

54

BACTERIES ICTHYOPATHOGENES EN MARICULTURE

M. VIGNEULLE

Laboratoire national de pathologie des animaux aquatiques,
IFREMER, Centre de Brest, B.P. 337, 29273 BREST Cedex (FRANCE)

RÉSUMÉ - La mise en place sur le littoral français de sites d'aquaculture nouvelle de poissons marins (turbot, bar, daurade) et de poissons d'eau douce élevés en mer (saumons, truites) a été suivie par l'apparition d'une pathologie infectieuse d'origine bactérienne. Les maladies observées sont dues à des bactéries spécifiques appartenant à différents groupes : Vibrionaceae pour la vibriose à *Vibrio anguillarum* (type 408) et la furunculose à *Aeromonas salmonicida*; corynébactéries pour la corynébactériose à *Renibacterium salmoninarum*, et entérobactéries pour la yersiniose à *Yersinia ruckeri*. Les manifestations cliniques propres à chaque agent causal sont toujours grandement assujetties aux conditions d'élevage et d'environnement. Les pertes ponctuelles entraînées par ces bactérioses ainsi que leur rémanence dans l'élevage, en font un des facteurs limitant dont l'incidence n'est pas à négliger.

ABSTRACT - A bacterial infectious pathology occurred with the development in marine fish farming of species such as turbot, sea-bass, sea-bream or salmon and trout. The main specific bacteria involved in these diseases observed belong to 3 groups: the Vibrionaceae for *Vibrio anguillarum* (type 408) and *Aeromonas salmonicida*, the causative agents of respectively vibriosis and furunculosis; the Corynebacteriaceae for *Renibacterium salmoninarum*, responsible for bacterial kidney disease (BKD), the Enterobacteriaceae for *Yersinia ruckeri*, the causative agent of enteric redmouth disease. The clinical signs typical of those diseases always depend on the rearing and environmental conditions. The losses resulting from these bacterial diseases and the persistence of the bacteria in the commercial hatcheries may be a barrier to the economical development of a marine fish production.

INTRODUCTION

En pathologie des poissons, dans le domaine infectieux, et plus particulièrement celui de la bactériologie, nous avons affaire à des agents spécifiques. Le but de cet exposé sera de vous présenter les principales bactéries ichtyopathogènes que nous rencontrons actuellement dans les élevages en France. Ces bactéries sont également décrites dans de nombreux pays étrangers. Elles forment de ce fait une entité épidémique qui favorise grandement l'étude et la mise en place de moyens de lutte et de prévention contre ces maladies bactériennes.

En France, outre la pisciculture traditionnelle d'eau douce qui produit truites et saumons pour la consommation, le repeuplement des rivières, ou l'élevage ultérieur en mer, les dix dernières années ont vu se développer une aquaculture dite nouvelle.

Il existe d'une part l'élevage des salmonidés en mer. Après une phase d'élevage en eau douce, les poissons sont transférés en mer dans des cages flottantes où ils sont élevés en captivité. Les deux principales espèces qui font l'objet de ce type d'élevage sont la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri*) et le saumon coho (*Oncorhynchus kisutch*).

Il existe d'autre part l'élevage d'espèces spécifiquement marines qui sont principalement le bar (*Dicentrarchus labrax*) appelé loup dans le sud de la France, le turbot (*Scophthalmus maximus*), la sole (*Solea solea*) et la daurade (*Sparus auratus*). Dans des établissements spécialisés, possédant des structures à terre, se déroulent les différentes phases de l'élevage : ponte, élevage larvaire, prégrossissement, etc...

La mise en place des élevages de poissons a été suivie par l'apparition d'une pathologie infectieuse d'origine bactérienne. Si la liste des bactéries décrites dans le monde comme pathogènes pour les poissons, est nombreuse et regroupe la plupart des genres rencontrés également dans le domaine humain ou vétérinaire, actuellement en France nous en rencontrons plus particulièrement quatre : *Vibrio anguillarum* et *Aeromonas salmonicida* appartenant à la famille des Vibrionacés, *Yersinia ruckeri* à celle des entérobactéries, et *Renibacterium salmoninarum* à celle des corynebactéries.

