

Bull. Acad. Vét. de France, 1989, 62, 147-157

**La myxobactériose viscérale de la truite arc-en-ciel
Salmo gairdneri R : une forme nouvelle
de la maladie de l'eau froide à
*Cytophaga psychrophila***

par F. BAUDIN-LAURENCIN, J.-C. CASTRIC, M. VIGNEULLE
et G. TIXERANT *

RÉSUMÉ

Une forme nouvelle de la myxobactériose d'eau froide est apparue en France au cours de ces dernières années chez les alevins et les truitelles arc-en-ciel. L'agent responsable est *Cytophaga psychrophila*, qui ne sévissait jusqu'ici qu'en Amérique du Nord chez les salmonidés juvéniles, provoquant surtout des lésions ulcératives cutanées. En France, au contraire, les lésions causées par la bactérie sont essentiellement viscérales. L'infection clinique est observée en saison froide, et assez souvent associée à d'autres pathologies. Le diagnostic repose essentiellement sur la mise en évidence et la caractérisation de la bactérie responsable. La maladie a été transmise expérimentalement et les essais en laboratoire ont montré l'efficacité thérapeutique du chloramphénicol et de l'oxytétracycline.

Mots clés : Truite arc-en-ciel - Myxobactériose - *Cytophaga psychrophila* - Epidémiologie - Diagnostic - Traitement.

SUMMARY

**VISCERAL MYXOBACTERIOSIS IN THE RAINBOW TROUT,
SALMO GAIRDNERI R. : A NEW CLINICAL FORM OF THE
CYTOPHAGA PSYCHROPHILA COLD WATER DISEASE**

A new form of the cold water myxobacteriosis in rainbow trout fry and fingerlings appeared in France during the last years. So far, the aetiological agent has been *Cytophaga psychrophila*, a myxobacteria occurring on juveniles of salmonids of North America and mostly inducing

* Centre National d'Etudes Vétérinaires et Alimentaires, Laboratoire de Pathologie des Animaux Aquatiques, B.P. 70 29263 Plouzané.

cutaneous ulcerative lesions. On the opposite, lesions observed in France have essentially been detected on internal organs. The clinical infection is prevalent during the cold season and is often associated with other pathogens. Diagnosis is mainly made on isolation and characterization of aetiological bacteria. The disease was experimentally transmitted. Trials in laboratory have also demonstrated the therapeutic efficiency of chloramphenicol and oxytetracycline.

Key words : Rainbow trout - Myxobacteriosis *Cytophaga psychrophila*
Epidemiology - Diagnosis - Treatment.

En mars 1984, des alevins de truite arc-en-ciel élevés dans trois piscicultures bretonnes différentes sont amenés au laboratoire pour examen. Ils présentent tous et depuis quelques jours ou semaines une mortalité chronique de l'ordre de un pour mille par jour. Sans lésion ulcérate cutanée, ils montrent un gonflement abdominal et une exophthalmie plus ou moins prononcée. L'hypertrophie de la rate est, à l'autopsie, le caractère dominant. L'examen microscopique de cet organe permet l'observation de bactéries filamenteuses très semblables aux myxobactéries pathogènes souvent rencontrées chez le poisson sur des lésions cutanées ou branchiales, la localisation uniquement interne de ces bactéries constituant un fait nouveau.

Aucune pathologie similaire n'est observée par la suite en 1984 et 1985. Au contraire, 15 cas semblables sont relevés, aussi bien en 1986 qu'en 1987 et 21 cas en 1988. Sur ces trois années, les mêmes aspects pathologiques sont notés dans la quasi-totalité des trutticultures bretonnes (35/38) dans lesquelles le laboratoire est intervenu lors de mortalités chez les juvéniles. Dans le même temps, la maladie est signalée dans d'autres régions de France : Aquitaine (VUILLAUME *et al*, 1988), Centre, Picardie (BERNARDET *et al*, 1988).

