

EMPLOI DE LA FLUMEQUINE CONTRE LA FURONCULOSE DES SALMONIDES : ESSAIS THERAPEUTIQUES ET PERSPECTIVES PRATIQUES

C. MICHEL (1), J.-P. GERARD (1), Bernadette FOURBET (1)
R. COLLAS (2) et R. CHEVALIER (2)

La Furunculose à *Aeromonas salmonicida* est présentement la première cause de mortalité bactérienne pour les Salmonidés élevés en eau douce. Les moyens de contrôle dont on dispose ne reposent que sur la thérapeutique, et encore sont-ils limités par le seul mode d'administration pratique lorsqu'il s'agit d'effectifs maintenus dans d'importants volumes d'eau : la voie orale. La panoplie des antibactériens utilisables se limite aux tétracyclines, au chloramphénicol, aux sulfamides (parfois associés au triméthoprim) et à certains furanes. Les échecs thérapeutiques dûs aux résistances à l'égard de ces agents n'étant pas

(1) *Laboratoire d'Ichtyopathologie — INRA —
Route de Thiverval — 78850 Thiverval-Grignon — France*

(2) *Laboratoires RIKER
Avenue du 11 Novembre — Z.I. — 45300 Pithiviers — France*

rares, toute nouvelle molécule assimilable par ingestion et capable de s'opposer au développement d'*Aeromonas salmonicida* constituera un moyen de lutte intéressant, à condition que les doses actives soient compatibles avec un prix de revient réaliste.

I. CARACTERISTIQUES DE LA FLUMEQUINE

La fluméquine est une molécule de la famille des quinolones (fig. 1) dont la synthèse a été réalisée par les laboratoires RIKER, et dont l'usage comme agent antibactérien s'est largement répandu chez l'Homme (sous le nom d'Apurone) et chez différentes espèces animales (BENOTHMANE, 1979). Son action, de type bactéricide, s'exerce sur les germes Gram négatifs et sur les staphylocoques. Les colibacilles sont particulièrement sensibles, mais une très bonne activité existe aussi à l'encontre des genres *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Klebsiella* et *Yersinia* (J. OUDAR, rapport d'expertise clinique). De plus, sa faible taille moléculaire lui permet de passer aisément la barrière intestinale après administration orale, et d'être très rapidement métabolisée. L'expérience acquise sur les animaux supérieurs révèle une élimination rapide (moins de 48 heures), un risque très faible d'observation de résistances (aucune résistance extra-chromosomique n'a été observée à ce jour), et une toxicité quasiment nulle, n'apparaissant qu'à des doses plusieurs centaines de fois supérieures à la posologie préconisée.

Nous avons pris l'habitude depuis plusieurs mois d'ajouter un disque de fluméquine dans les antibiogrammes effectués au laboratoire. Toutes les souches d'*A. salmonicida* identifiées ont révélé des diamètres d'inhibition de croissance supérieurs à 20 mm. Ces valeurs indiquant la sensibilité du germe à la fluméquine, nous avons entrepris un programme d'essais thérapeutiques, essais opérés uniquement en installations expérimentales. Un modèle d'infection relativement bien standardisé, récemment établi (MICHEL, 1980), a permis d'effectuer ce préalable indispensable à toute étude de terrain.