MISE EN EVIDENCE DE L'AGENT CAUSAL A PARTIR DU POISSON MALADE

Elle est schématisée dans le tableau I. Le prélèvement s'effectue, après autopsie, systématiquement au niveau du rein antérieur, organe hématopoïétique, mais aussi des éventuelles lésions observées, qu'elles soient externes (peau, œil,...) ou internes (foie, rate,...)

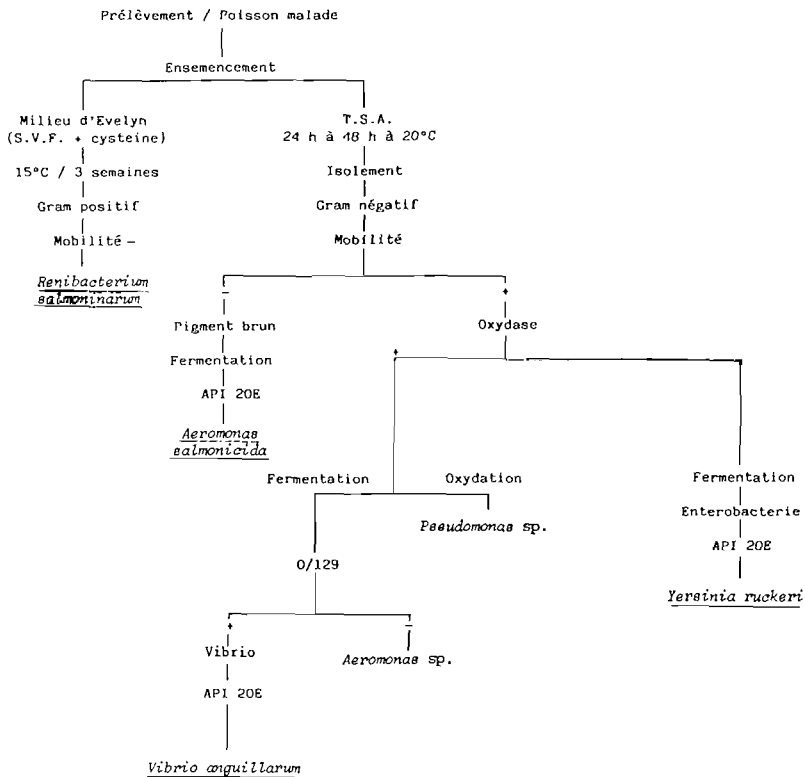


Tableau I : Schéma d'identification simplifiée des bactéries ichthyopathogènes.

En cas d'étiologie bactérienne, on observe le plus souvent en 24 à 48 h, l'apparition d'une culture monospécifique abondante, sur le milieu gélosé. Après isolement, l'utilisation de

certain tests complétée par le profil biochimique obtenu sur galerie API 20 E, permet l'identification de l'agent causal. L'agglutination avec un sérum spécifique complète cette identification pour *Vibrio anguillarum* et *Yersinia ruckeri*.

LES BACTÉRIES ICTHYOPATHOGENES

Famille des vibriionacés

Vibrio anguillarum :

C'est l'agent responsable de la vibriose. Cette maladie est largement répandue dans le monde. Elle est commune à de nombreuses espèces de poissons de mer sauvages (hareng, morue, turbot, sole, lieu), ainsi qu'à des poissons de mer en élevage dont les salmonidés, parmi lesquels la plupart des saumons et des truites. Essentiellement une maladie des poissons en mer, elle peut atteindre exceptionnellement les poissons d'eau douce, comme le brochet ou la truite, à condition qu'ils aient eu un contact soit par l'alimentation soit par le milieu avec des poissons de mer infectés.