I. BACTÉRIOLOGIE

Les bactéries observées dans les calques de divers tissus, à l'état frais ou après coloration sont allongées, mesurent environ $0,2 \times 5 \mu\text{m}$, apparaissent immobiles et sont Gram négatif. Le fait qu'elles ne se développent pas sur agar trypticase-soja, mais difficilement à 20 °C sur gélose cytophaga (ANACKER *et al*, 1959) en produisant des colonies jaunes, les fait assimiler au groupe des myxobactéries. L'enrichissement du milieu en sérum de veau permet un développement bactérien plus régulier facilitant les repiquages, comptages et antibiogrammes ainsi que l'obtention de suspensions bactériennes suffisantes pour mettre en œuvre des contaminations expérimentales ou l'immunisation de lapins pour la fabrication d'anticorps.

Treize souches provenant d'élevages différents sont repiquées et conservées au L.P.A.A. Les antibiogrammes effectués montrent une grande

homogénéité : résistance aux quinolones et au triméthoprim-sulfadiazine ; sensibilité aux autres antibactériens usuels en pisciculture, furoxone, chloramphénicol, oxytétracycline et au composé vibrostatique 0/129.

L'utilisation de la microgalerie A.P.I. 20 E à 20 °C (technique couramment employée pour la reconnaissance des bactéries septicémiques des poissons) ne permet pas la mise en évidence de caractère positif. BERNARDET (BERNARDET *et al*, 1987), par hybridation des A.D.N., identifie les souches obtenues à *Cytophaga psychrophila*, myxobactérie à l'origine de lésions essentiellement externes chez les salmonidés d'Amérique du Nord. Cet auteur note aussi (comm. pers.) que la bactérie est nitrate, H₂S, oxydase et catalase positifs (très faiblement pour ces deux derniers), qu'elle dégrade la tyrosine, que sa température maximale de croissance est de 22 °C. D'autre part, les colonies ne se colorent pas au rouge Congo mais ont une réaction positive à la potasse révélant la présence de flexirubine. L'identité du germe en cause et sa localisation ont conduit à utiliser pour cette maladie le terme de myxobactériose viscérale (M.V.).

II. EPIDÉMIOLOGIE

Epoques d'apparition de la maladie

Le cumul mensuel des cas recensés au laboratoire entre 1984 et 1988 permet d'établir l'histogramme de la figure 1 et d'illustrer la nette prédominance de la maladie au cours du premier semestre, et notamment de janvier à mai.

Age - Poids

Les poissons sont affectés au cours de leur première année. Les éclosions s'effectuant essentiellement en début d'hiver, il s'agit souvent de jeunes alevins ayant à peine résorbé leur vésicule vitelline et pesant de 0,2 à 0,5 g. En mai-juin, âgés de quelques mois, ils peuvent peser jusqu'à 10 et même 20 g (figure 2).

Température de l'eau

Les températures minimales quotidiennes varient de 5 °C dans les mois d'hiver à 12 et même 14 °C d'avril à juin. L'ensoleillement peut cependant permettre des valeurs très supérieures : 8 à 12 °C en hiver et jusqu'à 16 °C en début d'été.

Importance de la maladie

Entre 1986 et 1988, et sans compter évidemment les examens répétés sur une même population, 51 cas sont recensés au L.P.A.A. La M.V. est observée 2 fois dans treize élevages et 3 fois dans trois élevages.

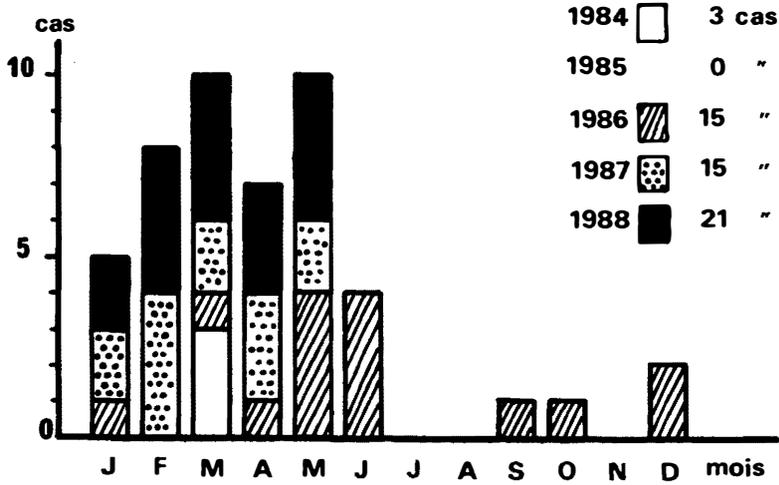


Figure 1
Répartition par mois des cas de M.V. observés en Bretagne.

