

## **EPIDÉMIOLOGIE DE LA FURONCULOSE DES SALMONIDES \***

**I. ETUDE EXPERIMENTALE DES CONDITIONS DE SURVIE ET DE MULTIPLICATION DE *AEROMONAS SALMONICIDA* DANS UN ENVIRONNEMENT ABIOTIQUE.**

**Annie DUBOIS-DARNAUDPEYS**

LABORATOIRE CENTRAL DE RECHERCHES VETERINAIRES

22, rue Pierre-Curie

94700 MAISONS-ALFORT

Ministère de l'Agriculture - Direction de la Qualité - Services Vétérinaires

avec la collaboration technique de

**Marie-Hélène ARGENCE, Monique CAPARROS, Geneviève DEHAND**

---

### RESUME :

Dans des eaux de qualité physico-chimique différente, la survie de *A. salmonicida* est fonction de la minéralisation, de la température et du pH de celles-ci. Dans les sédiments et dans un broyat végétal la bactérie se multiplie. L'intensité de multiplication est liée à la qualité nutritive du substrat.

\* Ces travaux ont été présentés dans le cadre d'une thèse de doctorat de l'Université Pierre et Marie Curie, Paris (1976).

## I. - INTRODUCTION

*Aeromonas salmonicida* n'a été isolé que dans des eaux renfermant des poissons et, pour cela, est considéré comme un parasite obligatoire. Cependant cette conception n'est pas entièrement satisfaisante (SNIESKO, 1974) car certains travaux antérieurs auraient montré que le germe était capable de mener, au moins temporairement, une existence autonome (DUFF, McARTHUR, THOMPSON, 1940, LEE HERMAN, 1968). Les poissons pourraient alors se contaminer à partir de l'environnement et non directement à partir d'une bactérie juste émise par un porteur de germes.

Nous avons donc entrepris l'étude du devenir d'*Aeromonas salmonicida* dans différentes conditions de milieu et l'objet de cet article concerne son comportement dans un milieu abiotique dans des conditions expérimentales.

## II. - MATERIEL ET TECHNIQUES

### 1. Technique microbiologique

La souche de *A. salmonicida* n° 116.72, de forme lisse, est originaire du même secteur de rivière que l'eau, les sédiments et la végétation. Elle est entretenue à + 26° C sur gélose trypticase de soya (TSA ; B.D. MERIEUX) recouverte d'un disque de cellophane (Liu, 1957). La suspension bactérienne est réalisée en reprenant dans de l'eau distillée la culture plaquée sur la membrane ; elle sert ensuite à ensemercer les divers échantillons d'eau et de sédiment. Un volume de 1 ml de ces derniers est dilué de 10 en 10 dans de l'eau distillée et les numérations sont effectuées en boîtes de Pétri par étalement au rateau de 0,1 ml de chaque dilution (3 boîtes par dilution).

### 2. Caractéristiques physicochimiques des eaux

L'étude a porté sur 3 types d'eau : eau distillée, eau minérale, eau de rivière dont les caractéristiques sont données dans le tableau n° 1. Le pH de l'eau distillée est ajusté aux valeurs respectives de 7,0 et 8,2 - 8,6 par addition de soude diluée. On opère sur des suspensions de 100 ml. Le niveau du pH est celui de l'eau avant introduction de la bactérie. Ces eaux sont stérilisées par filtration sur une membrane Millipore de porosité 0,45  $\mu$  et l'absence de bactériophage spécifique de *A. Salmonicida* est vérifiée dans chacune d'elle

