hypercapnie extrêmes quantifiables, entres autres par l'évolution de la protéinémie. (23)

Ceci rappelle le travail sur l'influence des doses sub-létales d'ammoniaque, cité en début, avec une variation de protéinémie et une modification des profils protéiques sériques. Par bonheur les nouvelles techniques telles que la bio-informatique et la protéomique permirent d'identifier ces variations, non interprétables à l'époque, et montrèrent l'apparition de protéine de l'inflammation. (24)

Cet historique montre l'évolution importante des connaissances fondamentales et appliquées des techniques de recherche et de suivi de la santé des poissons d'élevage. C'est la période d' «adolescence» des élevages marins qui a succédé à celle des pionniers de l'après-guerre. Il montre aussi l'évolution des concepts et perceptions des pôles auxquels l'éleveur doit et devra s'intéresser s'il veut survivre sur un marché concurrentiel.

De nombreux domaines restent à approfondir dont les mécanismes de réaction au stress. La compensation à court terme a été en partie étudiée mais les processus d'adaptation à long terme n'ont été qu'effleurés. Ces connaissances seront utiles pour mieux maîtriser la domestication de nouvelles espèces de poissons marins.

Bibliographie

- (1) Coves Denis, Dewavrin Guirrec, Breuil Gilles, Devauchelle Nicole (1991). Culture of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L). In Handbook of Mariculture, Volume II: Finfish Aquaculture (CRC Press). <http://archimer.ifremer.fr/doc/00049/16021/>
- (2) Chatain Beatrice. Problems related to the lack of functional swimbladder in intensive rearing of the seabass *Dicentrarchus labrax* and the sea bream *Sparus auratus* . Advances in Tropical Aquaculture, Tahiti (French Polynesia), 20 Feb - 4 Mar 1989. <http://archimer.ifremer.fr/doc/00000/1432/>
- (3) Deschaux P, Peres G. Effects de le temperature et du regime alimentaire sur certains parametres de l'immunité cellulaire du loup de mer en elevage. Bases biologiques de l'aquaculture, Montpellier, 12-16 decembre 1983. <http://archimer.ifremer.fr/doc/00000/1248/>
- (4) Deschaux, P; Perroy-Cordier, L; Peres, G. Comparative Immunology, Evidence for NK cells in *Dicentrarchus labrax* . Action of breeding temperature. Microbiology and Infectious Diseases 6.1 (1983): 81-94. <http://search.proquest.com/docview/13555285?accountid=27530>
- (5) A.Gräns, M. Rosengren, L. Niklasson, M. Axelsson. Behavioural fever boosts the inflammatory response in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Journal of Fish Biology, Volume 81, Issue 3, pages 1111–1117, August 2012 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1095-8649.2012.03333.x>.
- (6) B. Romestand, G. Breuil, C.A.F. Bourmaud, J.L. Coeurdacier, G. Bouix. Development and characterisation of monoclonal antibodies against seabass immunoglobulins *Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758. Fish & Shellfish Immunology, Volume 5, Issue 5, July 1995, Pages 347–357 <http://dx.doi.org/10.1006/fsim.1995.0033>
- (7) ChloéA-F. Bourmaud, Bernard Romestand, Georges Bouix. Isolation and partial characterization of IgM-like seabass (*Dicentrarchus labrax* L. 1758) immunoglobulins. Aquaculture Volume 132, Issues 1–2, 15 April 1995, Pages 53–58 [http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)00370-4](http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486(94)00370-4)

(8) Breuil Gilles (1997). Le système immunitaire du bar *Dicentrarchus labrax*. Immunoglobulines, cellules productrices d'immunoglobulines, ontogenèse applications à une pathologie virale néonatale. PhD Thesis, Université de Montpellier II.
<http://archimer.ifremer.fr/doc/00000/1265/>

(9) G. BREUIL, B. VASSILOGLOU, J.F. PEPIN, B. ROMESTAND. Ontogeny of IgM-bearing cells and changes in the immunoglobulin M-like protein level (IgM) during larval stages in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Fish & Shellfish Immunology*, Volume 7, Issue 1, January 1997, Pages 29–43
<http://dx.doi.org/10.1006/fsim.1996.0061>

(10) J.L. COEURDACIER, J.F. PEPIN, C. FAUVELA, P. LEGALL, A.F. BOURMAUD, B. ROMESTAND. Alterations in total protein, IgM and specific antibody activity of male and female sea bass (*Dicentrarchus labrax* L., 1758) sera following injection with killed *Vibrio anguillarum*. *Fish & Shellfish Immunology* Volume 7, Issue 3, April 1997, Pages 151–160
<http://dx.doi.org/10.1006/fsim.1996.0071>

(11) Jean-Luc Cœurdacier, Gilbert Dutto. Effect of chronic exposure to ammonia on alterations of proteins and immunoglobulins in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) serum. *Aquatic Living Resources* Volume 12, Issue 4, July 1999, Pages 247–253
[http://dx.doi.org/10.1016/S0990-7440\(00\)86635-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0990-7440(00)86635-8)

(12) J. Castric, R. Thiéry, J. Jeffroy, P. de Kinkelin, J. C. Raymond. Sea bream *Sparus aurata*, an asymptomatic contagious fish host for nodavirus. *Dis Aquat Org*, Vol. 47: 33–38, 2001
<http://www.int-res.com/articles/dao/47/d047p033.pdf>.