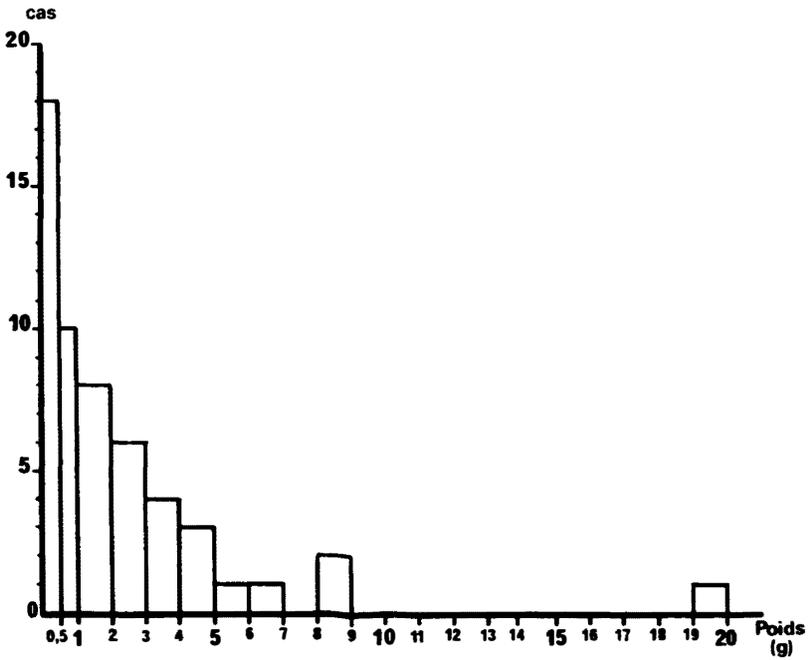


Figure 2
Répartition des cas de M.V. observés, selon le poids moyen des poissons.

Sur une même population, la M.V. peut être observée en même temps que d'autres maladies. Le tableau I montre que la M.V. n'apparaît seule que dans 57 % des cas et qu'elle est souvent associée à la nécrose pancréatique infectieuse (27 %). Au total, la M.V. est diagnostiquée dans presque 40 % des cas pathologiques observés sur alevins et truitelles.

La mortalité reste souvent basse, de l'ordre de 1‰ par jour, parfois moins ; elle peut cependant être nettement plus élevée, de l'ordre de 1 % par jour, en particulier quand il y a association avec d'autres pathologies. La maladie peut se prolonger plusieurs semaines ou plusieurs mois et la perte totale peut alors atteindre plus de 50 % de la population d'origine.

Maladies	Cas observés	En % des cas de MV	En % des diagnostics effectués
MV seule	29	57	
MV + NPI	14	27	
MV + autre maladie	8	16	
Total MV	51	100	40
NPI associée ou non à MV ou autre maladie	44		34
Autres maladies associées ou non à MV ou NPI	78		60
Total Diagnostics Effectués	129		

TABLEAU I

Diagnostics effectués en Bretagne sur alevins et truitelles, de 1986 à 1988 (le total en pourcentage des diagnostics effectués est supérieur à 100 en raison des associations étiologiques).

III. SYMPTOMATOLOGIE ET LÉSIONS

Comme il est de règle dans les maladies à manifestation chronique, seul un faible pourcentage d'individus présente en même temps les signes de la maladie. L'ensemble de la population, au début tout au moins, se nourrit normalement. Les poissons atteints sont au contraire anorexiques. Asthéniques, ils sont rassemblés en aval des bassins et ont souvent un comportement anormal (nage en vrille). Ils montrent

généralement un ballonnement abdominal, une exophtalmie, un léger mélanisme. Des lésions de la peau ou des nageoires existent dans certains des cas observés. Elles sont souvent dues à un parasitisme externe associé (protozoaires ou helminthes), mais des myxobactéries peuvent être également présentes à ce niveau.

