

Intérêt des contrôles histopathologiques dans le dépistage des maladies des poissons Application à la Salmoniculture

J. C. LEVADITI, P. BESSE, P. de KINKELIN et J. C. GUILLON
(présenté par Monsieur H. JACOTOT)

La pisciculture française connaît, depuis 1945, un essor considérable dans le but de produire des poissons de consommation ou de repeuplement des eaux naturelles.

Cette production intense impliquant une concentration des animaux, une vitesse de croissance accrue et un forçage alimentaire, on a vu apparaître de nombreux troubles pathologiques et même une mortalité d'allure souvent épizootique. Nos connaissances hydrobiologiques étant encore limitées, les erreurs sont fréquentes dans les élevages et, de ce fait, les maladies ; les pertes des établissements piscicoles sont donc parfois considérables.

Pour améliorer le rendement et la qualité de cette branche de la production animale française, la recherche piscicole qui s'organise actuellement dans le cadre de l'I. N. R. A. dispose de trois moyens principaux : la mise au point de techniques d'élevage et d'alimentation rationnelle et la *lutte contre les maladies des poissons*. Cette lutte fondée sur une prophylaxie efficace fait l'objet du présent travail.

En effet, avant d'agir contre elles, il nous faut connaître exactement la nature des maladies sévissant dans les salmonicultures françaises pour dresser en quelque sorte un *inventaire pathologique* et déterminer les problèmes à résoudre en priorité.

Or, si dans le domaine normal, la connaissance précise est déjà loin d'être de règle en matière piscicole, il règne en ichtyopathologie une imprécision plus grande encore : les maladies des poissons ne peuvent se manifester que par un petit nombre de « signes cliniques » et un diagnostic fondé uniquement sur la symptomatologie reste trop souvent hasardeux. Ceci est encore plus vrai lorsqu'il s'agit d'alevins d'examen difficile et dont la mortalité est parfois rapide et massive (6-12-16).

C'est pourquoi, parmi les méthodes qui s'offrent pour obtenir

un inventaire de la pathologie, l'histologie a paru capable de fournir des renseignements précis et rapides destinés à orienter des recherches sur les affections qu'elle aura permis de reconnaître.

Les principes de la Médecine Vétérinaire, médecine préventive et médecine de groupe, s'appliquent parfaitement à la pathologie des poissons et les prélèvements faits sur des populations piscicoles peuvent être considérés comme de véritables biopsies des élevages en cause.

Méthodes et Techniques

Les prélèvements ont été effectués dans les circonstances suivantes :

- dépistage d'une maladie donnée : hépatome par exemple ;
- appel du pisciculteur à la suite de mortalités collectives ;
- poissons expédiés ou apportés vivants à la Station d'Hydrobiologie de Paris par des particuliers ou des gardes-pêche.

Les deux premiers types d'enquêtes sont les plus intéressants car ils permettent une étude sur place, toujours indispensable pour obtenir des commémoratifs concernant les conditions d'élevage et de nutrition. L'expérience montre en effet que dans ces domaines, il n'est guère possible de se fier au pisciculteur toujours fort discret et ne se rendant pas compte de l'importance de certains faits.

Après examen nécropsique des animaux mourants et si la taille des sujets le permet, les organes suivants sont prélevés : foie, rein, cœur, rate, tube digestif, fragment musculo-cutané, encéphale ou tout autre pièce présentant une lésion apparente. Les fragments sont immédiatement fixés dans vingt fois leur volume du mélange de BOUIN, préféré au formol à 10 p. 100 car il rend la coloration plus facile par son mordantage picriqué. La durée de fixation de 1 à 3 jours est plus réduite que celle des tissus des mammifères. Les mélanges de CARNOY et de ROSSMAN sont employés en vue de colorations histochimiques (FEULGEN, P. A. S.) éventuelles.

Les alevins, particulièrement intéressants en matière d'ichtyopathologie, sont fixés entiers avec incision de la paroi abdominale s'ils sont assez volumineux.

