

UNE MICROSPORIDIOSE DES SALMONIDES DANS LE SUD-OUEST DE LA FRANCE.

M. PORTE (1) et S. CHILMONCZYK (2)

Depuis quelques années on constate un taux de mortalité anormalement élevé, au sein des populations de Salmonidés du Sud-Ouest de la France. Ce fait, observé dans les piscicultures expérimentales de l'INRA (St-Pée sur Nivelle, Lées-Athas) et dans les piscicultures privées, est largement confirmé par les pêcheurs de la région. Ceux-ci signalent en effet, dans l'ensemble du réseau hydrographique, une mortalité inquiétante des Salmonidés.

Ces constatations nous ont amené à aborder l'étude de l'étiologie et de la pathologie de ce phénomène qui semble prendre une ampleur croissante.

MATERIEL ET METHODES

L'étude de la maladie a été effectuée sur différentes espèces de Salmonidés truite fario (*Salmo trutta fario*), truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri*), saumon atlantique (*Salmo salar*), omble de fontaine (*Salvelinus fontinalis*) provenant d'élevages et de peuplements sauvages des cours d'eau du département des Pyrénées Atlantiques et des Hautes Pyrénées.

Les frottis effectués à partir d'œufs et d'organes de poissons malades ont été colorés par les techniques de May-Grunwald-Giemsa, de Vago-Amargier et par la réaction de Feulgen. Les coupes histologiques, réalisées à partir d'alevins ou d'organes de poissons malades fixés par les liquides de Bouin ou de Carnoy, ont été colorées par l'hémalun-picro-indigo-carmin, l'hémalun-éosine, la réaction de Feulgen, le bleu de méthyle (après coloration de masse par le carmin boracique).

Institut National de la Recherche Agronomique

(1) *Station d'Hydrobiologie Continentale, B.P. 79, 64200 BIARRITZ*

(2) *Laboratoire d'Ichtyopathologie, 78850 THIVERVAL GRIGNON*

RESULTATS

La maladie atteint plus particulièrement : l'adulte en période de reproduction, l'œuf et l'alevin à la résorption.

A — Pathologie des adultes

a) conditions d'apparition

C'est surtout en période de reproduction que les Salmonidés sont frappés par la maladie. Mais on constate également une augmentation des mortalités à la suite d'une rapide élévation de la température de l'eau.

b) Lésions

Les poissons malades présentent des lésions externes importantes : exophtalmie, ulcères de la cornée, nécrose des nageoires, ulcérations musculaires et céphaliques, inflammation de la région péri-anale (fig. 1 et 2). Les lésions ulcératives sont similaires à celles d'une maladie décrite en Grande-Bretagne et en Irlande sous le nom d'Ulcerative Dermal Necrosis (U.D.N.). Aussi cette même appellation a-t-elle souvent été utilisée à propos des individus atteints. Les plaies cutanées sont rapidement recouvertes par une prolifération mycelienne.

L'examen nécropsique révèle une vacuité du tube digestif avec inflammation à proximité de l'anus. Le foie, décoloré, présente des plages hémorragiques et la vésicule biliaire est dilatée.

c) Etude histologique

L'observation en microscopie photonique de coupes d'organes prélevés sur différentes espèces de Salmonidés présentant les lésions décrites plus haut, montre la présence d'un parasite dans les tissus atteints. Chez le poisson adulte, il apparaît principalement sous l'aspect de spores piriformes ($3 \mu \times 2 \mu$) qui infectent plus particulièrement :

— le derme et la musculature sous-jacente, elles y exercent une action lytique importante (fig. 4).

— le rein où elles détruisent à la fois le tissu interstitiel et les tubes urinifères (fig. 3).

— l'intestin postérieur où elles envahissent la sous-muqueuse intestinale, ne pénétrant que rarement dans les cellules épithéliales.

— les gonades des deux sexes. Chez le mâle elles abondent dans les cystes testiculaires où elles se confondent avec les spermatozoïdes. Leur présence induit la formation d'un sperme grumeleux à faible pouvoir fécondant. Le sperme de plusieurs mâles est en effet nécessaire pour assurer la fécondation d'une ponte.

Dans l'ovaire, les spores pénètrent dans les ovocytes et se répartissent dans le vitellus.

Chez les géniteurs la maladie se déclare brusquement au moment de la reproduction.

Exceptionnellement, dans la musculature d'une truite arc-en-ciel, nous avons observé, outre de nombreuses spores, une forme végétative ($25 \mu \times 15 \mu$) à 4 noyaux, correspondant probablement à un schizonte en voie de multiplication (fig. 5).