A l'autopsie, la rate est généralement grisâtre, très fortement hypertrophiée et la pâleur des branchies, du foie, des reins indique une certaine anémie. De l'ascite et la présence de liquide dans l'estomac sont assez fréquemment observés.

Le tableau histopathologique est essentiellement celui d'une péritonite sérofibrineuse. La réaction congestive et œdémateuse de la séreuse splénique est particulièrement intense et les myxobactéries sont abondantes à ce niveau. Elles sont également nombreuses dans les reliquats vitellins quand la résorption n'est pas complète.

IV. DIAGNOSTIC

Il s'appuie d'abord sur l'épidémiologie et les signes cliniques déjà évoqués. L'observation au microscope, à l'état frais, ou après coloration de Gram, de bactéries correspondant morphologiquement au type décrit plus haut entraîne une forte présomption. Le développement, inhibé à plus de 22 °C, des colonies caractéristiques sur gélose cytophaga et enfin l'agglutination rapide sur lame par le sérum anti permettent en pratique de confirmer le diagnostic.

La participation d'une pathologie associée doit cependant être systématiquement recherchée. La nécrose pancréatique infectieuse sera mise en évidence par les techniques virologiques et histologiques ; la recherche microscopique extemporanée permettra de détecter un parasitisme ; les techniques bactériologiques habituelles en pathologie pisciaire devront être systématiquement utilisées pour rechercher une éventuelle septicémie à *Aeromonas salmonicida* ou à *Yersinia ruckeri* ; l'observation histopathologique pourra permettre d'apprécier la participation éventuelle de facteurs nutritionnels ou liés à l'environnement. Il faudra enfin s'assurer de l'identité des myxobactéries éventuellement observées sur les lésions cutanées ou branchiales : *Flexibacter columnaris*, surtout à partir de 13-14 °C, peut être à l'origine de telles affections et induire secondairement une forme septicémique.

V. PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE — ESSAIS THÉRAPEUTIQUES

V.I. CONTAMINATION EXPÉRIMENTALE

Elle est pratiquée sur quatre lots de vingt alevins de 1 g éclos au laboratoire, issus de géniteurs indemnes de N.P.I. et d'œufs traités

aux iodophores lors de la fécondation. Trois lots sont contaminés par inoculation intrapéritonéale de 0,05 ml d'une suspension virulente : primitive à $1,9 \times 10^9$ bactéries/ml (lot 1) et dilution au 1/10 (lot 2) et au 1/100 (lot 3). Un quatrième lot est immergé 30 minutes dans 500 ml d'eau contenant 20 ml de la suspension primitive : concentration finale : $7,6 \times 10^7$ bact./ml. La figure 3 illustre la mortalité cumulée dans chacun des quatre lots. L'expérience est arrêtée au 15^e jour pour le lot inoculé avec la suspension au 1/10 (lot 2) ; trois poissons sur les sept survivants sont alors porteurs de myxobactéries. Les autres lots sont suivies jusqu'au 25^e jour. Aucun germe n'est alors mis en évidence chez les survivants. Dans le lot bain (lot 4), un seul poisson meurt (22^e jour) avec présence de myxobactéries sur les viscères.

Les individus atteints présentent des lésions tout à fait semblables à celles décrites pour la maladie naturelle.