Le *vibrio anguillarum* est un bâtonnet gram-, légèrement incurvé, mobile grâce à un cil polaire. C'est un halophile obligatoire : NaCl 0,1 % minimum, 8 % maximum (Evelyn 1971). Il cultive bien sur gélose trypticase soja légèrement salée. Nous utilisons au laboratoire une gélose à 1,5 % de NaCl. L'existence de caractères variables parmi les *Vibrio anguillarum* isolés de poissons malades a conduit à distinguer deux biotypes : le biotype I et le biotype II (tab. 2). A la température de 22°C, en 24 à 48 h, les souches du biotype I prennent un aspect circulaire brun jaunâtre opaque, avec une dimension de 3 à 5 mm de diamètre. Par contre, les souches du biotype II sont à peine visibles en 48 h, et deviennent circulaires, blancs translucides en 4 à 6 jours, avec une taille de 1 à 2 mm de diamètre (Schiewe, 1981).

Le biotype II comprend des espèces pathogènes atypiques, comme le vibrio 1669 américain, de localisation restreinte (côte ouest des États-Unis et Japon). La dénomination de *Vibrio ordalii* a été proposée pour ce biotype, le terme *Vibrio anguillarum* restant attribué au biotype I (Schiewe et coll. 1981).

Le biotype I correspond aux vibrios *anguillarum* très pathogènes (de répartition géographique vaste), auxquels appartient la souche 408 isolée en France en 1977 sur des truites arc-en-ciel malades élevées en mer. Depuis lors, ce vibrio 408 a été responsable de la totalité des mortalités par vibriose dans les élevages de salmonidés en mer, mais également d'autres espèces comme le turbot. Nous avons démontré la sensibilité de la sole et du bar en élevage.

Il présente les caractères communs aux vibrio, oxydase +, métabolisme fermentatif agazogène, sensibilité au composé vibriostatique 0.129 (2,4 diamino 6,7 di-isopropyl ptéridine). Le biotype I a en commun par rapport au biotype II l'utilisation du sorbitol et de l'arabinose. La souche 408 ne se différencie au sein du biotype I de la souche 775 américaine que par la production d'indole.

Il est à noter que parmi les centaines de souches de vibrio isolées au laboratoire sur des poissons malades (dont les profils biochimiques de quatre d'entre elles se trouvent dans le tableau 2.), mais en quantité moindre et pas toujours au niveau du rein antérieur, seule cette souche s'est révélée pathogène. L'inoculation des autres souches à des poissons sains, n'a pas permis de leur attribuer un rôle pathogène dans les conditions expérimentales.

Le *Vibrio anguillarum* appartiendrait à la flore normale des poissons élevés ou sauvages, mais serait également présent dans l'eau de mer ou l'eau saumâtre, permettant ainsi la transmission. Des études de survie dans différents milieux montre que la résistance est

proportionnelle à la salinité, et inversement proportionnelle à la température (Hastein 1975).

Septicémie hémorragique, la vibriose, en fonction des conditions d'environnement et de la réceptivité de l'hôte, peut revêtir différentes formes, caractérisées par des zones hémorragiques externes avec ulcérations locales.

Par les mortalités parfois très importantes, 50 % ou plus qu'elle entraîne, la vibriose se place comme le principal problème de pathologie infectieuse des élevages en mer.

	VIBRIO ANGUILLARUM							<i>Aeromonas Salmonicida</i>	<i>Yersinia Ruckeri</i>
	PATHOGENES			NON PATHOGENES					
	Biotype I		II	FRANCE					
	USA	F	USA						
	775	408	1669	209	138	1032	1410		
Réduction nitrates	+	+	—	+	+	+	+	+	+
ONPG Test	+	+	—	—	+	—	+	—	+
Hydrolyse arginine	+	+	—	+	+	—	—	+	—
Lysine decarb.	—	—	—	—	—	—	+	—	+
Ornithine decarb.	—	—	—	—	—	—	+	—	+
Assimilation citrate	+	+	+	+	+	—	+	+	+
H ₂ S	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Activité uréase	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Tryptoph. Desam.	+	+	—	—	—	+	+	—	—
Production d'indole	—	+	—	+	+	+	—	—	—
V.P. Test	+	+	—	+	+	+	+	+	+
Liquefaction gélatine	+	+	+	+	+	—	—	+	+
Utilisation de :									
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannitol	+	+	+	+	+	—	+	+	+
Inositol	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Sorbitol	+	+	—	—	—	—	—	—	—
Rhamnose	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Saccharose	+	+	+	—	—	+	+	—	—
Melibiose	—	—	—	+	—	—	—	—	—
Amygdaline	+	+	+	+	+	—	—	+	—
Arabinose	+	+	—	—	—	—	—	—	—

Tableau 2 : Caractères biochimiques de quelques souches de bactéries gram négatif/ Api 20 E.

