L'ENZOOTIE D' "ULCERATIVE DERMAL NECROSIS" DU SAUMON (*SALMO SALAR*, L. 1766) EN BRETAGNE

par P. De KINKELIN*, Y. LE TURDU**

avec la collaboration technique

d'Anne-Marie BRIZON, J. COHEN, J. L'HARIDON et M. LE JONCOURT

I — RAPPORT PRELIMINAIRE (1)

Les pêcheurs et les garde-pêches de la Fédération des Côtes-du-Nord ayant constaté en 1968 et 1969 l'apparition d'ulcères cutanés, infestés de champignons parmi les saumons du fleuve Le Guer, une étude a été entreprise, en action concertée, par le Conseil Supérieur de la Pêche, le Laboratoire Vétérinaire départemental des Côtes-du-Nord et le Laboratoire d'Ichtyopathologie de l'Institut National de la Recherche Agronomique (I.N.R.A.).

Une analogie certaine existant entre les troubles observés sur les saumons du Guer et la maladie décrite en Grande-Bretagne sous le nom d' « Ulcerative Dermal Necrosis » (U.D.N.), la première partie du travail a consisté à établir s'il s'agissait bien de la même maladie, à définir son extension en France et à tenter d'en isoler l'agent responsable. Les techniques de laboratoire ont été mises en œuvre, compte tenu des résultats enregistrés dans les îles britanniques qui tendaient à conclure à une étiologie virale (CARBERY, 1968 a, b, d).

---

* I.N.R.A., Laboratoire d'Ichtyopathologie, Station de Virologie et d'Immunologie, 78 - THIVERVAL-GRIGNON.

** Laboratoire Vétérinaire Départemental, 8, pl. du 74° R.I.T., 22 - SAINT-BRIEUC.

(1) Travail réalisé grâce au contrat de recherche Conseil Supérieur de la Pêche - Institut National de la Recherche Agronomique.

Rappel des connaissances établies sur l'U.D.N. en Irlande et en Grande-Bretagne

Le diagnostic de l'U.D.N. repose sur l'observation d'ulcères cutanés localisés aux régions corporelles dépourvues d'écailles qui sont ensuite envahies par des champignons *Saprolegnaceae*. Les lésions débutent sur la tête par un changement de coloration de petites zones cutanées (diamètre 0,5 cm) qui deviennent grisâtres, s'agrandissent et peuvent confluer ou s'étendre vers le dos et les nageoires ; l'infestation mycelienne (STUART 1968, WILLOUGHBY, 1968) entraîne ensuite la mort des poissons parvenus à un état léthargique.

Du point de vue microscopique (ROBERTS et al., 1969), seule la peau est atteinte. Les cellules de la couche superficielle de l'épiderme gonflent, leur noyau montre une chromatine très condensée et progressivement, une érosion et une désorganisation tissulaire gagnent la profondeur de l'épiderme atteignant la membrane basale. Cette membrane est mise à nu et des champignons pénètrent dans le derme, d'où ils envahissent l'organisme entier et tuent le poisson.

Des accidents analogues ont été signalés en Grande-Bretagne entre 1877 et 1913 (Salmon Fisheries... 1882) puis semblent avoir disparu. En 1964, la maladie réapparaît dans le Sud-Ouest de l'Irlande d'où elle gagne la plupart des cours d'eau de ce pays et ceux de l'Ecosse (ELSON, 1968), du Pays-de-Galles et de l'Angleterre.

Les espèces atteintes sont uniquement le Saumon atlantique (*Salmo salar*, L. 1766), la truite Fario* (*Salmo trutta*, L. 1766) et l'Ombre (*Thymallus thymallus*, L. 1966). La truite Arc-en-ciel est réfractaire (CARBERY et STRICKLAND, 1968 c). Seuls les poissons adultes sont sensibles et le fait de savoir si les sujets sont déjà porteurs de lésions cutanées quand ils arrivent dans les estuaires est controversé : les Ecossais le pensent, les Irlandais, en revanche ne l'ont pas observé et disent que la maladie évolue seulement en eau douce.

Les auteurs étrangers s'accordent pour affirmer qu'il s'agit d'une maladie d'eau froide sévissant au-dessous de + 10° C.

