

Sur l'étiologie du syndrome peste rouge des Cyprinidés

par P. GORET, J. EUZÉBY et L. JOUBERT (1)

Nous avons eu l'occasion d'étudier récemment une grave infection survenue dans une population de carpes. La maladie présentait l'apparence clinique de la peste rouge des Cyprinidés, mais les recherches bactériologiques ont révélé l'intervention de germes différents de *Bact. pestis cyprinicida*, PLEHN 1903, agent habituel de ce syndrome.

Symptômes : la maladie naturelle que nous avons étudiée dans un vivier de Neuville-sur-Saône appartenant à M. R., n'atteint que les carpes. Elle se traduit essentiellement par des symptômes de langueur et par du purpura. Les malades sont couchés sur le flanc, au fil de l'eau; ils respirent difficilement et ouvrent largement la bouche, en proie à une vive dyspnée. Ils n'offrent aucune résistance quand on cherche à les saisir pour les examiner. A l'examen, on note des taches hémorragiques, d'un rouge plus ou moins foncé, vineux ou lilas sur le tégument du flanc ainsi qu'à la base et sur les rayons des nageoires. Les ouïes sont le siège de lésions identiques et sont recouvertes d'un abondant mucus grisâtre, épais. La mort survient 10 à 12 heures après le début de la maladie. Tous les jours disparaissent ainsi de 60 à 80 poissons.

Lésions : l'autopsie de nombreux individus fraîchement recueillis montre des lésions identiques sur tous les animaux; on note seulement quelques différences quant à l'intensité du processus qui reste unique dans son aspect anatomo-clinique.

Les cadavres sont en bon état de muscle et de graisse. Ils ont tendance à se putréfier très rapidement malgré la saison favorable à une conservation prolongée. Mais on est surtout frappé à l'inspection, par la présence des taches purpuriques déjà signalées; on les retrouve sur tous les cadavres. Sur quelques sujets, on observe aussi sur les écailles un abondant mucus. Chez tous, les ouïes sont recouvertes d'un enduit muqueux, pré-

(1) Avec la collaboration technique de MM. B. LAINÉ et L. RENAULT.

sentent des ponctuations hémorragiques et çà et là, des taches nécrotiques.

A l'ouverture des cadavres, on note des lésions congestives et hémorragiques des divers viscères. L'intestin est le siège d'une vive congestion; il présente une coloration rouge vineux et il est rempli d'un abondant mucus sanguinolent sous lequel la muqueuse apparaît couverte de nombreuses pétéchies, de la dimension d'une pointe d'épingle. Les reins sont congestionnés et hémorragiques, leur parenchyme est friable.

Le cœur renferme un sang noir et épais. Le péricarde adhère par places au myocarde, au niveau de zones de péricardite adhésive.

A la coupe des muscles, on observe, en certains points, des traînées et des plages ecchymotiques.

DIAGNOSTIC

En somme, ces caractères anatomiques et les symptômes déjà décrits correspondent exactement à ceux qui ont été rapportés dans la Peste rouge ou purpura des Cyprinidés, assez fréquente en Allemagne, mais non encore observée en France, et due à *Bact. Pestis cyprinicida*. Mais on sait que de nombreuses maladies septicémiques des poissons offrent très souvent tous ces caractères, aussi avons-nous voulu confirmer le diagnostic par l'étude bactériologique de l'infection.

ETUDE BACTÉRIOLOGIQUE

Deux germes différents furent constamment isolés des lésions, particulièrement dans la pulpe rénale et dans le sang du cœur.

Germe n° 1 : a) *Morphologie-coloration* : dans les produits pathologiques comme dans les cultures, il s'agit d'un bacille allongé, de 3 μ sur 0 μ 6, mobile à l'examen direct et en milieu de mobilité (1). C'est une bactérie gram négative, à coloration bipolaire très nette, surtout après teinture à la thionine phéniquée.

b) *Cultures* : le germe est aéro-anaérobie. Il cultive entre 10° et 40°, et à la température optimum de 30°. En bouillon, le germe se développe en formant des ondes épaisses en 18 heures, avec abondant sédiment au troisième jour. Sur gélose, il donne des colonies isolées de 2 à 3 millimètres de diamètre, de coloration jaune chamois.

Sur pomme de terre : il provoque la formation d'un enduit

(1) Gélose de Tittsler et Sandholzer à 5 p. 1000 d'agar.

jaune chamois, clair, très brillant.