Les coupes obtenues après inclusion à la paraffine ont de 2,5 à 5 microns d'épaisseur ; elles sont colorées à l'hémalum éosine-safran, trichrome classique de conservation prolongée et universellement adopté dans les laboratoires d'anatomie pathologique humaine et comparée.

En fonction des indications fournies par cette première techni-

que, d'autres colorations plus spécifiques telles celles de GRAM, de ZIELH, de HOTCHKISS-MAC MANUS, FEULGEN, MANN, DOMINICI, GIEMSA, WILDER, MASSON, PRENANT ou VON KONSA, techniques classiques de l'histopathologie animale, sont utilisées (1).

En l'absence d'ouvrage concernant l'histologie normale des poissons, une collection de coupes exécutées à partir d'animaux sains permet de se référer à l'organisation histologique des espèces étudiées.

Inventaire pathologique

Nos contrôles ont porté sur 30 établissements de pisciculture, domaniaux, fédéraux ou privés situés en divers points de France. Certains d'entre eux ont été l'objet de plusieurs enquêtes faites à l'occasion de divers types de mortalité ou des poussées successives d'une même maladie. Au cours de quelques enquêtes, il a même été possible d'observer des affections différentes dans des groupes d'animaux pêchés simultanément. C'est pourquoi le nombre des foyers pathologiques recensés : 51 est supérieur à celui des établissements visités.

Sur l'ensemble des truites dont les organes prélevés ont été fixés ou des truitelles fixées en totalité, 166 sujets ont fait l'objet de contrôles histologiques. Plus de 400 préparations ont été ainsi interprétées et sont conservées dans la collection.

Le tableau I énumère les diverses maladies dont la nature a été histologiquement reconnue, puis le nombre de foyers réels observés pour chacune d'elles et enfin le nombre des sujets atteints d'une même maladie.

Ceux pour lesquels l'étiologie n'a pu être précisée (les deux dernières lignes du tableau) représentent 12, soit 24 p. 100 des cinquante foyers et totalisent 28 truites sur 166 soit 17 p. 100 des truites examinées.

Hépatome (9-17) : Cette affection qui semble gagner chaque jour en importance du fait des échanges anarchiques de poissons entre pisciculteurs, a déjà fait l'objet de plusieurs publications de notre part (13). Le nombre élevé d'hépatomes et d'angioadénomatoses hépatiques reconnus provient non seulement du dépistage systématique d'une affection en cours d'étude, mais aussi de leur fré-

(1) Le laboratoire d'Ichtyopathologie de l'I. N. R. A. compte rechercher dans l'avenir des techniques sensiblement plus adaptées au matériel considéré.

TABLEAU I

Maladie diagnostiquée histologiquement	Nbre de foyers 51	Nbre de cas enregistrés : sur 166 sujets
Hépatome	10	52
Angio-adénomatoze hépatique	4	10
Tuberculose	4	4
Pathologie individuelle	3	6
Viroses	Septicémie hémorragique ...	7
	Nécrose pancréatique	20
	Hépatite interstitielle avec inclusions (?)	3
Maladies nutritionnelles	Dégénérescence hépatique lipopéide	14
	Avitaminose E.....	6
	Indéterminée	1
Parasitose : octomitus etc.	3	15
Affection ni infectieuse ni parasitaire....	2	3
Sans résultat	10	25

quence croissante. L'hépatome de la truite semble vouloir faire de ces salmonidés une espèce de choix pour l'étude expérimentale de cette affection de même manière que le sont les poulets pour celle de la leucose.

Il est bien établi maintenant que la présence de l'hépatome chez les géniteurs peut être la cause de mauvais rendements à la fécondation, et par la suite, de mortinatalités en coquille et de mortalités d'alevins inexplicables pour le pisciculteur qui n'a pas remarqué la maladie ou le plus souvent a acheté ses œufs à l'extérieur ou hors de France.

Angio-adénomatoze hépatique : les lésions d'hyperplasie nodulaire limitées, sans anomalies cellulaires qui apparaissent déjà chez les truitelles d'un et de deux ans, ont pour intérêt majeur de précéder dans un même élevage l'apparition des hépatomes histologiquement évidents des sujets plus âgés.