B — Pathologie des œufs

La présence de spores dans les ovocytes réduit considérablement la fertilité en rendant de nombreux œufs inaptes à la fécondation.

a) Aspect des pontes

Les pontes issues des femelles malades se présentent sous divers aspects :

- Les œufs adhérant les uns aux autres sont émis en grappes ; après la
- Les œufs présentent une tache orangée et ne sont pas fécondés.
- Les œufs adhérant les uns aux autres sont émis en grappes, après la fécondation la plupart d'entre eux deviennent blancs et opaques.
- Dans certains cas, il y a rétention totale de la ponte.

b) Incubation

De nombreux œufs « avortent » en cours d'incubation, en fait parmi ceux-ci, beaucoup n'ont pas été fécondés.

c) Etude des frottis de vitellus

Les prélèvements de vitellus sur des œufs non fécondés nous ont permis de constater, après étalement sur lame et coloration, que celui-ci renfermait un grand nombre de spores.

C — Pathologie des alevins

C'est parmi les alevins que le taux de mortalité est le plus élevé.

a) Eclosion

Au lieu de se dérouler en 3 ou 4 jours, l'éclosion peut s'étendre sur 2 semaines, les alevins issus de ces pontes sont chétifs.

b) Résorption de la vésicule vitelline

La résorption de la vésicule vitelline se fait mal et on enregistre une forte mortalité d'alevins principalement chez les truites fario et les ombles de fontaine. Chez ces derniers, la vésicule vitelline reste très grosse et prend une teinte foncée. Cette même lésion se retrouve dans une maladie décrite aux USA sous le nom de « Blue sac disease » (WOLF 1969).

c) Etude histologique

Les coupes effectuées sur des alevins de truite fario et d'omble de fontaine montrent également des parasites dans la masse vitelline. La microsporidie se présente sous une forme végétative amiboïde, le pansporoblaste, qui mesure de 7 à 10 μ de diamètre (fig. 6).

Aucune forme parasitaire n'a pu être mise en évidence chez l'alevin de truite arc-en-ciel.

d) Evolution de la maladie pendant la croissance

Après la résorption, phase critique du développement, la croissance se poursuit normalement. Cependant on note sporadiquement une recrudescence de la mortalité coïncidant avec les poussées de chaleurs printanières et estivales.

D — Agent pathogène

a) Détermination

Les frottis et les coupes histologiques révèlent donc une infection parasitaire. Le parasite nous est apparu sous 3 aspects :

- spore et schizonte dans les tissus de l'adulte.
- forme amiboïde dans le vitellus de l'alevin.

Les spores sont binucléées et possèdent une capsule polaire, elles appartiennent donc à un Protozoaire de la classe des Microsporidies.

Les Microsporidies sont des parasites intra-cellulaires qui, au cours de leur cycle évolutif, passent par divers stades végétatifs (fig. 5-6). Les formes amiboïdes du vitellus des alevins (fig. 6) correspondent à des pansporoblastes jeunes. La détermination spécifique des Microsporidies est basée essentiellement sur le nombre de noyaux contenus dans le pansporoblaste. Le matériel à notre disposition ne nous a pas encore permis d'observer des pansporoblastes mûrs aussi ne pouvons-nous actuellement déterminer l'espèce responsable de cette parasitose.

b) Transmission

Si les Microsporidioses ont été largement étudiées chez les insectes (Pébrine du ver à soie, Nosémose des abeilles) et les crustacés (écrevisse), nous n'avons que peu de données concernant cette parasitose chez les poissons.

Nous pouvons cependant envisager 2 modes de transmission. La présence du parasite dans les œufs fait naturellement songer à une transmission transovarienne. Ce type de transmission a effectivement été démontré dans les Microsporidioses d'insectes. A cette transmission verticale, il faut ajouter une propagation par les spores libérées dans l'eau par le poisson malade (urine, plaies cutanées).

E — Espèces atteintes

Toutes les espèces de Salmonidés sont sensibles. Comme la maladie s'extériorise surtout en période de reproduction, elle prend un caractère saisonnier variant avec les espèces. Les ombles de fontaine, les truites fario et arc-en-ciel sont donc atteints au début de l'hiver. Les truites arc-en-ciel paraissent plus résistantes à la maladie. En pisciculture, nous avons en effet noté que de nombreux géniteurs survivent après avoir été atteints.

Les saumons atlantiques et les truites de mer sont particulièrement sensibles à deux périodes de leur vie : au cours de la remontée sur les frayères et pendant la smoltification. Dans ce dernier cas, seuls les saumons mâles sont atteints.