La transmission naturelle de la maladie (sources de virus, hôtes intermédiaires, voies de pénétration) est inconnue.

Expérimentalement, la maladie est transmissible par l'intermédiaire de l'eau et également par inoculation intrapéritonéale de filtrats à 0,22 microns**, d'organes de saumon malade (lésions cutanées, rein antérieur, rate). La maladie est ainsi reproduite sur 20 à 25 % des sujets testés (CARBERY, 1968) après une incubation de deux semaines. Une trentaine d'expériences ont eu lieu.

La transmission expérimentale de la maladie par des filtrats à 0,22 microns est en faveur d'une origine virale mais les essais d'isolement du virus éventuel en culture cellulaire ont échoué. C'est donc à partir de ces données que nous avons organisé notre travail en France.

---

* de mer ou d'eau douce

** Millième de millimètre.

MATERIEL ET TECHNIQUES

I — Opérations de terrain

Les garde-pêches de la Fédération des Côtes du Nord et de la Brigade du Saumon ont assuré une surveillance des cours d'eau permettant le repérage et la capture des sujets atteints et les prélèvements ultérieurs. Parallèlement, le Guer et les deux fleuves voisins, le Douron et le Trieux ont été suivis du point de vue thermique d'octobre 1969 à juin 1970.

Localisation des contrôles thermiques de l'eau

Le Trieux	Pont Caffin (2 km amont de Guingamp)	Pont de Quintin (5 km amont de Pontrieux)
Le Guer	Pont Loas (0,6 km amont de Kernansquillec)	Pont de Kerguiniou (3 km amont de la limite de l'inscription maritime)
Le Douron	Le Ponthou (Pont de la R.N. 12)	Pont Menou (0,1 km amont de la limite de l'inscription maritime)

2 — Techniques de laboratoire

2.1. — Examens histologiques : Après fixation au mélange de Bouin, les lésions ulcéreuses cutanées, rein, rate, foie et cœur des sujets malades ont été coupés (à 5 microns d'épaisseur) et colorés par le trichrome Hemalun-Eosine-Safran et accessoirement par des techniques annexes (Bleu de Toluidine, Hotchkiss-Mac Manus, Giemsa).

2.2. — Essais d'isolement du virus sur cultures cellulaires de lignées : Les lignées cellulaires R.T.G.₂ (WOLF 1962) et F.H.M. (GRAVELL et MALSBERGER, 1965) entretenues au laboratoire d'Ichtyopathologie, ont été infectées de la manière suivante :

Après un contact d'une heure filtrat-culture cellulaire, à $+ 10^{\circ}\text{C}$ dans des flacons « Falcon » de 30 ml, l'inoculum est éliminé et remplacé par du milieu de EAGLE, additionné d'antibiotiques comme ci-dessus et tamponné Tris à pH 7,6.

Cinq passages aveugles ont été effectués à une semaine d'intervalle à partir de chaque prélèvement.

2.3. — Microscopie électronique. Les cultures cellulaires infectées et des petits fragments d'ulcères et de rein antérieur ont été fixés pendant 30 minutes à $+ 4^{\circ}\text{C}$ par le Glutaraldéhyde à 1,6 % dans du tampon de Sørensen à pH 7,2 et post-fixés par le tétr oxyde d'osmium à 2 % pendant 1 heure. Après coupe ultrafine à l'ultratomé L.K.B. III et coloration à l'acétate d'uranyl et au citrate de plomb, les préparations sont ensuite examinées à l'aide d'un microscope Philipps EM 300 à 60 Kv et 80 Kv.

2.4. — Transmission expérimentale à la truite fario : Les surnageants filtrés à 0,22 micron, des broyats d'organes de malades ont été inoculés à la dose de 1 ml à 20 truites fario de 150 à 200 g, provenant de la pisciculture fédérale des Côtes-du-Nord (10 truites par voie intramusculaire, 10 truites par voie intrapéritonéale).

Les animaux ont ensuite été immergés dans un ruisseau expérimental issu d'une source se déversant dans le Guer comme le montre le schéma suivant :

Date : 2ème quinzaine de Mai 1970

température de l'eau $+ 9^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant l'expérience

Les animaux ont été pêchés au bout de 3 semaines.

