L'ANÉMIE PERNICIEUSE DES TRUITES

Par P. BESSE

Docteur en Médecine Vétérinaire.
Certificat de bactériologie de l'Institut Pasteur
Certificat de sérologie de la Faculté de Médecine
Diplômé d'hématologie de l'Hôpital Broussais.
Chargé du Laboratoire d'Ichthyopathologie
à la Station Centrale d'Hydrobiologie appliquée.

Dans le « *Bulletin Français de Pisciculture* », n° 172 de Janvier-Mars 1954, je prévenais à la suite d'un article du Professeur STEINMANN, les éleveurs français de l'existence, à l'étranger, d'une maladie de la Truite détectée par différents chercheurs et dénommée Exophtalmie épizootique, Hydropisie infectieuse, puis Anémie infectieuse, selon les symptômes qui avaient le plus frappé les auteurs. En réalité, les descriptions faites de ces maladies sont toutes concordantes, et l'étiologie en était supposée d'origine infectieuse.

A la suite de cette mise en garde, de nombreux pisciculteurs découvraient que la maladie, qui semblait nouvelle, décimait leurs élevages. Un matériel abondant me fut ainsi offert.

Une note sur les résultats de mes recherches fut portée devant l'Académie vétérinaire et parut dans le Bulletin de cette Assemblée (n° 5 d'Août 1955). Un exposé plus important de ces recherches et des conclusions que l'on pouvait en tirer fut publié par les *Annales de la Station Centrale d'Hydrobiologie appliquée*, tome VI, 1956.

Ces articles semblent être ignorés de beaucoup de pisciculteurs qui me demandent de nombreux renseignements sur cette maladie et sur son traitement. Il me semble donc utile d'entretenir de cette affection les lecteurs du présent bulletin.

Je ne parlerai pas des symptômes et lésions surajoutées d'affections microbiennes ou parasitaires.

SYMPTOMES

1° Au début de la maladie, les Truites atteintes se tiennent encore avec l'ensemble de la population, mais réagissent plus faiblement aux différentes excitations et se déplacent plus lentement. Puis les malades

s'isolent, restant immobiles contre les bords et en queue des bassins ; ils se laissent alors facilement prendre à la main. L'appétit dans l'ensemble est conservé, sauf en fin d'évolution de l'affection. Ce sont d'ailleurs les plus beaux sujets de l'élevage qui sont atteints les premiers. La peau devient foncée, presque noire sur le dos, bleu violacé sous le ventre, par dilatation des mélanophores.

2° Dans tous les cas observés, les branchies sont toujours décolorées, rouge pâle, rosées, ou même blanches ou grises. Ce symptôme est constant et le plus précoce.

3° Chez beaucoup d'individus il y a protrusion très marquée de l'un ou des deux globes oculaires provoquée par un œdème du tissu conjonctif de la cavité orbitaire (d'où le nom d'exophtalmie, ou gros yeux).

4° En même temps, on observe une distension volumineuse de l'abdomen plus particulièrement dans la région gastrique. Le rectum est légèrement saillant.

5° Une autre forme de la maladie peut être observée dans le même élevage. Le poisson conserve sa couleur normale, ne présente pas d'exophtalmie, peu ou pas de dilatation abdominale, mais manifeste des troubles de la locomotion, tourne en rond, nage en vrille ou sur le dos : il y a ataxie. Il est maigre et ses branchies sont également pâles.

LÉSIONS NÉCROPSIQUES

A l'ouverture du cadavre ; on fait les observations suivantes :

1° La cavité abdominale présente en quantité plus ou moins abondante un liquide d'ascite transparent, incolore ou jaune rosé, se coagulant rapidement à l'air.

2° L'estomac est très dilaté, et contient également un liquide transparent incolore.

3° Les appendices pyloriques peuvent présenter une coloration jaune plus ou moins intense par le contact avec la vésicule biliaire qui laisse légèrement extravaser la bile.