DISCUSSION — CONCLUSION

En comparant le tableau clinique et lésionnel de la Microsporidiose, du point de vue de la seule observation, avec certains stades évolutifs de l'« U.D.N. », du Syndrome mycosique, de la « Blue sac disease » ou de la Furonculose, il existe des similitudes. Mais la mise en évidence des spores ou de leurs formes germinatives chez les malades, distingue nettement la Microsporidiose des entités pathologiques précédentes.

En effet, ni les travaux de ROBERTS (1972) sur l'U.D.N., fondés essentiellement sur l'histologie, ni ceux de BAUDOY et TUFFERY (1973) sur le Syndrome mycosique et de WOLF (1954) sur la Blue sac disease, accompagnés également de contrôles histologiques, n'ont démontré l'infection par les spores.

Dans le cas de la Furonculose, l'isolement d'*Aeromonas salmonicida* permet le diagnostic différentiel. Chez les animaux dont l'étude a fait l'objet de ce travail (pendant l'hiver 1973-74), l'*Aeromonas salmonicida* n'a pas été isolée. En revanche, au cours des 2 années précédentes cet isolement a été effectué à partir de poissons de la pisciculture de St-Pée-sur-Nivelle lors de l'élévation thermique de l'eau. Il n'est donc pas encore possible de savoir si la recrudescence des mortalités à ces périodes est le fait de la bactérie, du parasite, ou de l'action associée des deux.

Diverses espèces de Microsporidies parasitant les poissons des rivières françaises ont été décrites (KUDO - 1924), mais jusqu'ici il n'a été fait état d'aucune Microsporidiose.

La parasitose touche principalement le Sud-Ouest de la France mais son extension géographique est possible du fait du commerce des œufs entre les diverses piscicultures françaises et étrangères.

Des traitements antifongiques ont été appliqués, sans succès, aux poissons parasités.

Aucune mesure thérapeutique n'a encore été utilisée contre les Microsporidies des poissons. Nous envisageons une thérapeutique à partir de produits anti-coccidiens (nitrofurax, sulfadiméazine, framycétine).

La transmission transovarienne étant le mode de propagation le plus dangereux, il est primordial de s'assurer de l'état sanitaire des géniteurs. Malheureusement, nous avons remarqué que les géniteurs malades ne présentent pas tous les lésions externes de la maladie.

C'est donc par un contrôle strict des œufs et l'élimination de toute ponte où une partie des œufs ne présente pas d'apparence normale que cette Microsporidiose peut actuellement être enrayée. Une méthode de diagnostic rapide sur frottis est à l'étude. Elle devrait permettre la reconnaissance précise des sujets parasités et faciliter ainsi le contrôle des œufs dont la libre circulation est un important facteur de propagation du parasite.

RESUME

Une Microsporidiose provoque actuellement de fortes mortalités dans les populations de Salmonidés du Sud-Ouest de la France. Les lésions de cette maladie ont fait penser à une atteinte d'Ulcerative Dermal Necrosis ou de Syndrome mycosique. En fait, l'observation en microscopie photonique de coupes histologiques et de frottis d'œufs et d'organes (fig. 3-4-5-6), montre qu'il s'agit d'une parasitose, dont l'agent pathogène, une Microsporidie, n'est pas encore déterminé spécifiquement.

L'infection se localise surtout à la peau, au rein, à l'intestin et aux gonades. Au niveau des ovaires elle se traduit par la ponte soit d'œufs abortifs soit d'œufs féconds donnant naissance à des alevins parasités qui résorbent difficilement leur vitellus. Cette transmission verticale est un facteur de dissémination très important du fait du commerce des œufs. Aussi des mesures prophylactiques visant à s'assurer de l'état sanitaire des géniteurs et des œufs doivent-elles être prises pour éviter une extension géographique de la parasitose.

SUMMARY

At present, Salmonids from the South West of France are heavily affected by a microsporidian disease.

The lesions resemble those of Ulcerative Dermal Necrosis or Syndrome mycosique, but light microscopic examinations of histological sections and smears of eggs and organs show that it is a parasitical disease. The pathogenic agent, a Microsporidea, has not yet been classified.

Skin, kidney, gut and gonads are particularly infected. Infection of the ovaries gives rise to parasitized eggs which on hatching produce alevins having extreme difficulty absorbing the yolk.

This direct transmission is a very important disease scattering factor due to the large traffic in fish eggs. So prophylactic measures concerning brood stock and eggs must be adopted to avoid widespread dispersal of this parasitical disease.