**Tableau 1 - Analyse physico-chimique des eaux.**

	Eau distillée	Eau minérale	Eau de rivière
pH	6,10	7,85	7,90
Conductivité à 20° C	0,3 $\mu\text{S}/\text{cm}/\text{cm}^2$	115 $\mu\text{S}/\text{cm}/\text{cm}^2$	250 $\mu\text{S}/\text{cm}/\text{cm}^2$
Ammoniaque	0,195 mg/l	0,234 mg/l	1,30 mg/l
Nitrites	0,05 mg/l	0,02 mg/l	0,12 mg/l
Nitrates	8,8 mg/l	10,1 mg/l	31,9 mg/l
Calcium	0 mg/l	48 mg/l	92 mg/l
Magnésium	0 mg/l	32,5 mg/l	37,72 mg/l
Alcalinité totale	10 mg/l	155 mg/l	220 mg/l
Chlorures	0 mg/l	40 mg/l	17,5 mg/l
Dureté totale	0 mg/l	160 mg/l	240 mg/l
Manganèse	0,15 mg/l	1,30 mg/l	2,25 mg/l
Fer	0,15 mg/l	0,10 mg/l	0,10 mg/l
Sulfates	5 mg/l	25 mg/l	15 mg/l
Phosphates (ortho)	0,15 mg/l	0,15 mg/l	0,55 mg/l
Hydrogène sulfuré	négatif	négatif	négatif

### 3. Caractéristiques des sédiments

L'échantillon n° 1 est une vase argilo-limoneuse fortement organique tandis que le n° 3.1 récolté en aval immédiat d'une pisciculture est un sédiment détritique à dominance organique constitué essentiellement par les fèces et déchets de granulés alimentaires. L'échantillon n° 3.2, prélevé plus loin en aval, est une vase présentant une texture très voisine de celle du point 1.

De l'eau de rivière est alors additionnée de vase (50 g + 150 ml d'eau) et le mélange est autoclavé (+ 120° C/20 min) avant d'être inoculé.

### 4. Caractéristiques de la végétation

Un mélange de 30 g de callitriche et briophyte sont broyés dans 150 ml d'eau de rivière puis autoclavés (+ 120° C/20 mn). Le pH est de 6,0. Des échantillons de 10 ml de broyat végétal sont inoculés avec une goutte d'une même suspension bactérienne. Après 40 h à + 26° C, ils sont successivement repiqués à 20 reprises dans les mêmes conditions. L'identification bactérienne de contrôle est effectuée lors de chaque subculture.

## III. - RESULTATS

### Survie dans l'eau

La viabilité du germe varie selon les conditions expérimentales (limite 50 jours) mais aucune multiplication n'a été démontrée.

Dans l'eau distillée à pH 6,1, aucune survie n'est enregistrée après 24 h quelle que soit la température. A pH neutre, c'est à + 14° C que la conservation est la meilleure (23 jours), de même qu'à pH 8,2 - 8,6 où elle est de 2 semaines (Fig. 1).