Tuberculose : Cette affection a été observée sur des poissons

isolés sans être retrouvée chez les autres sujets du même établissement. La tuberculose se traduit par des nodules folliculaires prédominant dans le foie. Ces nodules sont centrés par des macrophages contenant des bacilles acido-résistants en nombre relativement important.

Parmi d'autres infections individuelles une *phlébite portale*, une *néphrite bactérienne*, un *kyste biliaire*, et une *orchite chronique* peuvent être notées.

Viroses : il n'y a pas lieu d'insister sur la *nécrose pancréatique* (5-6-12-18-19) *individualisée* pour la première fois en France et qui fait l'objet de la communication suivante faite par deux d'entre nous.

La *Septicémie hémorragique virale* a provoqué des pertes catastrophiques depuis dix ans dans le cheptel piscicole européen et joue également un rôle important en France (1-7-8-11-14-15-16-17). Histologiquement, on reconnaît facilement : l'œdème inflammatoire rétro-oculaire, une ascite contenant de nombreuses cellules inflammatoires polymorphes, des suffusions hémorragiques interstitielles situées dans les muscles striés et enfin des hémorragies intra et rétro-choroïdiennes qui contribuent à l'exophtalmie. Une hépatite interstitielle accompagnée ou non de vacuolisation ou de petits foyers de nécrose des cellules hépatiques et une néphrite aiguë à prédominance épithéliale complètent souvent les lésions attribuées à la septicémie hémorragique.

Chez trois truitelles prélevées dans un même élevage une hépatite interstitielle lymphocytaire périportale était accompagnée de petits foyers de nécrose du parenchyme hépatique. Dans les cellules des canaux biliaires la présence d'inclusions intranucléaires ovoïdes et hématoéphiles a fait suspecter une nouvelle virose ou une forme anormale d'une virose déjà connue (13).

Troubles nutritionnels

La dégénérescence hépatique lipoïde est relativement fréquente (10). Elle se manifeste par une surcharge lipidique des hépatocytes et par une vacuolisation des cellules de KÜPFER. Celles-ci englobent parfois une substance homogène d'aspect cireux légèrement fuchsinoophile qui confirme le diagnostic de dégénérescence lipoïde.

Pour d'autres truites, une myosite dégénérative et interstitielle analogue à celle décrite chez les mammifères au cours de l'avitaminose E a fait conclure à une carence de ce type. L'adminis-

tration de vitamine E a fait disparaître ces lésions chez les truitelles de l'élevage ainsi traité.

Discussion

I. — *Limites de cette étude.*

Les contrôles histopathologiques peuvent intervenir pour l'étude aussi bien des poissons vivant à l'état sauvage dans les eaux naturelles que pour les sujets d'élevage comme c'est le cas des cyprinidés. Son application à la salmoniculture facilite l'étude épizootique et l'interprétation des résultats du fait de la meilleure qualité de l'eau pratiquement indemne de pollution, d'une surveillance plus étroite, de conditions de nutrition mieux connues, donc de la possibilité de recueillir des commémoratifs précis indispensables à toute étude histopathologique.

De plus, en salmoniculture il s'agit d'une pathologie de groupes et les contrôles pratiqués donnent des indications sur l'état sanitaire d'une population piscicole homogène.

Il est loin d'en être de même dans les eaux naturelles où tous les âges sont représentés et où sévissent des affections individuelles entraînant une mortalité échelonnée. Les prélèvements de sujets y sont plus difficiles et le matériel qu'il est possible de se procurer est parfois altéré par la putréfaction ou l'autolyse cadavérique.

Bien que ces faits rendent le travail histologique aléatoire, il a été possible d'observer que de nombreux poissons sauvages hébergent presque toujours et sans en souffrir, bon nombre de parasites reconnus histologiquement : *myxobolus*, *argules*, *gyrodactylus*, helminthes divers.

Meilleures sont les conditions en ce qui concerne la cypriniculture mais sa surveillance ne saurait toutefois être comparée à celle de la salmoniculture (2).