4° L'intestin, presque toujours vide de matières alimentaires, contient également un liquide transparent incolore ou jaunâtre. Les parois du tractus digestif semblent amincies.

5° Le foie est fortement modifié avec ou sans dégénérescence ou surcharge grasseuse. Il est plus ou moins augmenté de volume et sa couleur est plus claire que la normale et le plus souvent jaunâtre, mastic ou marbrée, parfois grise translucide. Sa consistance est friable. La vésicule biliaire est jaune clair.

6° La rate, peut, être légèrement diminuée de volume, apparaît de couleur brique et de consistance dure. Mais le plus souvent elle est soit inchangée, soit légèrement augmentée de volume, plus noire que la normale et plus molle.

Anémie pernicieuse. *Dilatation de l'estomac, décoloration du foie et des branchies.*

Anémie pernicieuse. *Exophthalmie.*

7° Le rein peut être normal, mais présente très souvent un gonflement important lui donnant un aspect ondulé, avec par place des zones grises tranchant très nettement sur le reste noir violacé de l'organe. Les zones grises correspondent à un œdème interstitiel.

8° Le cœur est plus ou moins décoloré, même exangue.

9° Les poissons sont toujours très gras.

Selon les élevages, on rencontre toutes les formes de transition entre l'animal sain et celui atteint d'hydropisie et d'exophtalmie. C'est ainsi que l'on peut rencontrer des mortalités intenses dans certaines piscicultures, les Truites semblant à première vue parfaitement saines, mais révélant à l'autopsie un degré plus ou moins grand de dégénérescence ou surcharge lipoïde du foie et des branchies décolorées.

Examens histopathologiques des tissus (microscopiques)

Ils confirment les observations macroscopiques, à savoir : œdème rénal, œdème rétro-oculaire. Foie normal, exangue voire œdédié ou surcharge de graisse ; il n'y a pas de lésion d'hépatite, pas plus d'ailleurs que de néphrite ; les cellules hépatiques et rénales sont normales.

Examens hématologiques

J'ai été amené devant un tel degré d'anémie, à étudier le sang des animaux sains et celui des malades. Déjà certains auteurs étrangers tels DAVIS PLISKA et SCHAPERCLAUS, avaient notés une diminution des globules rouges pouvant être considérable, mais sans pousser plus loin leurs recherches.

Celles que j'ai effectuées sur des *Truites en parfaite santé* de mon élevage donnent les résultats suivants :

A. — Nombre de globules rouges : 1.360.000 à 1.500.000 ;
Nombre de globules blancs : 15.000 à 14.000 ;
Taux d'hémoglobine : 100% ;
Valeur globulaire : 1 ;

Formule sanguine :

Neutrocytes	22
Eosinocytes	0
Basocytes	0
Lymphocytes	64
Moyens mononucléaires	12
Monocytes	2

En plus de ces éléments, le sang normal contient des normocytes ronds à noyau rond, relativement peu condensé ; leur protoplasme est mauve ; ce sont des hématies immatures ; on en trouve environ autant

Anémie pernicieuse. *Dilatation abdominale.*

Anémie pernicieuse. *Décoloration du foie, reins gris et ondulés.*

que de lymphocytes; à l'autre bout de l'évolution des hématies, se rencontrent des hématies en voie de destruction et dont seul reste un noyau plus ou moins diffus. On en compte environ 200 à 250 pour 100 lymphocytes.

Examen du sang des malades

Comme les auteurs cités, je trouve une diminution très importante du nombre des globules rouges, variable selon le stade évolutif de l'affection de 500.000 à 100.000. Parallèlement, il y a diminution du taux d'hémoglobine et du nombre des globules blancs, mais les proportions ne sont plus les mêmes.

Ainsi, pour 400.000 globules rouges, et 40% d'hémoglobine avec une valeur globulaire égale à 1,1 je trouve 2.200 globules blancs. Il y a donc leucopénie (1).