RESULTATS

1. La répartition géographique de la maladie se trouve pour l'instant limitée à deux fleuves : le Guer et le Douron.
2. Les espèces atteintes sont le Saumon et la Fario.
3. Les températures d'eaux auxquelles on observe les manifestations de la maladie se situent entre $+ 6^{\circ}\text{C}$ et $+ 10^{\circ}\text{C}$ et correspondent à l'abaissement automnal (novembre) et l'élévation printanière (avril-mai). Les troubles les plus importants ont été enregistrés au cours de l'automne 1968 et leur incidence s'est révélée moindre ensuite.

4. La maladie se définit par l'apparition de petits ulcères (Pl. I - fig. 1) débutant sur la tête et les opercules, qui s'étendent ensuite aux régions dépourvues d'écaillés et sont le siège d'infestations myceliennes qui tuent le poisson. Du point de vue histologique (Pl. I et II - fig. 2 à 6), les lésions se limitent à la peau dont l'épiderme disparaît peu à peu ne laissant subsister que la membrane basale qui se rompt à son tour, ce qui entraîne une exsudation importante et facilite la pénétration des champignons qui se développent particulièrement bien à basse température.
5. Les essais d'isolement d'un virus sur des cultures cellulaires de lignée ont échoué. Aucune destruction cellulaire n'a été constatée et les examens en microscopie électronique n'ont pas révélé de particules virales aussi bien dans les cellules en culture que dans les coupes ultrafines d'organes.
6. L'infection expérimentale des truites fario a permis de transmettre la maladie à 4 sujets sur 20 et d'observer sur eux les premiers stades des ulcères cutanés. Deux truites ont été conservées au Laboratoire Vétérinaire départemental de Saint-Brieuc dans de l'eau à $+ 4^{\circ}$ et y sont mortes en 15 jours d'infestation mycelienne (comme dans la maladie naturelle). Deux autres truites ont fait l'objet de recherches virologiques en culture cellulaire et en microscopie électronique qui se sont révélées négatives.

PLANCHE I (légendes)

Fig. 1 : Tête de truite fario (vue de dessus) atteinte d'U.D.N. expérimentale 3 semaines après l'inoculation. Un gros ulcère occupe la face supérieure du tégument du crâne et une flèche indique un autre ulcère localisé à l'opercule droit.

Fig. 2 : Coupe de peau au voisinage d'un ulcère. La lettre e montre l'exsudat sous lequel les cellules de l'épiderme (couche superficielle et moyenne) présentent des modifications nucléaires (noyaux devenant de couleur sombre) qui sont le commencement de la dégénérescence. La lettre b indique la membrane basale qui sépare l'épiderme du derme et sous laquelle se trouvent les mélanophores (de couleur noire sur la photo) qui donnent la couleur à la peau du poisson (obj. 40 G. 460 x).

Fig. 3 : Coupe dans l'ulcère. L'épiderme a disparu, il reste l'exsudat, la membrane basale dont la petite flèche (à droite) montre la rupture. A ce niveau se situent les pertes de substance (exsudats) et la pénétration éventuelle des champignons, les mélanophores sont détruits. Sous la basale le réseau de fibres entrecroisées est le collagène du derme (obj. 40, G. 460 x).

PLANCHE I

1

2

3

PLANCHE II (légendes)

Fig. 4, 5 et 6 : Photomicrographies d'un ulcère en allant du bord (4) vers le centre (6). Le triangle indique la couche cellulaire basale et la flèche, la membrane basale (obj. 25, G. 280 x).

4. L'épiderme encore normal (à gauche) diminue d'épaisseur vers la droite ; l'importance de l'exsudat augmente inversement, des globules rouges y sont visibles à droite.

5. L'épiderme se trouve réduit à la couche cellulaire basale, l'exsudat hémorragique recouvre le tout.

6. La couche cellulaire basale est détruite à son tour (changement de coloration des cellules) ; la membrane basale reste la seule barrière entre le corps du poisson et l'eau et se trouve rompue à l'extrémité droite du cliché.

PLANCHE II

4

5

6

DISCUSSION

Les techniques mises en œuvre ont visé à localiser la maladie et à vérifier son identité avec celle qu'avaient décrite nos collègues d'Irlande et de Grande-Bretagne en mettant particulièrement l'accent sur des recherches virologiques.