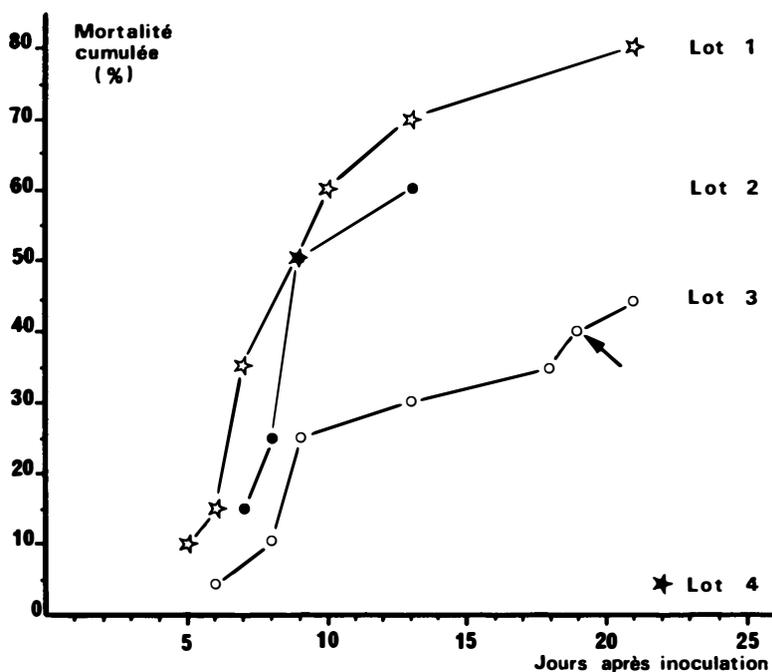


Figure 3

Mortalité cumulée après contamination expérimentale. Des myxobactéries sont mises en évidence chez tous les poissons morts à l'exception d'un seul du lot n° 3 (flèche).

V.II. ESSAIS THÉRAPEUTIQUES

• *Essai A* : 840 truitelles de 3,5 g produites au laboratoire et indemnes de N.P.I. sont contaminées par injection intrapéritonéale de 0,05 ml d'une suspension virulente ($7,2 \times 10^7$ bact./ml). Les poissons sont ensuite répartis dans 28 bassins de 10 litres alimentés en eau douce (débit : 10 l/h par bassin) et de température comprise entre 10 et 13° C. Sept lots de 4 bassins (4 répétitions) sont alors constitués. Chaque lot, mis à part un lot témoin, reçoit dès le lendemain et pendant 12 jours dans l'aliment, aux doses indiquées, un des antibiotiques suivants :

Oxytétracycline chlorhydrate (Oxy.)	0,1 g/kg de poids vif
Erythromycine thiocyanate (Ery.)	0,1 g/kg de poids vif
Furazolidone (Fur.)	0,1 g/kg de poids vif
Chloramphénicol base (Chl.)	0,1 g/kg de poids vif
Flumequine (Flu.)	0,012 g/kg de poids vif
Acide oxolinique (A. ox.)	0,012 g/kg de poids vif

• *Essai B* : Dans le même temps, 540 truitelles de 1,5 g en provenance d'une pisciculture atteinte de la maladie naturelle et présentant une assez forte mortalité sont distribuées en six lots de trois bassins (trois répétitions). Chaque lot reçoit pendant également 12 jours, l'un des aliments médicamenteux présentés ci-dessus, à l'exception de l'acide oxolinique.

Dans les deux essais, les poissons sont nourris avec un granulé industriel pour truites distribué à la dose de 3 % du poids vif.

Les aliments médicamenteux conservés en chambre froide sont préparés en quantité suffisante en début d'expérience par imbibition du granulé avec des suspensions *ad hoc* des différents antibactériens.

Les mortalités moyennes sont estimées et comparées selon les méthodes statistiques habituelles (analyse de variance, test de Kramer) : mortalité après six jours de traitement, mortalité entre le 6^e et le 12^e jour, mortalité totale en fin d'expérience (12 jours dans l'essai A, 24 jours dans l'essai B).

Les résultats sont résumés dans les tableaux II et III.

Dans l'essai A, et par rapport aux témoins, la mortalité totale après 12 jours de traitement est significativement moins élevée dans les lots recevant le chloramphénicol ou la terramycine. L'efficacité du chloramphénicol est cependant significativement plus importante et apparaît déjà dans les six premiers jours.