Aeromonas salmonicida

C'est l'agent de la furunculose. Bien que certaines souches achromogènes d'*Aeromonas salmonicida* aient été décrites, il s'agit d'un groupe homogène (Popoff, 1969) dont les principaux caractères sont résumés dans le tableau II. C'est un cocobacille, gram négatif, immobile. La production d'un pigment brun, soluble dans l'eau, si la tyrosine est présente dans le milieu de culture, est typique d'*Aeromonas salmonicida*, mais peut être inhibée si d'autres colonies sont présentes dans le milieu. Il se cultive bien à 20-22°C, lentement à 4°C, mais pas à 37°C. En 48 h, sur gélose trypticase soja, incubée à 20°C, les colonies ont un diamètre de 1 à 2 mm.

Aeromonas salmonicida est un bacille pathogène obligatoire, capable de survie dans le milieu : 17 jours en eau douce, 24 jours en eau saumâtre, 30 jours dans les cadavres et les bassins d'élevage. (Mac Carthy, 1977 b). Expérimentalement à 4°C une survie de 32 mois dans les sédiments et les végétaux a été démontrée (Dubois-Darnaupreys, 1976).

La furonculose est essentiellement une maladie des salmonidés d'élevage, mais elle a été également mise en évidence chez les poissons d'eau douce, brochet, carpe.

La maladie peut revêtir différentes formes, dont une forme chronique caractérisée par des tuméfactions sanguinolentes sur les flancs, appelées improprement furoncles d'où le nom de la maladie, qui peuvent s'ulcérer et mettre à nu de profondes cavités dans les muscles. Mais il existe aussi une forme latente pour laquelle on observe ni lésions, ni mortalités. Les poissons sont infectés latents, jusqu'à 40 à 80 % de la population (Mac Carthy, 1977a). Cette forme latente est insidieuse car il n'est pas possible d'isoler alors la bactérie. Par contre, à la suite de stress de tous ordres, comme le passage de smolts porteurs sains en mer par exemple, la furonculose se déclare au bout de quelques jours.

Problème pathologique majeur en pisciculture d'eau douce, la furonculose reste secondaire en aquaculture marine. Elle nécessite toutefois une grande vigilance dans l'introduction d'animaux sur un site, dans la mesure où la vaccination n'est pas encore très efficace et que la plupart des souches que nous isolons sont plurirésistantes aux antibiotiques, notamment au chloramphénicol largement utilisé jusqu'à présent.

Famille des Entérobactéries : *Yersinia ruckeri*

Parmi les bactéries gram négatif, une nouvelle bactérie pathogène est apparue en France il y a deux ans. Elle appartient à la famille des entérobactéries. Il s'agit de *Yersinia ruckeri*, qui provoque une entérosepticémie hémorragique, la Yersiniose ou maladie de la bouche rouge.

C'est un bacille gram négatif, mobile entre 18 et 27°C, grâce à des flagelles péritriches. A l'état frais, il se présente isolé ou en courtes chaînes. Il se cultive bien en 24 h sur de nombreux milieux dont le TSA, sur lequel il donne des colonies translucides convexes de 1 à 2 mm de diamètre. Il tolère des salinités de 0 à 3 ‰. Sa température optimale de croissance se situe entre 20 et 25°C, les extrêmes étant 9°C et 37°C.

Il y a un seul biotype, oxydase -, fermentant le glucose dont le profil biochimique sur Api 20 E se trouve dans le tableau II.

Parmi les souches isolées dans le monde, on a défini trois sérotypes (Busch, 1982) :

Le sérotype I, le plus fréquent, le plus pathogène, a été isolé de cas cliniques. Il ne pousse pas à 37°C.