BIBLIOGRAPHIE

- BAUDOY A.M., TUFFERY G., 1973. Connaissances actuelles sur un syndrome mycosique affectant les populations piscicoles des rivières à Salmonidés de la France. Bull. Fr. Pisc., 249, 127-142.
- KUDO R. R., 1924. A biologic and taxonomic study of the Microsporidia. III. Biol. Monogr., 9, 83-344.
- LOM J., CORLISS J. O., 1967. Ultrastructural observations on the development of the Microsporidian Protozoon *Plistophora hypheobryconis* Schaperclaus. J. Protozool., 14 (1), 141-152.
- PUTZ R.E., HOFFMAN G.L. DUNBAR C.E., 1965. Two new species of *Plistophora* (Microsporidea) from North American fish with a synopsis of Microsporidea of freshwater and euryhaline fishes J. PROTOZOOL. 12 (2), 228-236.
- ROBERTS R.J., 1972. Ulcerative Dermal Necrosis (UDN) of salmon (*Salmo salar* L.). Symp. Zool. Soc. Lond., 30, 53-81.
- VAGO C., AMARGIER A. 1963. Coloration histologique pour la différenciation des corps d'inclusion des virus d'insectes. Ann. Epiphyties, 14, 269-274.
- VEY A., VAGO C., 1972. Recherche sur les maladies actuelles des écrevisses en France. Ann. Hydrobiol., 3 (1), 59-64.
- WEISSENBERG R., 1968. Intracellular development of the Microsporidan *Glugea anomala* Moniez in hypertrophying migratory cells of the fish *Gasterosteus aculeatus* L., an example of the formation of « Xenoma » Tumors. J. PROTOZOOL., 15 (1), 44-57.
- WOLF K., 1954. Progress report on Blue sac disease. Prog. Fish Cult., 16 (2), 51-59.
- WOLF K., 1969. Blue sac disease of fish. U.S. Bur. Sport Fish. and Wild. FDL-15, 4 p.

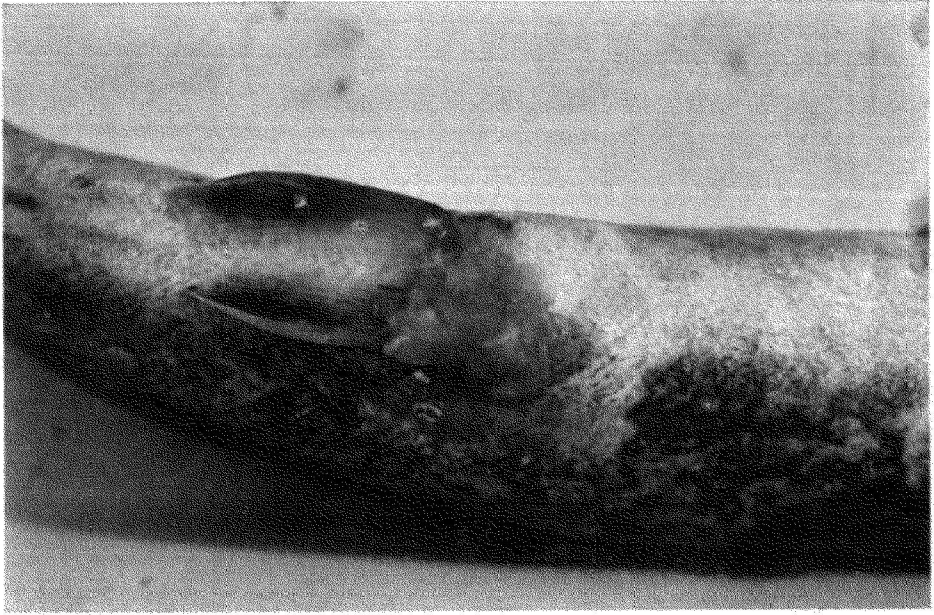


Fig. 1 — Saumon atlantique (*Salmo salar*) : hémorragies pelviennes précédant l'ulcération.



Fig. 2 — Saumon atlantique : lésions ulcéreuses de la région céphalique.