C'est pour mieux juger des possibilités offertes par les contrôles histologiques que nous avons voulu limiter cet exposé aux résultats obtenus en salmoniculture où les prélèvements sont aisés, où les conditions de vie des sujets sont uniformes et bien précisées et où se peut pratiquer facilement une médecine de groupe.

II. — *Conditions d'efficacité.*

Sur 51 foyers de mortalité 12 sont restés inexplicés (voir tableau). Il s'agissait soit de sujets pour lesquels aucune lésion n'était visible histologiquement soit de prélèvements insuffisants ne per-

mettant pas de reconstituer l'ensemble des lésions nécessaires pour affirmer un diagnostic. C'est pourquoi, en plus des lésions éventuelles visibles à l'œil nu, il faut prélever de façon systématique un ensemble d'organes : masse hépato-spléno-intestinale, rein, cœur, fragments musculo-cutanés et enfin la tête en totalité ou seulement les branchies, les yeux et l'encéphale.

D'autre part le nombre respectif des cas enregistrés varie avec le nombre des poissons prélevés. Les prélèvements faits par personnes interposées ou par le garde-pêche sont souvent insuffisants et c'est à l'enquêteur de choisir lui-même les animaux dans les bassins infectés. Après ces échecs, dus parfois à l'insuffisance de prélèvements, nous avons pris pour règle de prélever dans chaque bassin infecté au moins trois truites ou truitelles présentant des signes de maladie et un sujet apparemment sain. Pour les alevins, ces chiffres doivent être au moins triplés, leur faible taille et la forme arquée que leur impose la fixation ne permettant pas de donner toujours à la coupe d'ensemble l'orientation nécessaire. Comme en médecine humaine toute nécropsie doit être complète et systématique et la fixation des organes immédiate, telles sont les conditions indispensables pour obtenir des conclusions valables.

III. — *Signification des résultats.*

Le nombre de cas diagnostiqués dépend du nombre de prélèvements et de leur caractère plus ou moins systématique. Il ressort également de ces observations que les maladies des poissons sont infiniment plus variées que les symptômes apparents qu'ils extériorisent. La précision qu'apporte l'histopathologie permet d'espérer la disparition des appellations empiriques telles que : maladie des gros yeux, tournis, dont les causes peuvent être essentiellement différentes.

Les infections bactériennes paraissent rares, les parasitoses qui atteignent les alevins dans certaines conditions d'élevage sont d'un traitement aisé ; ces maladies ne constituent pas de problèmes graves. Le fait actuel important reste celui des viroses telles la septicémie hémorragique et la nécrose pancréatique et celui de l'hépatome, objets des recherches futures de la Station d'Hydrobiologie.

IV. — *Limites de l'histopathologie.*

Le temps est passé où l'on pensait que l'histopathologie constituait un moyen de contrôle univoque. Sa valeur n'est pleinement justifiée que lorsque ses informations sont complétées par les

autres méthodes biologiques de diagnostic (4) et par une étude épi-zootologique soigneuse. Mais dans l'état de nos connaissances et des moyens d'investigation à la disposition des ichtyopathologistes elle apporte des réponses relativement rapides, souvent très précises, aux problèmes de diagnostic et doit en permettre un abord expérimental. Mais quel que soit l'avenir, la phase expérimentale sera toujours heureusement complétée par la précision de l'histopathologie.

Conclusions

Dans le domaine encore peu connu de l'ichtyopathologie les contrôles histopathologiques constituent un moyen de choix précis et relativement rapide pour dépister des causes de mortalité pisciaire à condition que ses contrôles interviennent dans des conditions précises et qu'ils soient systématiques.

L'exemple choisi, celui des problèmes posés par la salmoniculture, semble en confirmer l'intérêt. Cette technique prend toute son efficacité en matière de pathologie des alevins d'autant plus que leur fragilité en fait le point vulnérable de la salmoniculture.