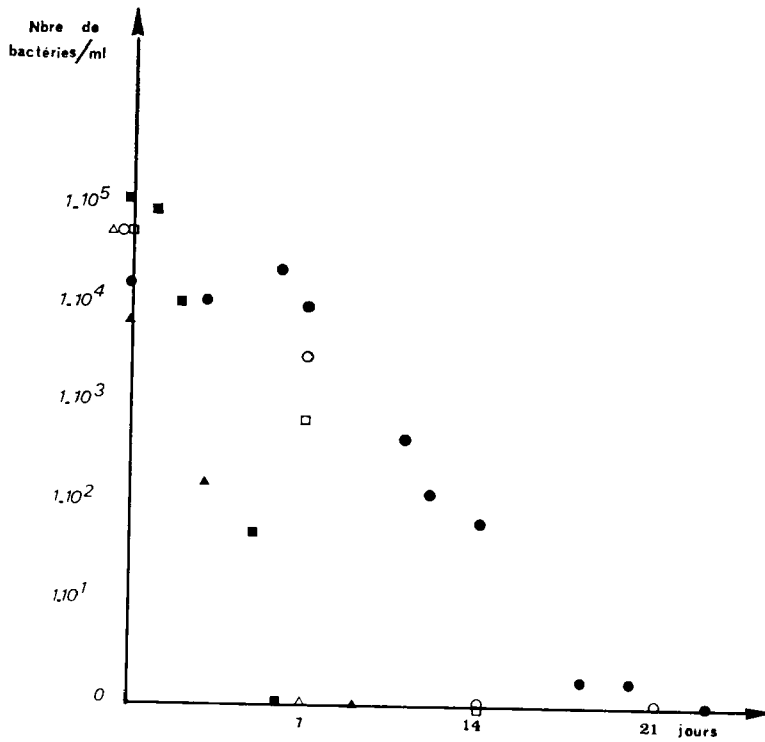


Figure 1 - Conservation de *A. salmonicida* dans de l'eau distillée à pH 7 et de l'eau distillée à pH 8,2 - 8,6 en fonction de la température.

- ▲ eau distillée pH 7 conservée à + 4° C
- eau distillée pH 7 conservée à + 14° C
- eau distillée pH 7 conservée à + 22° C
- △ eau distillée pH 8,2 - 8,6 conservée à + 4° C
- eau distillée pH 8,2 - 8,6 conservée à + 14° C
- eau distillée pH 8,2 - 8,6 conservée à + 22° C

Dans l'eau minérale (pH 7,85) et dans l'eau de rivière (pH 7,90), c'est à + 4° C que la survie est la meilleure (voisine de 50 jours). A + 14° C celle-ci est voisine de 21 jours et seulement de 15 jours à + 22° C (Fig. 2). Ces expérimentations réalisées en double ne nous permettent pas d'expliquer pourquoi la bactérie se conserve de façon optimale à + 14° C dans l'eau distillée et à + 4° C dans l'eau minérale et dans l'eau de rivière.

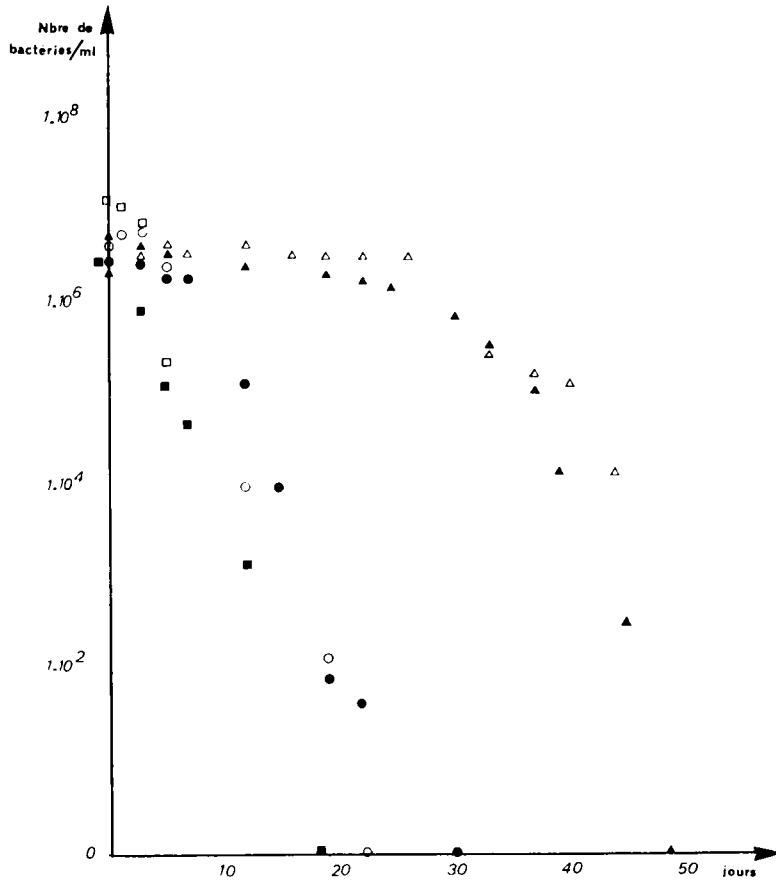


Figure 2 - Conservation de *A. salmonicida* dans de l'eau de rivière et de l'eau minérale, en fonction de la température.