L'enrichissement sur milieu de Kauffmann et la culture sur S S agar sont positifs.

c) *Caractères biochimiques* :

— propriétés glucidolytiques : le germe fermente divers sucres : glucose (avec dégagement gazeux), galactose, saccharose, mannose et maltose, mais il n'attaque ni le lactose (1), ni la dulcité;

— propriétés protidolytiques : il liquifie la gélatine, acidifie et coagule le lait;

— produits formés dans les milieux de culture : les tests au rouge de méthyle et à l'acétyl-méthyl-carbinol (2) sont positifs. Le bacille ne produit pas d'indol (3), mais entraîne un dégagement abondant d'hydrogène sulfuré;

— culture en milieux synthétiques : le germe utilise le citrate de soude comme seule source de carbone (4) et l'urée comme seule source d'azote (5) : il décompose l'urée en 4 heures.

d) *Caractères antigéniques* : ne possède aucun antigène somatique des *Salmonella* (agglutination OM négative) (6).

En résumé, les caractères du germe en cause sont ceux d'une entéro-bactérie; ils permettent d'identifier ce germe à *Proteus Mirabilis*, HAUSER 1885.

Germe n° 2 : a) *Morphologie-coloration* : dans les productions pathologiques et en culture, il se présente comme un cocco-bacille court et trapu de $1 \mu 5$ sur $0 \mu 4$, mobile, surtout après entraînement sur milieu de mobilité. Coloration bipolaire très nette surtout par la thionine phéniquée et le bleu de toluidine. Gram négatif.

b) *Cultures* : le germe est aéro-anaérobie. Son optimum thermique se situe à 20° ; il ne cultive pas à 37° mais se développe encore très bien à 10° .

En bouillon, la culture est lente et se développe en 2 à 3 jours; elle forme des ondes légères, s'immobilisant assez rapidement après agitation. Sédiment faible.

Sur gélose, la culture est également lente (3 à 4 jours) et le

(1) Même après un séjour d'un mois en milieux lactosés à 10 p. 100 et à 10 p. 1000 incubés à 20° et à 37° .

(2) Technique de Barrit.

(3) Réactif d'Ehrlich-Kovacs.

(4) Milieu liquide de Koser.

(5) Milieu de Fergusson.

(6) Sérum mélange d'anticorps anti-facteurs somatiques O de toutes les *Salmonellas* actuellement connues.

germe donne de petites colonies en tête d'épingle devenant muqueuses et filantes après vieillissement (au bout de 8 jours).

Sur pomme de terre : il se forme, au bout de 3 jours, un enduit jaune chamois, clair, d'une brillance particulière.

L'enrichissement sur milieu de Kauffmann et la culture sur S S agar sont positifs.

c) *Caractères biochimiques* :

— propriétés glucidolytiques: le germe ne fermente aucun des sucres éprouvés avec le germe n° 1, même après plusieurs jours d'incubation à 20°; le milieu lactosé n'est pas modifié, même après un mois. Tout au plus peut-on noter une légère alcalinisation du milieu glucosé;

— propriétés protidolytiques : ne liquéfie pas la gélatine, ne coagule pas le lait;

— produits formés dans les milieux de culture : les tests au rouge de méthyle et à l'acétyl-méthyl-carbinol sont négatifs. Le germe ne provoque pas la formation d'indol, ni d'hydrogène sulfuré;

— culture en milieux synthétiques : même comportement que le germe n° 1 en milieu de Koser et en milieu de Fergusson.

d) *Caractères antigéniques* : ce germe semble posséder, à un faible taux, des antigènes communs avec les Salmonella (agglutination O M douteuse).

En résumé, cette bactérie a les caractères d'une entéro-bactérie, mais elle est difficile à classer. Elle emprunte la plupart de ses caractères au genre *Alcaligenes* et à l'espèce *A. Fœcalis* CASTELLANI et CHALMERS 1896. Mais elle s'en différencie par l'impossibilité de sa culture à 37° (ce qui montre son adaptation aux animaux poïkilothermes) et par son caractère d'utilisation de l'urée, non classique dans le genre *Alcaligenes*, et qui la rapproche des *Proteus*.

Des deux germes isolés, il semblerait que le n° 2 soit le plus spécifique puisque plus étroitement adapté aux animaux à sang froid.

ETUDE EXPÉRIMENTALE

a) animaux sensibles : nous avons pu reproduire la maladie sur diverses espèces de poissons : la tanche (*Tinca tinca*) est très réceptive au laboratoire, bien que non affectée dans les conditions naturelles

Il est de même pour le cyprin doré (*Carassius auratus*) et le chevenne (*Leuciscus squalius cephalus*).