L'étude des lames colorées au May-Grunwald-Giemsa, montre qu'à la leucopénie s'ajoute une neutropénie (2) très forte.

Les hématies sont plus grosses, moins ovales, leur noyau est moins condensé, moins intensément coloré. Le protoplasme est plus pâle; on rencontre également des hématies très ovales, allongées, à très grand noyau et à protoplasme polychromatophile. D'autres ont un noyau rond et un très grand protoplasme (mégaloocyte). Certaines hématies sont très petites, presque rondes avec un petit noyau rond.

L'activité de la lignée rouge se manifeste par la présence de normoblastes à tous les stades de leur évolution.

On rencontre aussi un ou deux mégalo blastes, très grande cellule à grand noyau, grand protoplasme; le noyau est à petites boules nombreuses et régulières, avec réseau. Le protoplasme est basophile avec parfois des nucléoles; plus évolué, il apparaît violet; il présente donc toutes les caractéristiques de la cellule appelée, en hématologie humaine, le mégalo blaste biermerien. En outre, on peut rencontrer parfois un plasmocyte.

L'examen des frottis de rate montre un envahissement de cet organe par des cellules blastiques et la présence de plasmocytes.

L'examen de la moelle osseuse des lames de la boîte crânienne montre une prolifération des cellules erythroblastiques avec présence de nombreux mégalo blastes.

Nous nous trouvons donc en présence d'une anémie erythroblastique biermerienne ou para-biermerienne telle que la mégalo blastose de l'enfant. Cette constatation nous a amené à étudier le chimisme gastrique de ces poissons.

(1) La leucopénie est la diminution du nombre des globules blancs.

(2) La neutropénie est la diminution du nombre des globules blancs neutrophiles.

ÉTUDE DU pH GASTRIQUE

Sur les Truites normales, nous avons relevé des pH gastriques allant de 1,5 à 2,5. Sur les Truites malades, le pH oscille entre 6,5 et 7,5. Certains estomacs contenant encore quelques débris alimentaires avaient un pH de 9 à 11.

Dans cette affection, il y a donc hypochlorhydrie ou achlorhydrie, ce qui me permet bien de classer cette affection au voisinage de l'anémie de Biermer de l'homme et de la mégaloblastose de l'enfant.

Un dernier test permettant de vérifier cette assertion, est la réponse rapide et favorable de l'anémie de Biermer à l'injection I. M. de vitamines B 12 (Cobamine) à forte dose.

Ayant à ma disposition une douzaine de Truitelles présentant des lésions caractéristiques, j'ai injecté à 7 d'entre elles 150 gamma de vitamines B12, trois en I. M. et quatre en intra-péritonéale. Ces quatre dernières sont mortes dans la demi-heure suivant l'injection. Les trois autres furent injectées le lendemain avec 250 gamma en I. M. Les témoins sont tous morts dans les trois jours qui ont suivi.

Sur les trois sujets traités, au bout de cinq jours, j'ai pu constater une régression considérable de l'œdème rétro-oculaire et une coloration plus intense des branchies. La couleur noire des poissons ne s'est pas modifiée, mais cela est dû au fait que pendant la période de protusion des yeux, de graves lésions de ces organes se sont manifestées entraînant la cécité, laquelle provoque le noircissement de la peau.

Une seconde expérience a été tentée sur des Truitelles dans une pisciculture et sur des alevins dans mon laboratoire. Le traitement de la maladie a consisté à donner une nourriture acide et riche en vitamines B et B 12 aux poissons, en l'occurrence du lait caillé. Dans la pisciculture, en 15 jours, la mortalité a régressé d'une façon considérable pour devenir pratiquement nulle.

Dans mon laboratoire, 1.700 à 1.800 alevins furent traités. Avant traitement et les trois jours suivants, une mortalité de 100 à 150 sujets par jour était constatée. A partir du 4^e jour, la mortalité est tombée à une dizaine par jour; la reprise d'une alimentation équilibrée (foie de bœuf, levure de bière, poudre de crustacés) a amené la guérison totale.