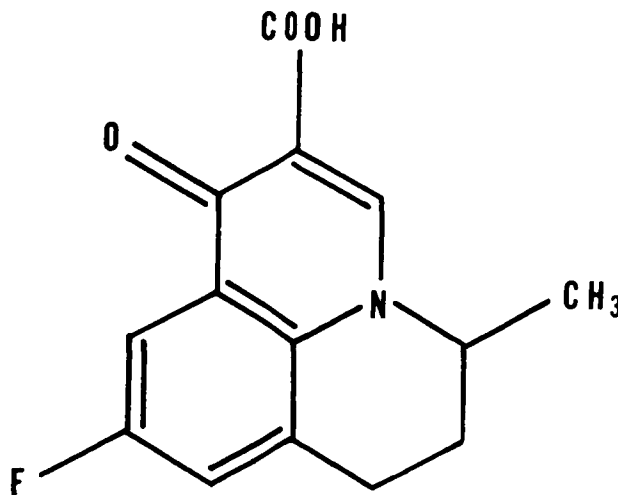


Fig. 1 : Formule chimique de la fluméquine

II. ESSAIS THERAPEUTIQUES CHEZ LA TRUITE : METHODOLOGIE

Poissons

Des truitelles Arc-en-Ciel (*Salmo gairdneri*) et Fario (*Salmo trutta*) ont été employées. Les poids moyens de ces truitelles ont un peu varié avec le temps : 7 à 13 g pour les premières, 5 à 6,5 g pour les secondes. Les doses létales 50 p. 100 (DL 50) des souches bactériennes, établies au tout début de l'expérimentation, n'étaient donc plus valables à la fin, et il fallait corriger les doses injectées. Quelques jours avant l'expérience, les poissons étaient répartis par groupes de 30 dans des aquariums à eau perdue de 12 litres, l'eau d'alimentation étant chauffée à 15° C et le débit réglé à environ 30 litres/heure.

Souches bactériennes

Deux souches pathogènes d'*A. salmonicida*, isolées et entretenues à Grignon, ont servi aux épreuves. Leur virulence, exprimée en DL 50, a été déterminée par la méthode des moyennes mobiles (MEYNELL et MEYNELL, 1970) avant toute étude et a donné les valeurs suivantes :

TG 36/75 : T. Arc-en-Ciel 700 b (voie intramusculaire, IM)

TG 72/78 : T. Arc-en-Ciel 800 b (IM)

T. Fario 400 b (IM)

Les suspensions virulentes étaient produites sur bouillon trypticase-soja agité à 22° C et récoltées vers la 18^e heure. L'ajustement des doses se faisait par dilution en eau physiologique après lecture de la turbidité au spectrophotomètre (525 nm).

Infection expérimentale

Le modèle employé permet de développer en 10 jours, dans une eau de 15° C, une infection de type aigu consécutive à l'injection intramusculaire d'une quantité connue de bactéries. L'injection est pratiquée sous un volume de 0,1 ml après anesthésie par 100 ppm de MS 222 (SANDOZ).

Deux doses d'épreuve ont été retenues par référence aux DL 50. La première correspondait à la DL 50 proprement dite, la seconde à 10 fois cette valeur, ce qui représente une situation peu probable dans les conditions naturelles.

Contrôle de la tolérance des truitelles à la fluméquine

Pour déceler tout risque de toxicité du Flumix, des doses de 10 fois la quantité prescrite chez les Mammifères ont été administrées *per os* pendant 15 jours à des truitelles Arc-en-Ciel, avant toute expérimentation. Des administrations uniques de fluméquine pure allant jusqu'à 2 g/kg PV ont également été faites sur des lots de 10 truitelles.

Modalités du traitement

Un aliment médicamenteux a été préparé par mélange du granulé habituellement distribué avec le Flumix (Fluméquine poudre), présentation du produit spécialement destinée à l'administration orale. La durée du traitement a été fixée à 6 jours. Au cours de l'étude, la dose de référence D était celle prescrite pour les Mammifères, soit 20 g de Flumix (à 3 % de fluméquine) par 100 kg de poids vif (PV) et par jour. Les animaux étant nourris à 1 p. 100 du PV, la quantité de produit employée pour cette dose D était de 20 g/kg d'aliment. Nous avons également usé de doses 2 fois (D x 2) et 4 fois (D x 4) supérieures. Classiquement, les posologies utilisées dans l'administration d'antibiotiques aux poissons sont doubles de celles des Mammifères.

L'aliment était distribué en 2 repas quotidiens, et le traitement était normalement engagé le jour même de l'épreuve. Dans une expérience, cependant, il a été différé jusqu'à la 20^e heure après infection.

III. RESULTATS DES ESSAIS

Absence de toxicité aigüe

Aucune anomalie n'a été décelée dans le comportement des animaux ayant reçu pendant 15 jours des doses quotidiennes de 2 g de Flumix par kg de PV. De même, pour les animaux ayant reçu en une fois des doses de 0,5 à 2 g de fluméquine pure. Nous avons conclu à l'absence de toxicité aigüe de la fluméquine pour la Truite.

Efficacité thérapeutique de la fluméquine

● Cas des animaux traités dès le jour de l'épreuve.