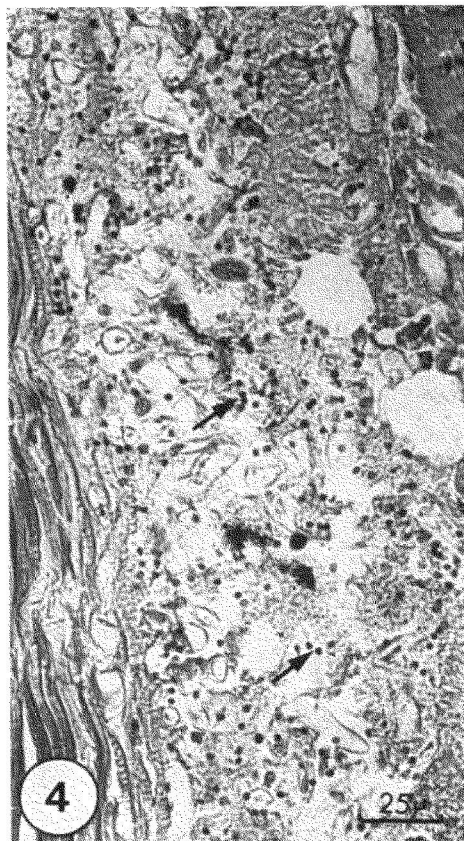
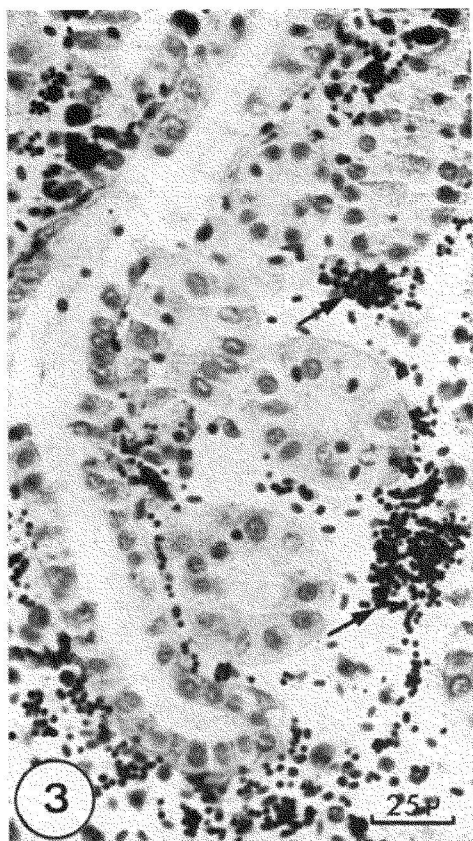


Fig. 3 — Rein de truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri*) infesté par des spores (flèches) très abondantes dans le tissu interstitiel.

Fig. 4 — Muscle strié de la région médio dorsale d'une truite fario (*Salmo trutta fario*). Les spores (flèches) sont très nombreuses dans les parties musculaires lysées.

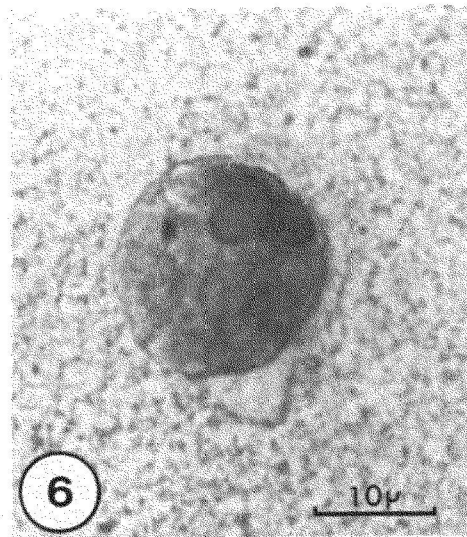
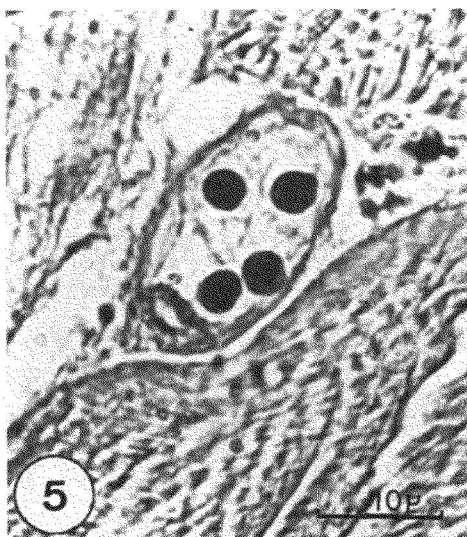


Fig. 5 — Forme végétative (schizonte) à 4 noyaux, insérée entre les fibres de la musculature dorsale d'une truite arc-en-ciel adulte.

Fig. 6 — Jeune pansporoblaste en voie de division dans le vitellus d'un alevin de truite arc-en-ciel.