Le sérotype II est moins pathogène, il provient de cas asymptomatiques et pousse à 37°C. Le sérotype III isolé en Australie, et localisé à ce pays, est avirulent.

Les souches isolées en France appartiennent au sérotype I.

Cependant, l'hétérogénéité biochimique et sérologique des souches étudiées jusqu'à présent, laisse présager une modification de ce classement initial en trois sérotypes (Stevenson et Daly 1982).

La Yersiniose entraîne l'apparition de lésions hémorragiques dont la localisation à la tête et à la bouche est typique, d'où la dénomination de maladie de la bouche rouge.

Localisée pour l'instant aux élevages de truites en eau douce, où son incidence et son extension géographique très rapide en font l'un des problèmes pathologiques essentiels, la Yersiniose a été isolée sporadiquement dans un élevage de turbots. Nous avons démontré au laboratoire le pouvoir pathogène de *Yersinia ruckeri* pour d'autres espèces de poissons

marins d'élevage, le bar, la sole et la daurade, ainsi que pour la truite élevée en mer.

La présence d'un nombre non négligeable de truites porteurs sains à la suite de flambée épidémique, dont le passage en mer pourrait favoriser l'expression de la maladie, ainsi que la sensibilité des autres espèces, font de *Yersinia ruckeri* une bactérie potentiellement pathogène en aquaculture marine.

Famille des Corynébactéries : *Renibacterium salmoninarum*

Parmi les Gram positifs, une bactérie est pathogène pour les poissons, une corynébactérie agent de la corynébactériose ou maladie bactérienne du rein.

C'est un cocobacille, immobile, non capsulé, non sporulé. En culture, et dans les lésions, il se présente groupé par deux ou plus. On observe parfois des associations bactériennes ressemblant au groupement en palissade, caractéristique du genre corynebacterium. Il ne se cultive pas sur milieu usuel. Les deux facteurs limitants de sa culture sont la cystéine et le sérum. Nous employons le milieu d'Evelyn qui comprend 0,1 % de L. cystéine, et qui est supplémenté avec 10 % de sérum de veau fœtal (Evelyn, 1978). En milieu gélosé, les colonies ne sont visibles qu'après 10 à 15 jours d'incubation, qu'après 1 mois si l'inoculum de départ contient peu de germes. Elles sont petites, leur diamètre est inférieur à 1 mm, blanchâtre, bombées et légèrement brillantes. En milieu liquide les bactéries précipitent, elles s'agglutinent autour de cristaux de cystéine. La température optimum de culture est de 15°C. Les températures extrêmes sont 5 et 25°C. Il n'y a pas de culture à 37°C.

L'étude de la composition biochimique de l'ADN et de la paroi faite par Sanders et Fryer (1980), montre que, quoiqu'elles appartiennent au genre corynebacterium, les souches ichtyopathogènes sont différentes de celles rencontrées au cours des infections humaines et animales. Vu leur prédilection pour les salmonidés et leur affinité pour le rein, ils ont proposé la dénomination de *Renibacterium salmoninarum*.

La corynébactériose est mise en évidence par l'observation de bactéries en grand nombre sur des frottis ou des calques d'organes de poissons malades colorés au gram.

Les principales modifications lésionnelles qu'elle entraîne sont une hypertrophie du rein postérieur accompagnée souvent d'ascite abdominale, d'abcès et de fausses membranes sur les principaux organes internes.

La Corynébactériose n'affecte que les salmonidés. En France, son apparition en 1974 a suivi de quelques années l'importation d'œufs de saumons coho. Elle existe maintenant à l'état chronique dans l'ensemble de leurs élevages, mais aussi de façon occasionnelle chez la truite arc-en-ciel. (Vigneulle, 1981). Son expression en mer n'est que le prolongement de sa présence en eau douce.

CONCLUSION

La pathologie infectieuse d'origine bactérienne est représentée actuellement en aquaculture par quatre maladies principales :

- Il y a d'une part la Vibriose à *Vibrio anguillarum*, type 408, presque exclusivement rencontrée dans les élevages marins où elle représente le problème pathologique infectieux majeur.