Dans l'essai B, l'effet de la terramycine est comparable à celui du chloramphénicol, mais apparaît plus tardivement, entre le 6^e et le 12^e jour.

Traitement	Chl.	Oxy.	Ery.	A.ox.	Flu.	Fur.	Témoïn
Mortalité après 6 jours de traitement	28,6 a	46,8 ab	50,4 ab	58,1 ab	52,7 b	58,5 b	61,2 b
Mortalité entre le 6ème et le 12ème jour	9,3 a	22,0 ab	33,9 ab	25,0 ab	49,1 b	46,9 b	47,5 b
Mortalité totale cumulée	32,2 a	58,6 b	67,3 bc	68,6 bc	75,9 bc	78,0 bc	79,6 c

TABLEAU II

Mortalités lors de l'essai A. Traitement après contamination expérimentale.
Sur une même ligne, les lettres indiquent s'il y a ou non
différence significative ($P = 0,05$).

Traitement	Chl.	Oxy.	Ery.	Flu.	Fur.	Témoïn
Mortalité après 6 jours de traitement	14,7 a	14,5 a	19,3 a	15,7 a	17,4 a	16,6 a
Mortalité entre le 6ème et le 12ème jour	6,3 a	4,5 a	12,4 ab	14,0 abc	26,8 c	18,4 bc
Mortalité totale cumulée	21,3 a	22,4 ab	31,4 abc	35,9 abc	49,6 c	42,7 bc

TABLEAU III

Mortalités lors de l'essai B. Traitement de la maladie naturelle.
Sur une même ligne, les lettres indiquent s'il y a ou non
différence significative ($P = 0,05$).

VI. DISCUSSION

Cytophaga psychrophila (BORG, 1960) est l'agent de la « maladie de l'eau froide » (Coldwater disease). Celle-ci affecte les salmonidés quand l'eau est à une température inférieure à 10 °C et régresse en dessus de 13 °C (PACHA, 1968). Chez la truite, les lésions sont classiquement cutanées et interviennent d'abord au niveau de la nageoire adipeuse pour s'étendre à l'ensemble du pédoncule caudal, la maladie prenant alors le nom de « maladie du pédoncule » (Peduncle disease, DAVIS, 1946). Les lésions peuvent être profondes, avec forte nécrose musculaire et permettre une septicémie secondaire. Chez les saumons

du Pacifique *Oncorhynchus* sp., les lésions sont au contraire localisées au niveau de la bouche et des branchies, mais des concentrations bactériennes importantes peuvent être également observées dans divers organes, rein, cœur, péritoine, rate (WOOD & YASUTAKE, 1956). Bien que *C. psychrophila* soit présent dans des rivières anglaises (AUSTIN & AUSTIN, 1987), les pathologies qui lui sont liées n'ont jusqu'ici été décrites qu'en Amérique du Nord. L'observation de la bactérie et de son expression clinique en France chez la truite arc-en-ciel constitue donc un fait nouveau. Il est possible cependant que la bactérie ne soit pas d'introduction récente : l'identification des myxobactéries n'était pas jusqu'ici couramment effectuée dans les laboratoires spécialisés en ichthyopathologie et les alevins de moins d'1 g n'étaient pas systématiquement autopsiés ! Après la mise en évidence des premiers cas en 1984, le fait que la M.V. n'ait pas été observée jusqu'en 1986 signifie bien, cependant, qu'elle ne s'est pas ou peu manifestée. Depuis 1986 au contraire, la myxobactériose viscérale semble prendre en Bretagne, un caractère endémique. Quoique l'on considère que la transmission de la maladie s'effectue généralement de façon horizontale, la transmission verticale a également été suspectée chez le coho (WOOD, 1968). Il serait alors possible que l'élevage récent du saumon coho en Europe soit comme pour d'autres maladies (rénibactériose, yersiniose, nécrose hématopoïétique infectieuse), incriminé. *C. Psychrophila* aurait pu être introduit avec des œufs importés d'Amérique du Nord ou, plus simplement, la sensibilité particulière du coho à la bactérie révélerait un germe qui ne se manifestait jusqu'ici qu'à bas bruit.