Dans tous les cas les traitements à la fluméquine ont permis d'abaisser sensiblement les taux de mortalité par rapport aux témoins. Les résultats pour plus de clarté, sont présentés en fonction des paramètres que nous avons fait varier. Dans les tableaux suivants le degré de protection est exprimé par la différence D entre les pourcentages de pertes par Furonculose chez les témoins et les animaux traités.

a) **Espèce** (tableau 1)

Pour une dose quotidienne de 40 g/100 kg PV (dose usuelle « poissons ») les truitelles Fario et Arc-en-Ciel sont aussi bien protégées, le degré de protection dans tous les cas avoisinant 60 p. 100.

Tableau 1 : Prévention de la Furunculose chez 2 espèces de truites (souche *A. salmonicida* 72/78 : épreuve \approx 1 DL 50)

Prevention of furunculosis by flumequine in 2 trout species (strain *A. salmonicida* 72/78 : infection dose \approx 1 LD 50)

Espèce	Truite Arc-en-Ciel		Truite Fario	
Dose d'épreuve	940 b. I.M.		430 b. I.M.	
Dose de fluméquine	T = témoins	D x 2	T = témoins	D x 2
Mortalités	22/30	2/30	18/30	0/29
Pourcentages	73 %	6,5 %	60 %	0
Δ	66,5 %		60 %	

$\Delta = (\% \text{ témoins} - \% \text{ traités})$

b) **Souches bactériennes** (tableau 2)

Tableau 2 : Protections obtenues avec 2 souches différentes d'*A. salmonicida* sur Truite Arc-en-Ciel (lots de 30 truitelles).

Protection against 2 different strains of *A. salmonicida* in rainbow trout (batches of 30 fingerlings)

Souche	TG 36/75					TG 72/78				
	720 b I.M. (\approx 1 DL 50)			7200 b I.M. (\approx 10 DL 50)		940 b I.M. (\approx 1 DL 50)			9400 b I.M. (\approx 10 DL 50)	
Dose de flumequine	T	D x 2	D x 4	T	D x 4	T	D x 2	D x 4	T	D x 4
Mortalités	15	0	0	23	3	22	2	1	28	1
Pourcentages	50 %	0	0	76,5 %	10 %	73 %	6,5 %	3 %	93 %	3 %
Δ		50 %	50 %	66,5 %		66,5 %			70 %	90 %

L'étude sur truitelles Arc-en-Ciel, avec différentes doses d'agent antibactérien et diverses doses d'épreuve, fait apparaître un taux de protection un peu meilleur envers la souche TG 72/78 qu'avec la souche TG 36/75. Il est difficile d'invoquer comme raison la virulence (guère plus élevée) de cette dernière ; mais les conditions expérimentales peuvent avoir joué, la dose de 72/78 injectée ayant tué près de 75 p. 100 des témoins (cf. doses d'épreuve). On peut cependant constater l'évidente efficacité du traitement dans les deux cas.

c) Dose thérapeutique (tableau 3)

Tableau 3 : Influence de la dose thérapeutique sur la protection contre la Furunculose (Dose d'épreuve \approx 1 DL 50)

Effect of therapeutic doses in protection against Furunculosis (infectious dose \approx LD 50)

Souche	TG 36/75			TG 72/78					
Espèce	Arc-en-Ciel						Fario		
Dose d'épreuve	720 b I.M			940 b I.M			430 b I.M		
Dose de fluméquine	T	D x 2	D x 4	T	D x 2	D x 4	T	D	D x 2
Mortalités	15/30	0/30	0/30	22/30	2/30	1/30	18/30	1/28	0/29
Pourcentages	50 %	0	0	73 %	6,5 %	3 %	60 %	3,5 %	0
Δ		50 %	50 %		66,5 %	70 %		56,5 %	60 %

La comparaison des résultats pour une même espèce et une même souche bactérienne ne fait pas apparaître de différence sensible quelle que soit la dose de Flumix administrée. Même la dose prescrite pour Mammifères (D) paraît très efficace. En pratique cependant, il vaudra mieux utiliser la dose de 40 g/100 kg PV afin de compenser les aléas dans l'appréciation des quantités à traiter et dans le comportement alimentaire des truitelles.

d) Doses d'épreuve (tableau 4)