- ▲ eau de rivière à + 4° C
- eau de rivière à + 14° C
- eau de rivière à + 22° C
- △ eau minérale à + 4° C
- eau minérale à + 14° C
- eau minérale à + 22° C

#### Multiplication dans les sédiments

La multiplication ainsi que la conservation de la bactérie varient selon les conditions expérimentales. Après 3 semaines, c'est à + 14° C que le titre bactérien est le plus élevé, mais celui-ci est dépendant de la qualité des sédiments. La vase 3.1 enrichie en déchets de pisciculture permet un meilleur maintien de la bactérie que la vase 3.2. La vase 1 est le moins bon support nutritionnel (Fig. 3).



Dans les essais de survie de *A. salmonicida* dans les différentes eaux, la concentration en germes au départ est la concentration théorique (c'est-à-dire le résultat de x ml de suspension mère servant à ensemençer y ml d'échantillon). En réalité, lorsque nous introduisons la bactérie dans l'eau, nous observons une chute du titre très importante, due peut-être à une lyse osmotique.

L'expérimentation a montré que *A. salmonicida* survivait dans l'eau. Nos résultats voisins de 47 jours sont proches de ceux de DUFF (1940) qui mentionne une survie comprise entre 13 et 67 jours. Celle-ci semble être fonction de la minéralisation, de la température et du pH. Nous avons mis en évidence la multiplication bactérienne de notre germe dans les sédiments et dans un broyat végétal. HENDRICKS (1971-72) et WOOD (1973) avaient montré que des souches d'Entérobactéries étaient capables de métaboliser les substrats des sédiments ; par contre, nous ne possédons aucune référence bibliographique concernant le devenir bactérien au niveau des végétaux.

Nous concluons que les conditions d'environnement permettant la multiplication et le maintien de *A. salmonicida* correspondent à la période estivale lorsque les eaux à Salmonidés se réchauffent et atteignent + 14° C. A l'aval immédiat d'une pisciculture, les facteurs abiotiques stimulants, température et richesse organique seraient favorables à la présence du germe.

Mais dans l'environnement à côté des facteurs abiotiques existent des facteurs microbiotiques limitants.

L'étude de leur rôle et de leurs effets sur la dynamique des populations de *A. salmonicida* fera l'objet d'une publication ultérieure.

## REMERCIEMENTS

Je remercie Monsieur G. TUFFERY et Mademoiselle A.M. BAUDOY du Laboratoire Central de Recherches Vétérinaires d'Alfort pour leurs suggestions et critiques dans la réalisation de ce travail.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- DUFF D.C.B., Mc ARTHUR M.I., THOMPSON H.G., 1940. Observations on the viability of *Bacterium Salmonicida*. J. Fish. Res. Bd. Can. 5 (1).
- HENDRICKS C.W., 1971. Enteric bacterial metabolism of stream sediment eluates. Can. J. Microbiol. 17, 551-556.
- HENDRICKS C.W., 1971. Increased recovery rate of *Salmonella* from stream bottom sediments versus surface waters. Appl. Microbiol. 21, 2, 379-380.
- HENDRICKS C.W., 1972. Enteric bacterial growth rates in river water. Appl. Microbiol. 24, 2, 168-174.
- LEE HERMANN R., 1968. Fish furunculosis transactions of the American Fisheries Society, vol. 97, N° 3, 221-230.
- LIU, P.U. 1957. Survey of hemolysin production among species of *Pseudomonas*. J. Bacteriol. Tome 74, 718-727.
- SMITH, I., 1960. Furunculosis in Salmon helts. Nature. 28, 733-734.
- SNIESKO, S.F., 1974. Furunculose des Salmonidés. EIFAC/T 17 (suppl. 2), 163-169.