Fort de cette expérience, j'ai été amené à prescrire comme unique traitement dans des piscicultures à mortalité élevée par anémie pernicieuse, une alimentation exclusive avec foie de bœuf cru, viande de bœuf cru, lait caillé, levure de bière, et ce à raison de la moitié habituelle de nourriture, le poisson de mer étant exclu. L'action bénéfique de ce traitement se manifeste rapidement par l'arrêt en quelques jours de la mortalité et le retour du sang à la normale environ trois semaines après. Ceci démontre péremptoirement que la *maladie est d'origine caren-tielle polyvitaminique*.

L'anachlorhydrie gastrique relève d'une avitaminose A ou de son précurseur ; l'anémie d'une avitaminose B 12, acide folique et facteur H ; les troubles locomoteurs, d'une avitaminose B 1 ou Thiamine et vitamine B 12 ; la surcharge adipeuse du foie d'une déficience en Methionine inositol-choline ; la diminution de la résistance aux maladies d'une déficience en vitamine B 6 ou pyridoxine et acide pantothénique.

Quant à l'œdème rétro-oculaire, l'œdème rénal et l'ascite, ce ne sont que des phénomènes secondaires de l'anémie. Nous le retrouvons dans toutes les espèces animales, y compris l'homme, chaque fois que les anémies carentielles ou parasitaires se développent et arrivent à leur stade terminal. En effet, le sang n'étant plus assez riche en globules rouges ne remplit plus son rôle de transporteur d'oxygène, le cœur n'étant plus oxygéné ne peut convenablement pomper le sang qu'il n'envoie plus avec un débit suffisant ; il y a stagnation du sang et accumulation de lymphes dans les tissus interstitiels, ou la cavité péritonéale. Certains pisciculteurs ont émis l'hypothèse que l'œdème et l'ascite étaient le fait du passage de l'eau extérieure dans le milieu intérieur ; ce fait ne peut être retenu car il n'y a pas dilution des liquides du milieu intérieur des poissons ; le plasma sanguin, s'il accuse une modification importante de ses protéines, ne présente pas de variations plus amples que celui de l'homme dans les mêmes circonstances. Ce ne serait que dans la phase ultime, après apparition de l'œdème rénal, que le rein ne pouvant plus jouer son rôle d'émonctoire, l'eau extérieure pourrait envahir le milieu intérieur au travers de la membrane semi-perméable des branchies.

* * *

Nous venons de voir que les lésions observées sur les Truites malades étaient d'origine carentielles et polyvitaminique. Quel est donc le mécanisme de cette maladie ?

Voici comment on peut l'envisager.

a) Les géniteurs privés de nourriture naturelle et en particulier de Crustacés riches en provitamine A, caroténoïdes tels que l'astaxanthine, donnent des œufs carencés en ce même pigment. Il en est de même pour les vitamines B. Les alevins présentent donc dès leur naissance une avitaminose entraînant une certaine aplasie de la muqueuse gastrique, d'où hypochlorhydrie et diminution du mucoprotéide, facteur intrinsèque de Castle.

b) La nourriture de l'alevin, constituée soit uniquement de pulpe de rate, soit d'un mélange de pulpe de rate et de farines composées, est très pauvre sinon totalement privée de vitamines du groupe B et en particulier de vitamines B 12 ; la carence augmente.

c) Puis vient la nourriture normale : poisson de mer ou viande d'équarrissage. Cette nourriture, quoi qu'en disent certains pisciculteurs, ne présente pas toujours les caractères de la première fraîcheur. Un certain degré de décomposition se manifeste, entraînant une élévation

du pH. Il s'ensuit une destruction du peu de vitamines qu'elle contient et une neutralisation du peu d'acidité gastrique restant. Il n'y a plus d'absorption de vitamine B 12 et il s'ensuit une anémie erythroblastique entraînant un œdème viscéral, puis la mort de l'animal et ce, en parfait état d'embonpoint. C'est pourquoi je préfère à toutes les autres dénominations de cette maladie, celle d'*Anémie pernicieuse de la Truite*.