La surveillance de toutes les eaux douces des Côtes-du-Nord a été effectuée, mais les deux fleuves parallèles au Guer (Trieux et Douron) ont fait l'objet d'une attention spéciale, car lors de son début en Irlande en 1964, l'U.D.N. atteignait un seul fleuve, puis de proche en proche a gagné tout le pays.

Les espèces atteintes sont les mêmes qu'en Grande-Bretagne ou en Irlande, mais il est difficile d'estimer les pertes causées par la maladie en France, car le système de contrôle des pêches, pratiqué en Ecosse par exemple, n'existe pas ; il y aurait eu ainsi, parmi les poissons capturés en Ecosse (saumons et truites de mer) 51 000 sujets atteints en 1967 (5,7 % des prises) et 38 000 en 1968 (6 % des prises), d'après MUNRO (1970). Naturellement tous les sujets morts et non capturés ne sont pas comptés.

La température d'apparition de la maladie ($+ 6^{\circ}\text{C}$ à $+ 10^{\circ}\text{C}$) et surtout ses manifestations automnales, sont en accord avec les observations britanniques (MUNRO 1970), mais nous avons en plus une pointe printanière non négligeable. D'après les gardes-pêche, les poissons seraient porteurs d'ulcères quand ils se présentent dans les estuaires ; ce point demanderait à être éclairci par la capture de nombreux sujets au moyen de l'électricité, mais le niveau des eaux au moment des remontées permet rarement ces opérations.

Les observations lésionnelles qui seules, permettent actuellement le diagnostic sont en accord avec celles de CARBERY (1968, a, b, d) et de ROBERTS (1969). Il faut insister sur le siège exclusivement cutané des lésions et sur la nécessité d'en voir les premiers stades ou à la rigueur les premières lésions infestées par les champignons, mais bien localisées à la tête et sur le dos. En effet, la plupart des saumons meurent après la reproduction à la suite de l'infestation mycelienne de leurs blessures cutanées ; il ne faudrait donc pas voir de l'U.D.N. chez tous les salmonidés atteints de Saprolegnose. Ceci est très important pour le dépistage éventuel de la maladie par les garde-pêches.

L'échec des essais d'isolement d'un virus sur cellules de lignées a été également essuyé par CARBERY * avec les cellules R.T.G. 2 et avec une lignée de cellules d'embryon de saumon. Il fut de même pour les essais effectués en Ecosse. Nous avons nous-même utilisé les cellules de lignée parce qu'elles nous servent quotidiennement au laboratoire pour nos recherches sur le virus des salmonidés et que, pris par le temps, nous n'avions pu en préparer d'autres. Maintenant en revanche, nous produisons des explants de nageoires de truite fario adulte, selon la technique de WOLF (1958) modifiée en ce qui concerne le milieu et le mode de fixation de l'explant et nous sommes prêts à tenter l'isolement du virus sur ces cellules dès que nous aurons de nouveaux poissons malades. En disposant ainsi de cellules épidermiques, provenant d'un poisson adulte d'une espèce sensible, des conditions favorables seront réunies. Il faut cependant se souvenir que lorsque l'on cherche à isoler un virus encore inconnu, on ignore sur quelles cellules il se multipliera et l'on se doit d'essayer d'abord avec celles que l'on a, la spécificité d'un virus pour un type de cellule n'étant

---

* Communication personnelle.

pas forcément stricte : par exemple, le virus de la Septicémie Hémorragique de la Truite peut se multiplier sur des cellules de Carassin, or ce poisson n'est pas naturellement sensible à la maladie.

L'absence de virus dans les préparations de cultures cellulaires observées en microscopie électronique nous confirme la nécessité de changer de système cellulaire. Les résultats négatifs enregistrés avec les coupes d'organes malades ne prouvent pas l'absence d'un virus. En effet, si le virus est gros (100 milli microns par ex.) et abondant dans les lésions (comme dans la Variole des Cyprinidés) on le voit facilement, en revanche s'il s'agit d'un petit virus ou d'un virus qui disparaît après l'installation des ulcères, on peut très bien ne pas le voir, surtout si l'on considère la faible épaisseur des coupes (0,05 micron). Il faut alors observer des centaines de coupes en séries, ce que nous n'avons pu faire.