Les techniques histopathologiques permettent d'obtenir des certitudes dans les domaines très variés des infections bactériennes, des parasitoses, des viroses, des tumeurs et des maladies métaboliques ; l'inventaire pathologique des élevages de France mieux connu de ce fait doit pouvoir orienter la recherche vers les questions urgentes dont la solution contribuera à l'amélioration d'une production animale, ce qui n'a jamais cessé d'être notre but.

BIBLIOGRAPHIE

1. P. BESSE. — *Bull. Acad. Vét.*, 1955, **28**, 194.
2. P. BESSE, J. C. LEVADITI, P. DESTOMBES et M^{me} O. NAZIMOFF. *Bull. Acad. Vét.*, 1959, **32**, 421-426.
3. P. BESSE, J. C. LEVADITI, J. C. GUILLON et P. de KINKELIN. — Conférence on viral diseases of poikilothermic vertebrates, New York, 25 septembre 1964, session 6 (à paraître).
4. P. BESSE et M^{lle} A. M. NORMAND. — *Bull. Acad. Vét.*, 1963, **36**, 389-391.
5. C. P. CERINI et R. G. MALSBERGER. — Conference on viral diseases of poikilothermic vertebrates : New York 25 septembre 1964, session 3 (à paraître).
6. H. S. DAVIES. — *Culture and diseases of game fishes* — University of California Press, Berkeley and Los Angeles 1953.
7. J. DEUFEL. — *Der Fischwist*, 1958, t. **7**, 177.
8. P. GHITTINO. — *Bull. Off. int. Epiz.*, 1963, **59**, (1-2), 59-87.
9. P. GHITTINO. — *Atti della Soc. Italiana delle Scienze Veterinarie*, 1963, **17**, 574-579.