Chez ce poisson, l'Anémie pernicieuse n'a été pratiquement rencontrée que dans les piscicultures ; il n'a jamais été rapporté en France de cas sur les Truites sauvages ; de plus, dans la grande majorité des cas, ce sont les piscicultures proches des bords de mer qui furent atteintes. Or la presque totalité de la nourriture fournie est, dans ces piscicultures, le poisson de mer. Même dans les établissements les mieux tenus, celui-ci n'est que relativement frais et l'odeur générale qui s'en dégage est ammoniacale ; le produit du broyage de ces poissons présente la plupart du temps un pH élevé pouvant atteindre 9 à 11, alcalinité produite par la décomposition des albumines en amines, méthylamines, éthylamines, etc. Pendant ce processus de décomposition, il est possible que la vitamine A, qui est très fragile, soit totalement détruite.

Il est probable que cette nourriture très alcaline, ingérée voracement par les Truites, doit bloquer instantanément l'acide chlorhydrique de l'estomac et détruire progressivement les cellules productrices de cet acide. Tous ces produits toxiques doivent être plus ou moins résorbés par les parois gastriques et intestinales. Elles doivent également, par leur pH élevé, empêcher la production du facteur intrinsèque de Castle.

Les méthylamines et les éthylamines ont de plus la propriété comme l'ammoniaque, de précipiter les sels de cobalt, mais ces sels précipités ne sont plus solubles dans un excès de ces bases, contrairement à ce qui se passe avec l'ammoniaque. Il ne faut pas oublier que la vitamine B 12 (facteur extrinsèque) contient du cobalt dans sa molécule (cobamine) et que, partant, cette vitamine est peut-être inactivée par la présence de ces bases. Les auteurs américains ont démontré que la chair fraîche des poissons de mer détruit rapidement les vitamines du groupe B. La thiaminase détruit la vitamine B 1. Le traitement des poissons malades par la vitamine B 12, l'action favorable de l'alimentation par le lait caillé acide, semblent confirmer cette hypothèse.

Enfin, parfois, l'anémie pernicieuse s'est manifestée de très bonne heure sur les jeunes alevins après la résorption de la vésicule dès l'administration de nourriture uniquement composée de rate fraîche. Faut-il voir là un caractère héréditaire de la maladie ? Je ne pense pas qu'il y ait une action génique ; il faut plutôt penser que les géniteurs carencés en facteur antianémique et en vitamines A, ont produit des œufs également carencés en ces mêmes facteurs et, partant, des alevins carencés. La vitamine B 12 intervient dans le métabolisme général en augmentant l'utilisation des amino-acides circulants et en contribuant à leur fixation dans les tissus ; elle intervient dans le métabolisme des nucléoprotéines, des protoporphyrines et dans la pigmentogénèse ; en outre, elle empêche la dégénérescence graisseuse du foie. On comprend très bien que les alevins

carencés dès leur départ ne peuvent rétablir le cycle en vitamine B 12 normal, leur alimentation (la rate), n'étant pas particulièrement riche en cette vitamine, celle-ci se détruisant d'ailleurs très rapidement.

Certains pisciculteurs n'ont pas cru devoir admettre cette conclusion par le fait que l'alimentation donnée à leurs élèves était très variée et comprenait, outre une très riche nourriture naturelle, de la viande fraîche et du poisson de mer non mélangé à l'autre nourriture, et par conséquent tous les principes vitaminiques se trouvaient théoriquement respectés.

Une expérience fut tentée à mon laboratoire, où les poissons sont ordinairement alimentés à la viande de cheval selon les règles normales de l'alimentation rationnelle.