En revanche, la perche (*Perca fluviatilis*) n'est pas réceptive. Le cobaye a résisté à l'infection expérimentale.

b) Modes d'infection :

— voie buccale : l'injection du bouillon de culture à la pipette, dans la cavité buccale, n'a pas provoqué l'infection malgré l'administration de doses élevées : jusqu'à 3 cc. De même, l'entretien des poissons dans une eau artificiellement polluée, n'entraîne aucun trouble;

— voie sous-cutanée : cette voie s'est au contraire révélée très favorable à l'infection. L'injection de 0,5 cc. de culture en bouillon entraîne régulièrement la production de taches purpuriques d'abord localisées au point d'inoculation et diffusant ensuite sur tout le corps, particulièrement à la base des nageoires dorsale et anale, et à l'aisselle des pectorales.

Chez toutes les espèces sensibles, l'injection sous-cutanée a provoqué une maladie tout à fait identique à la maladie naturelle amenant la mort en 2 ou 3 jours. Dans tous les cadavres, on a retrouvé les germes dans le sang du cœur et dans la pulpe rénale. Des rétro cultures ont montré la présence de bactéries semblables à celles utilisées pour reproduire la maladie et ont pu servir avec succès de matériel d'inoculation. On peut donc affirmer que la maladie naturelle était bien l'œuvre des deux germes isolés chez les carpes mortes.

c) Pouvoir pathogène de germes associés et isolés : les premières inoculations avaient été pratiquées à partir d'un bouillon de culture renfermant les deux germes. Après les avoir isolés, nous avons repris l'étude expérimentale avec chacun d'eux. A cet effet, des tanches et des cyprins ont été inoculés, par la voie sous-cutanée, avec 0,5 cc. de culture pure.

— *Proteus mirabilis* entraîne la mort en 48 heures avec le syndrome anatomo-clinique typique. La rétroculture et les réinoculations en série sont positives.

— *Alcaligenes* (?), dans les mêmes conditions est moins pathogène. Il ne détermine la mort qu'au bout de 5 jours, mais le syndrome consécutif à l'injection est toujours typique, et les réinoculations sont positives.

Pour les raisons déjà exposées, et malgré la moindre intensité de son pouvoir pathogène, nous inclinons à considérer cette dernière bactérie comme la mieux adaptée aux poissons.

ESSAIS DE PRÉVENTION

a) *Chimio-prophylaxie* : nous avons utilisé la sulfaméthyl pyrimidine : 2.632 R. P. ou plus exactement son dérivé soluble, à la

concentration de 1 p. 1.000, dans l'eau où sont entretenus les poissons. Une telle solution sulfamidée n'exerce aucune toxicité sur les animaux.

2 tanches A et B ont été inoculées avec un bouillon de culture mixte :

A a reçu 0,5 cc. de bouillon;

B a reçu 1 cc. de bouillon.

La tanche A est placée dans un bac à eau ordinaire, tandis que la tanche B est plongée dans de l'eau sulfamidée.

Deux jours plus tard, la tanche A meurt, présentant de vives lésions hémorragiques sur le côté gauche, la ligne inférieure de l'abdomen et à l'aisselle des pectorales.

La tanche B, bien qu'ayant reçu une dose double de bouillon virulent ne manifeste aucun trouble.

Quatre jours après l'inoculation, on la replonge dans de l'eau ordinaire : elle survit.

La même expérience a été répétée avec le même succès sur 2 autres tanches et sur 2 cyprins.

On peut donc conclure que l'administration de sulfaméthyl pyrimidine immédiatement après l'injection expérimentale, pourtant sévère, a permis la survie de l'animal ainsi traité, tandis que les témoins meurent en 48 heures.

b) *Prévention biologique* : nous avons préparé un vaccin avec une culture mixte, en bouillon, formolée à 2 p. 1.000 et chauffée à l'étuve à 37° pendant 8 jours.

Le 7 février 1950, une tanche reçoit sous la peau 0,5 cc. de ce bouillon vaccin.

Le 17 mars suivant, soit plus d'un mois après la première inoculation, cette tanche est inoculée avec 1 cc. de bouillon virulent mixte, en même temps qu'une tanche témoin de même format qui ne reçoit que 0,5 cc. de bouillon virulent. La première survit, et la tanche témoin succombe dans les délais habituels.

Nous croyons pouvoir en conclure que l'injection sous-cutanée d'un vaccin spécifique confère l'immunité au poisson.

En résumé, il résulte de cette étude que le syndrome peste rouge des Cyprinidés paraît relever d'une étiologie très complexe. Outre le bacille de Plehn, d'autres germes peuvent le déterminer, en particulier des Entérobactériacées : *Proteus mirabilis* et *Alcaligenes faecalis* (?)

La preuve de l'intervention de ces germes est fournie par :

— l'isolement des bactéries;

le succès des inoculations expérimentales;
— l'immunisation par un vaccin spécifique.

*(Laboratoires de Bactériologie et de Parasitologie de l'École
Vétérinaire de Lyon.)*