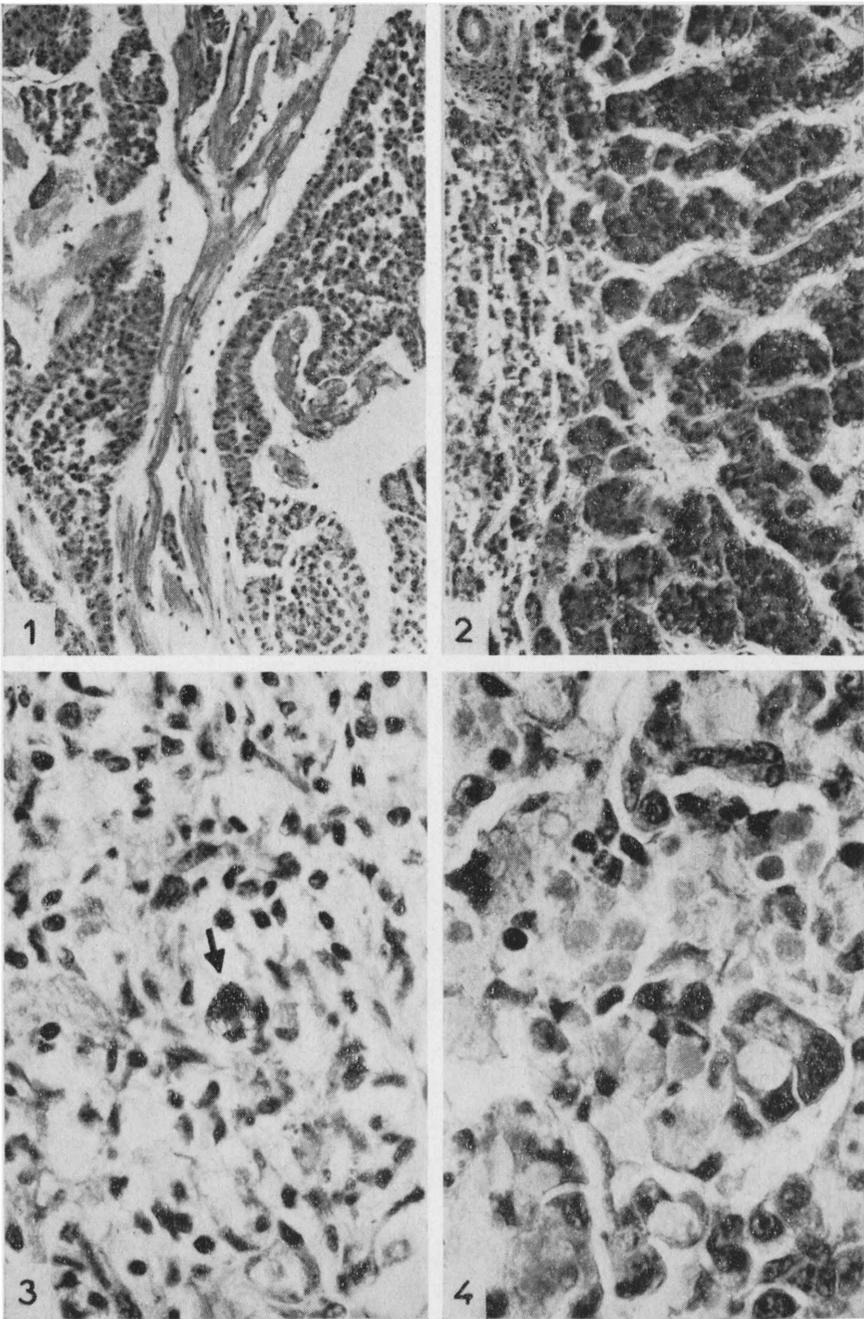


FIG. 1. — Hépatome (truite) : métastases intra-cardiaques.
Lame BD. 69. G. 135 x. Hémalun-éosine-safran

FIG. 2. — Angio-adénomatose hépatique (truite) : foyer adénomateux
(à gauche : le tissu hépatique normal).
Lame BD. 1060. G. 135 x. Hémalun-éosine-safran.

FIG. 3. — Tuberculose (truite) : foyer histiocyttaire dans le foie
(une colonie de bacilles dans une cellule (flèche))
Lame BD. 69. G. 610 x. Ziehl.

FIG. 4. — Dégénérescence hépatique lipoïde (truite) :
dépôts de céroïde dans les hépatocytes.
Lame BD. 1396. G. 610 x. Hémalun-éosine-safran.