- Il y a d'autre part la furunculose à *Aeromonas salmonicida*, la Yersiniose à *Yersinia ruckeri*, et la Corynébactériose à *Renibacterium salmoninarum*, qui proviennent de l'eau douce, et qui, par l'intermédiaire de transfert en mer d'animaux porteurs, se déclarent alors sur le site d'élevage. Ces maladies n'ont qu'une incidence secondaire.

La constance biochimique des bactéries spécifiques à l'origine de ces maladies, a permis,

dans la mesure où elles sont immunogènes, de mettre au point des vaccins. Il existe deux vaccins, un contre la vibriose et l'autre contre la yersiniose.

Chez les poissons, l'expression clinique et l'incidence des maladies bactériennes sont dues, non seulement au pouvoir pathogène de l'agent causal, mais surtout aux conditions d'environnement (température, salinité,...) et d'élevage (stress) ; on peut donc envisager que la diversification des élevages et l'intensification de la production fassent apparaître une pathologie bactérienne nouvelle car toutes les bactéries présentes dans le milieu sont potentiellement pathogènes.

BUSCH R.A., 1982. Enteric redmouth disease (*Yersinia ruckeri*), Antigens of fish pathogens: development and production for vaccines and serodiagnostics. *Symp. int. Talloire*, 10-12 mai 1984, 201-223.

DUBOIS-DARNAI-PREYS A., 1976. Contribution à l'épidémiologie de la furonculose des salmonidés. Devenir de *Aeromonas salmonicida* dans le milieu dulçaquicole. *Thèse doctorat 3^e cycle*, Univ. P. et M. Curie, Paris, 155 p.

EVELYN I.P.T., 1971. First recrd of vibriosis in Pacific salmon cultured in Canada, and taxonomic status of the responsible bacterium, *Vibrio anguillarum*. *J. Fish. Res. Board can.* 28, 517-525.

EVELYN T.P.T., 1978. Sensitivities of bacterial kidney disease detection methods with special remarks on the culture method. *Proc. Joint 3rd biennial fish Health Section and 9th annual midwest fish disease workshops*, Kansas City, 15-18 août 1978, 15-16.

HASTEIN T., 1975. Vibriosis in fish: a clinical, pathological and bacteriological study of the disease in Norwegian fish farms. *PhD Thesis, University of Stirling (Unit of Aquatic Pathobiology)*, 196 p.

Mc CARTHY D.H., 1977 a. Present status of *Aeromonas* infections. *Proc. int. symp. on Diseases of cultured salmonids*, 4-6 avril 1977, Seattle (USA), 182.

Mc CARTHY D.H., 1977 b. Some ecological aspects of the bacterial fish pathogen, *Aeromonas salmonicida*. *Aquatic microbiology. SAB Sympos.*, 6, 299-324,

POPOFF M., 1979. Etude sur les *Aeromonas salmonicida*. I. Caractères biochimiques et antigéniques. *Rech. Vet.*, 3, 49-57.

SANDERS J.E., FRYER J.L., 1980. *Renibacterium salmoninarum* gen. nov. sp., the causative agent of bacterial kidney disease in salmonid fishes. *Int. J. Syst. bact.*, 30 (2), 496-502.

SCHIEWE M.H., 1981. Taxonomic status of marine vibrios pathogenic for salmonid fish. *Int. Symp. on Fish biologics: serodiagnostics and vaccines, Levtown (USA), Dev. biol. Standard*, 49, 149-158.

SCHIEWE M.H., TRUST J., CROSA J.H., 1981. *Vibrio ordalii* sp. nov., a causative agent of vibriosis in fish. *Curr. Microbiol.* 6, 343-348.

STEVENSON R.M.W., DALY J.G. 1982. Biochemical and serological characteristics of Ontario isolates of *Yersinia ruckeri*. *Can. J. Aquat. Sci.*, 39, 870-876.

VIGNEULLE M., 1981. Contribution à l'étude de la corynébactériose des salmonidés en France. *Thèse Doctorat Vétérinaire, Alfort*, 128 p.