En Amérique du Nord, la sulfaméthazine a longtemps été utilisée dans le traitement de la « maladie de l'eau froide ». Compte-tenu de l'aspect endémique de la maladie chez le saumon, l'administration de l'antibactérien était systématique et prolongée (BULLOCK *et al.*, 1971). Les sulfamides ont également été utilisés (AMEND *et al.*, 1965), ainsi que l'oxytétracycline (WINTON *et al.*, 1983). Compte tenu des résistances acquises de différents germes, et aussi par habitude, les sulfamides ne sont plus actuellement utilisés en France en thérapeutique pisciaire et les essais décrits plus hauts ont concerné les antibactériens les plus couramment employés à l'heure actuelle. L'efficacité du chloramphénicol et de l'oxytétracycline dans le traitement de la M.V. a ainsi été mise en évidence. Il faut remarquer que les résultats positifs ont été obtenus à des températures (entre 10 et 12 °C) déjà moins favorables au développement de *C. psychrophila*, avec une posologie forte et un traitement prolongé. La simplicité du diagnostic présomptif devrait permettre d'intervenir précocement et donc avec de meilleures chances de réussite.

La vaccination est actuellement à l'étude au L.P.A.A., mais dans l'immédiat, des mesures sanitaires doivent permettre de limiter les effets de la maladie : diminution des densités d'élevage, désinfection des bassins, désinfection des œufs par les iodophores pour empêcher une éventuelle transmission verticale.

BIBLIOGRAPHIE

- AMEND (D.F.), FRYER (J.L.) & PILCHER (S.K.), 1965. Production trials utilizing sulfonamide drugs for the control of « coldwater disease » in juvenile coho salmon. *Res. Briefs, Fish Comm. of Oregon*, 11 (1) : 14-17.
- ANACKER (R.L.) & ORDAL (E.J.), 1959. Studies on the myxobacterium *Chondrococcus columnaris*. *J. Bacteriology*, 78 : 25-32.
- AUSTIN (B.) & AUSTIN (D.A.), 1987. Gram negative pigmented rods. In Bacterial fish pathogens disease in farmed and wild fish. Publication Ellis Horwood Chichester, England.
- BERNARDET (J.F.), BAUDIN LAURENCIN (F.) & TIXERANT (G.), 1988. First identification of « *Cytophaga psychrophila* » in France. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 8 (5) : 104-105.
- BORG (A.), 1960. Studies on myxobacteria associated with diseases in salmonid fishes. *Wildlife Dis.*, 8 : 1-85.
- BULLOCK (G.L.), CONROY (D.A.) & SNIESZKO (S.F.), 1971. Myxobacterioses. In Diseases of fishes. Snieszko S.F. and Axelrod H.R. eds, T.F.H. Publication, Jersey City, New Jersey.
- DAVIS (H.S.), 1946. Care and disease of trout. *U.S. Fish Wildl. Ser., Research Report*, n° 12, 98 p.
- PACHA (R.), 1968. Characteristics of *Cytophaga psychrophila* (Borg) isolated during outbreaks of bacterial coldwater disease. *Appl. Microbiol.*, 16 : 97-101.
- VUILLAUME (A.), SOCHON (E.) & LESEL (R.), 1988. Cultivation of systemic « Myxobacterium » from rainbow trout. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 8 (4) : 74-75.
- WINTON (J.R.), ROHOVEC (J.S.) & FRYFR (J.L.), 1983. Bacterial and viral diseases of cultured salmonids in the Pacific Northwest. In Bacterial and Viral Diseases of Fish : Molecular Studies, Crosa J.M. ed., University of Washington, Sea Grant Publication, p. 1-20.
- WOOD (J.W.), 1968. Diseases of Pacific salmon. Their prevention and treatment. *Dept. Fish, Hatchery Div. State of Washington*.
- WOOD (E.M.) & YASUTAKE (W.T.), 1956. Histopathology of fish. III. Peduncle (cold-water) disease. *Prog. Fish-Cult.*, 18 (1) : 58-61.
-