Tableau 4 : Influence de la dose d'épreuve sur le taux de protection observé (Truitelles Arc-en-Ciel - lots de 30 poissons)

Effect of infectious doses on the degree of protection (rainbow trout fingerlings : batches of 30 fish)

Souche	TG 36/75 R				TG 72/78 R			
Dose d'épreuve	720 b I.M. (\approx 1 DL 50)		7200 b I.M. (\approx 10 DL 50)		940 b I.M. (\approx 1 DL 50)		9400 b I.M. (\approx 10 DL 50)	
Dose de fluméquine	T	D x 4	T	D x 4	T	D x 4	T	D x 4
Mortalités	15	0	23	3	22	1	28	1
Pourcentages	50 %	0	76,5 %	10 %	73 %	3 %	93 %	3 %
Δ	50 %		66,5 %		70 %		90 %	

Les taux de protection sont d'autant plus élevés que la dose inoculée est forte. Ceci traduit en fait l'augmentation des pertes parmi les animaux témoins. On remarquera essentiellement que la protection, lors d'infections capables d'éliminer la quasi-totalité du cheptel, demeure très efficace.

● Importance du moment d'administration du médicament par rapport au moment de l'infection (tableau 5)

Tableau 5 : Comparaison des résultats d'un traitement différé de 20 heures après l'infection, par rapport au traitement simultané. (Souche TG 72/78 ; dose infectieuse \approx 1 DL 50, t_0 = moment de l'infection)

Comparative results of 20 hrs delayed and without delay treatments after infection (strain TG 72/78 ; infective doses \approx 1 LD 50 ; t_0 = infection time)

Especce	Truite Arc-en-Ciel				Truite Fario					
	t_0		$t_0 + 20 \text{ h}$		t_0			$t_0 + 20 \text{ h}$		
Debut du traitement (en heures)										
Dose d'épreuve	940 b I M (1)		2500 b I M (1)		430 b I M			560 b I M		
Dose de flumequine	T	D x 2	T	D x 2	T	D	D x 2	T	D	D x 2
Mortalités	22/30	2/30	22/30	14/30	18/30	1/28	0/29	24/29	21/28	2/29
Pourcentages	73 %	6.5 %	73 %	46.5 %	60 %	3.5 %	0	83 %	75 %	7 %
Δ	66.5 %		26.5 %		56.5 %			60 %		
								8 %		
								76 %		

(1) La différence des DL 50 est due à l'accroissement de poids des truitelles au cours des expérimentations.

La comparaison des résultats obtenus, selon que le traitement est mis en œuvre sur le champ ou différé de près d'une journée après infection, révèle dans le dernier cas une efficacité plus réduite. Une exception est constituée par la dernière colonne du tableau 5 (dose D x 2 sur truitelles fario), qui indique dans l'aquarium concerné une protection effective. Cette exception, attribuée à un effet « bac », montre que ce n'est pas l'efficacité de la fluméquine qui est en cause. On sait en effet que les poissons malades cessent de s'alimenter, et c'est vraisemblablement le refus de l'aliment par des animaux chez lesquels la maladie a eu le temps d'évoluer qui explique la moindre efficacité du traitement. Comme tous les anti-infectieux utilisés oralement chez le poisson, la fluméquine n'agit que sur les animaux capables de s'alimenter.

IV. POSSIBILITES D'UTILISATION PRATIQUE EN PISCICULTURE

Les résultats obtenus montrent que la fluméquine peut constituer une arme très utile contre la Furunculose, si l'on respecte les règles générales préconisées pour tout traitement anti-microbien en pisciculture : mise en œuvre précoce, doses suffisantes et administration prolongée (MICHEL, 1978).

Pour le poisson, la présentation à utiliser sera la poudre (Fluméquine-poudre, ou Flumix), qui contient 3 % du principe actif fluméquine. En cas de besoin, on pourra se la procurer auprès des vétérinaires (pots de 500 g, 1 ou 5 kg) afin de préparer un concentré médicamenteux, selon la manière indiquée ci-dessous. Les poissons étant habitués à un aliment de granulométrie et de fabrication données, il sera préférable pour des raisons d'appétence d'administrer le traitement avec cet aliment.