Le succès de la transmission expérimentale par inoculation de filtrats d'organes frais confirme les expériences de CARBERY, l'identité de la maladie avec l'U.D.N. et la forte présomption d'une étiologie virale. Le choix d'un ruisseau expérimental se déversant dans le Guer, cours d'eau infecté, nous a été dicté par l'absence de toute autre installation et par l'impératif d'opérer à proximité des lieux de capture des poissons, car l'expérience nécessitait d'employer des prélèvements frais comme nous ignorions si le virus éventuel résistait à la congélation. De plus les conditions thermiques étaient les mêmes que dans le Guer. Cependant, l'hypothèse d'une transmission par l'eau ou par des malades venus du Guer doit être éliminée pour les raisons suivantes : le virus ne peut remonter le courant ; le ruisseau avait été vidé de tous les poissons sauvages et se trouvait coupé par des chutes et des grilles (voir schéma page 119) ; les 10 témoins placés en amont ne présentaient aucune lésion et sont demeurés indemnes depuis.

L'étude préliminaire réalisée permet une définition de la maladie et son identification à l'U.D.N. En outre, elle nous confirme dans la voie d'une recherche virologique dès les prochaines manifestations de la maladie. En attendant et d'un point de vue pratique, les Fédérations de Pêche concernées par le saumon et la truite de mer ont intérêt à surveiller les cheptels sauvages en tenant compte des indications données dans ce rapport. Pour l'instant, la maladie semble très localisée et ne s'est pas propagée aussi vite qu'en Grande-Bretagne et en Irlande. Un point très important que seuls les pêcheurs pourraient nous aider à éclaircir est de savoir si la maladie existe déjà sur les poissons qui arrivent de la mer.

*
**

Remerciements :

Nous tenons à remercier tout spécialement le Docteur AUREGAN, Président de la Fédération des A.P.P. des Côtes-du-Nord, pour l'appui qu'il nous a apporté dans la réalisation pratique de ce travail et les gardes-pêche des Côtes-du-Nord et de la Brigade du Saumon, pour toutes les opérations qu'ils ont effectuées sur le terrain, qui étaient à la base de nos recherches.

BIBLIOGRAPHIE

- CARBERY J.T. et STRICKLAND K.L., 1968 a. Ulcerative Dermal Necrosis. *Irish vet. J.* 22, 171-175.
- CARBERY J.T., 1968 b. Ulcerative Dermal Necrosis of Salmonids in Ireland. *Symp. Zool. Soc. Lond.*, 24, 39-49.
- CARBERY J.T. et STRICKLAND K.L., 1968 c. Resistance of Rainbow Trout to Ulcerative Dermal Necrosis. *Nature*, 217, 1158.
- CARBERY J.T., 1968 d. U.D.N. of Salmon : Description, actiology and differential diagnosis. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 69, 1401-1410.
- ELSON K.G., 1968. Salmon Disease in Scotland. *Scottish Fisheries Bulletin*, 30, 8-16.
- GRAVELL M. et MALSBERGER R.G., 1965. A permanent cell line from the fat head minnow (*Pimephales promelas*). *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 126, 555-565.
- MUNRO A.L., 1970. U.D.N., a disease of Migratory Salmonid Fishes in the Rivers of the British Isles. *Biological Conservation*, 2, 129-132.
- ROBERTS R.S., SHEARER W.M., MUNRO A.L. et ELSON K.G., 1969. The pathology of U.D.N. of scottish Salmon. *J. Path.*, 97, 563-565.
- Salmon Fisheries (England and Wales), 21 st Annual Report of the Inspectors of Fisheries (for the year 1882), *H.M.S.O.*, London, 1882.
- STUART M.R. et FULLER H.T., 1968. Mycological aspects of diseased Atlantic Salmon, *Nature*, 217, 90-92.
- WILLOUGHBY L.G., 1968. Atlantic salmon disease fungus, *Nature*, 217, 872-873.
- WOLF K. et DUNBAR C., 1958. An explanation of the principles and method of tissue culture. *Progrve. Fish. Cult.* 20 (1), 3-7.
- WOLF K. et Mc QUIMBY M., 1962. Established eurythermic line of fish cells *in vitro*, *Science*, 135, 1065-1066.
-