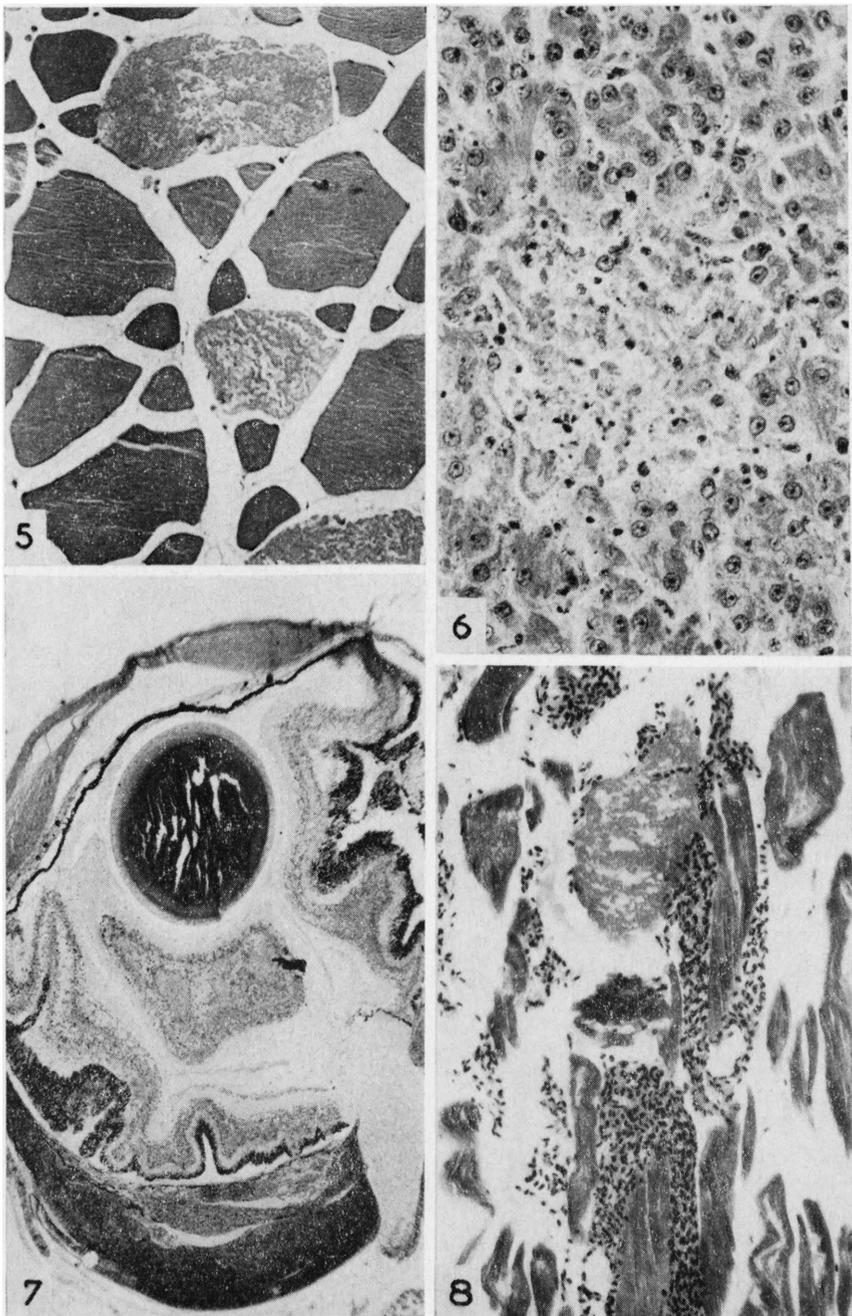


FIG. 5. — Avitaminose E (truite) : dégénérescence cirreuse des fibres musculaires.

Lame BE. 64. G. 145 x. Hémalun-éosine-safran.

FIG. 6. — Septicémie hémorragique virale (truite) : foyer de nécrose hépatique.

Lame BE. 2530. G. 200 x. Hémalun-éosine-safran.

FIG. 7. — Septicémie hémorragique virale (truite) : hémorragies dans la poche séreuse rétro-choroïdienne.

Lame BE. 1121. G. 35 x. Hémalun-éosine-safran.

FIG. 8. — Septicémie hémorragique virale (truite) : hémorragie et dégénérescence musculaires.

Lame BE. 2923. G. 135 x. Hémalun-éosine-safran.

(Clichés Service photographique de l'Institut Pasteur)

10. P. GHITTINO et L. J. IGNACIO. — *Atti della Soc. Italiana delle Scienze Veterinarie*, 1963, **17**, 569-574.
11. P. GHITTINO. — *Veterinaria Italiana*, 1962, **13**, 457-489.
12. D. B. GREENBERG. — *Trout Farming* — Chilton Company — Brook Division Philadelphia — New York 1960.
13. J. C. LEVADITI, P. BESSE, R. VIBERT, P. DESTOMBES, J. C. GUILLON M^{me} O. NAZIMOFF et M^{lle} A. M. NORMAND. — *Presse Médicale*, 1963, **71**, 2743-2746.
14. F. PLISKA. — *Medycyna Weterynaryjna* — 1946, **2**, 133.
15. C. J. RASMUSSEN. — Meddelelse n. r. 10 Fra Forso gsdambrugget.
16. W. SCHAPERCLAUS. — *Fischkrankheiten*, Berlin, Verlag, 1954.
17. Symposium européen sur les maladies des poissons et l'inspection des produits de la pêche fluviale et maritime. Turin, 20-24 octobre 1962, *Bull. Off. int. Epiz.*, 1963, **59**, 5-310.
18. S. F. SNIESKO, E. M. WOOD et W. T. YASUTAKE. — *Arch. of Pathology*, 1957, **63**, 229.
19. E. M. WOOD, S. F. SNIESKO et W. T. YASUTAKE. — *Archives of Pathology*, 1955, **60**, 26.