Pendant un mois il fut distribué la même nourriture mais jusqu'à refus. Au bout de trois semaines les poissons, qui semblaient en parfait état, commencèrent à mourir en présentant les symptômes et les lésions caractéristiques de l'anémie pernicieuse. L'alimentation fut alors ramenée à un taux de 75 % de l'alimentation normale d'un mélange de viande de cheval et foie de bœuf cru. La mortalité s'arrêta en 3 et 4 jours et le taux de globules rouges remonta en trois semaines à un taux normal.

Cette expérience montre que malgré la valeur qualitative des aliments, une erreur quantitative entraîne des troubles aussi importants. Cela tient au fait que lorsque le taux des protéines ingérées dépasse la quantité nécessaire à la croissance et au métabolisme des sujets, les protéines non utilisées sont stockées sous forme de matières grasses qui envahissent les organes ; il y a surcharge du foie et bien qu'il n'y ait pas hépatite à proprement parler, cet organe ne remplit plus ses fonctions et en particulier la fonction hématopoïétique, il n'utilise plus normalement les vitamines mises à sa disposition, il n'y a plus maturation des hématies et l'anémie survient.

En résumé, deux phénomènes jouent un rôle important dans la production de l'anémie pernicieuse :

1° Soit une carence alimentaire par administration d'aliments dépourvus de vitamines ou privé de leurs vitamines par chauffage, congélation ou putréfaction.

2° Suralimentation avec aliments trop riches en protéides ou en matières grasses.

La plupart du temps d'ailleurs, les deux causes sont intimement mêlées, les pisciculteurs voulant obtenir dans les temps les plus courts des animaux vendables en leur administrant des mélanges alimentaires, mal équilibrés dans leurs différents constituants : matières protéiques, lipides, glucides, vitamines, sels minéraux, ou avec une alimentation naturelle telle que poisson de mer, qui normalement manque d'éléments essentiels, ou dont la chair contient des enzymes détruisant ces principes lorsqu'on les y ajoute.

Il est facile d'éviter l'anémie et voici comment :

1° *Respecter les tables d'alimentation* en fonction du poids et de la température, ce qui *évitera la suralimentation* ;

2° Donner un régime *équilibré* comprenant une ration à 16 à 18 % de protéines pour les alevins et 12 à 15 % pour les truitelles ;

3° Les matières grasses de l'alimentation naturelle de la Truite, correspondent à 15 %. Toutes les matières grasses ne sont pas également digestibles pour ce poisson. Celles provenant des crustacés et invertébrés d'eau douce ont un point de fusion très bas et un indice d'iode élevé et sont parfaitement utilisées.

Celles contenues dans l'alimentation artificielle sont à point de fusion élevé et à bas indice d'iode et de ce fait sont très mal utilisées par la Truite. Il est bon de ne pas dépasser 5 à 8 % de la ration, si leurs constantes physiques sont éloignées des constantes en matières grasses de l'alimentation naturelle ;

4° Les glucides tels que le glucose sont rapidement utilisés par les Truites mais les glucides plus élevés : saccharose, amidon, le sont très mal. Il est recommandé de ne pas inclure plus de 9 % de glucides digestibles dans un régime ;

5° L'alimentation doit contenir toutes les vitamines nécessaires : A, B1, B2, B12, acide folique facteur H ou APF, la méthionine, l'inositol et la choline, la biotine, la vitamine B6 et l'acide pantothénique ;

6° Les sels minéraux indispensables agissant à l'état de trace (oligo-éléments) : cobalt, cuivre, iode, etc.

Le traitement consiste à donner, comme je l'ai dit précédemment, une alimentation exclusive en foie de bœuf cru, viande de bœuf cru, lait caillé, levure de bière 2 % et farine de crustacés fraîche ; ceci en respectant les tables d'alimentation et pendant une période de un mois au moins.