Le Flumix et les granulés (dose conseillée : 40 g/kg d'aliment) sont brassés dans un mélangeur (boule à laver le linge ou mélangeur à ciment) jusqu'à obtenir une teinte parfaitement homogène. On ajoute alors de l'huile de tournesol

à raison d'un litre par 50 kg d'aliment, et l'on attend que tous les granulés aient à nouveau pris une couleur homogène avant l'emploi. La fluméquine étant très stable on peut dès le premier jour préparer la quantité d'aliment médicamenteux nécessaire aux 6 jours de traitement, le stockage devant être assuré comme pour tout aliment, au frais et à l'abri de l'humidité.

Les poissons seront nourris chaque jour à 1 p. 100 de leur poids vif, et cette dose sera fractionnée en 2 repas : un le matin et un le soir. Cette façon de procéder prévient tout gaspillage et assure des taux de concentration tissulaire élevés et assez constants en produit actif durant tout le traitement.

CONCLUSION

La fluméquine s'est révélée active au cours de nos essais expérimentaux, tout en ne présentant aucun effet néfaste décelable à des doses 5 fois supérieures à celle que nous conseillons. Correctement utilisée, cette formule devrait se révéler une parade tout-à-fait intéressante aux maladies bactériennes de pisciculture. Parfaitement acceptée par les animaux, douée d'une efficacité certaine contre l'agent de la Furunculose, elle n'affiche pas un prix de revient supérieur à celui de la plupart des traitements habituellement préconisés.

Le travail expérimental a été effectué dans le cadre du contrat INRA-Conseil Supérieur de la Pêche n° 65.1278.

BIBLIOGRAPHIE

- BENOTHMANE A. Contribution à l'étude de la fluméquine. Applications thérapeutiques en Médecine vétérinaire. Th. Doct. Vet. Lyon 1979.
- MEYNELL G.G. et MEYNELL E. Theory and practice in experimental bacteriology. 2nd ed. 1970. Cambridge Univ. Press.
- MICHEL C. Sur l'utilisation des antibiotiques en pisciculture. Note technique n° 11. Bulletin Fr. Pis. 269, 207-209, 1978.
- MICHEL C. A standardized model of experimental furunculosis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Can. J. of Fish. Aqua. Sc.* 37 : 746-750, 1980.
- LOUDAR J. Rapport d'expertise clinique.

SUMMARY

The bactericidal activity of the flumequine, a synthetic derivative of the « quinolones » family, has been recently recognized and has resulted in its common use in human and veterinary medicine. The availability of an artificial model of trout furunculosis allowed to test its curative properties in *Aeromonas salmonicida* infection.

For this purpose, we have used 2 species of trout (*Salmo gairdneri* and *S. trutta*), and 2 pathogenic strains of which LD 50 ranged initially from 400 to 800 bacteria/fish, intramuscularly (IM). Fish, divided in 3 groups, received respecti-

vely 20 g, 40 g and 80 g of Flumix (flumequine powder with 3% of active component) per 100 kg of b.w./day during 6 days, representing 1, 2 and 4 times the mammalian dose. The drug was stuck on dry pellets supplied twice a day as 1% of b.w. Fingerlings were arranged in 30 subjects groups maintained in 15°C flow-through tanks, and experimentally infected by IM injection of about 1 or 10 LD 50.

A preliminary administration of 200 g/100 kg of fish of Flumix was done on a sample during a fortnight and did not result in any observation of acute toxicity. A conspicuous protective effect of the drug was noticed in all cases the treatment was carried on at the same day as the infection. Differences between mortality percentages in controls and treated fish were about 60 p. 100, whatever the trout species and the bacterial strain. Variations were of trifling importance according to the therapeutic doses, and when testing fish with high doses of pathogen (\approx 10 LD 50) the effect seemed better, resulting of the higher mortality of controls. In some cases, the treatment was started 20 hours after inoculation of *Aeromonas*. Except in one case, the protection was then very lowered, and this has been ascribed to the loss of appetite of diseased subjects.

In conclusion, the efficacy of flumequine treatments in control of furunculosis is stated and some practical indications are given. The dose of 40 g/100 kg of fish of flumequine powder (40 g/kg of food when feeding at 1%) is recommended for fish, diet being distributed in 2 meals, and the rules of every other antimicrobial treatments being respected.