(13) R. Thiéry, C. Arnauld, C. Delsert. Two isolates of sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., nervous necrosis virus with distinct genomes. *Journal of Fish Diseases*, Volume 22, Issue 3, pages 201–207, May 1999
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2761.1999.00164.x>

(14) G. Breuil, B. Romestand. A rapid ELISA method for detecting specific antibody level against nodavirus in the serum of the sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.): application to the screening of spawners in a sea bass hatchery. *Journal of Fish Diseases*, Volume 22, Issue 1, pages 45–52, January 1999
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2761.1999.00136.x/pdf>

(15) Richard Thiery, Jean-Christophe Raymond, Jeannette Castric. Natural outbreak of viral encephalopathy and retinopathy in juvenile sea bass, *Dicentrarchus labrax*: study by nested reverse transcriptase–polymerase chain reaction. *Virus Research*, Volume 63, Issues 1–2, September 1999, Pages 11–17
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168170299000532#>

(16) R. Thiéry, J. Cozien, J., Cabon, F. Lamour, M. Baud, and A. Schneemann. Induction of a Protective Immune Response against Viral Nervous Necrosis in the European Sea Bass *Dicentrarchus labrax* by Using Betanodavirus Virus-Like Particles. *J Virol*. 2006 October; 80(20): 10201–10207.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1617310/>.

(17) Coeurdacier Jean-Luc (2002). Adaptation de la méthode peptide-spot à la recherche de sites, de la protéine RNA2 du nodavirus, reconnus par différents sérums de loup (*Dicentrarchus labrax*).

<http://archimer.ifremer.fr/doc/00157/26810/>

(18) Coeurdacier Jean-Luc, Laporte F, Pepin Jean-Francois (2003). Preliminary approach to find synthetic peptides from nodavirus capsid potentially protective against sea bass viral encephalopathy and retinopathy. *Fish And Shellfish Immunology*, 14(5), 435-447.

<http://dx.doi.org/10.1006/fsim.2002.0449>

(19) Coeurdacier Jean-Luc (1997). La maladie: fatalité ou échec. Séminaire "Poissons", Saint Hilaire de Villefranche, (Saintes), 25-27 novembre 1997.

<http://archimer.ifremer.fr/doc/00160/27110/>

(20) Begout Marie-Laure (2010). Ecologie comportementale des poissons : la relation poisson-environnement dans le fonctionnement des populations. HDR.

<http://archimer.ifremer.fr/doc/00032/14276/>

(21) Sammouth Sophie, Roque D'Orbcastel Emmanuelle, Gasset Eric, Lemarie Gilles, Breuil Gilles, Marino Giovanna, Coeurdacier Jean-Luc, Fivelstad Sveinung, Blancheton Jean-Paul (2009). The effect of density on sea bass (*Dicentrarchus labrax*) performance in a tank-based recirculating system. *Aquacultural Engineering*, 40(2), 72-78.

<http://archimer.ifremer.fr/doc/00000/6761/>

(22) Roque D'Orbcastel Emmanuelle, Lemarie Gilles, Breuil Gilles, Petoichi Tommaso, Marino Giovanna, Triplet Sebastien, Dutto Gilbert, Fivelstad Sveinung, Coeurdacier Jean-Luc, Blancheton Jean-Paul (2010). Effects of rearing density on sea bass (*Dicentrarchus labrax*) biological performance, blood parameters and disease resistance in a flow through system. *Aquatic Living Resources*, 23(1), 109-117.

<http://archimer.ifremer.fr/doc/00002/11287/>

(23) Coeurdacier Jean-Luc, Dutto Gilbert, Gasset Eric, Blancheton Jean-Paul (2011). Is total serum protein a good indicator for welfare in reared sea bass (*Dicentrarchus labrax*)? *Aquatic Living Resources*, 24(2), 121-127.

<http://archimer.ifremer.fr/doc/00043/15382/>

(24) Coeurdacier Jean-Luc (2010). Proteomic approach to investigate alterations, within physiological limits, in serum protein of sea bass (*Dicentrarchus labrax*). How minimizing the footprint of aquaculture and fisheries on the ecosystem?, French-Japanese Symposium, September 1-3 2010, Sète, France.

<http://archimer.ifremer.fr/doc/00133/24459/>