

Les ombles chevaliers du Léman sont-ils menacés par la maladie rénale bactérienne (MRB)?

Jean-François RUBIN^{1,2} et Thomas WAHLI³

Abstract

Is Arctic char in lake Geneva endangered by Bacterial Kidney Disease? - The catch of Arctic char in Lake Geneva experienced a remarkable decrease since 1998, even though the fishing legislation did not change and the stocking efforts remained at the same level. It is hypothesized that Bacterial Kidney Disease (BKD) may at least partly be involved in this phenomenon by inducing increased mortality rates. In the laboratory, the presence of BKD can be detected successfully by immunohistological techniques. Investigations demonstrated the disease to be present in Lake Geneva, although at a very low level (0.6% of the 331 fish observed in 2004 and 0% of the 142 fish observed in 2005). The disease by itself can thus not explain the decrease observed in the catch of Arctic char in Lake Geneva.

Key-words: *Salvelinus alpinus*, Léman Bacterial Kidney Disease, BKD, population dynamics

Résumé

Les captures d'ombles dans le Léman sont en nette diminution depuis 1998 alors que la législation sur la pêche n'a pas changé et que les efforts de repeuplement restent constants. Différentes hypothèses sont envisageables pour expliquer ce phénomène, parmi celles-ci le développement de la Maladie Rénale Bactérienne (MRB) induisant une mortalité accrue des poissons. En laboratoire, on peut tester efficacement la présence de la MRB par immunohistologie. L'étude montre que la maladie apparaît bien être présente dans le Léman, toutefois à un taux très faible (0.6% de poissons infectés en 2004 sur un échantillon de 331 individus, 0% en 2005 sur un échantillon de 142 poissons). Elle ne peut donc pas à elle seule expliquer les diminutions observées dans les captures.

Mots-clés: *Salvelinus alpinus*, Léman, maladie rénale bactérienne, MRB, dynamique de population

Introduction

L'omble chevalier, *Salvelinus alpinus* (L.), est un poisson noble qui a toujours fait partie de la faune piscicole du Léman (Forel, 1904). Or, la population d'omble chevalier est menacée et les captures se font plus rares, alors que dans le même temps, l'effort de repeuplement n'a pas diminué. Plusieurs hypothèses peuvent être évoquées pour expliquer ce phénomène, parmi lesquelles:

- 1. une gestion piscicole non adaptée à la biologie de la population actuelle permettant la capture de nombreux individus immatures,

- 2. une diminution de la réussite de la reproduction naturelle liée à la disponibilité des frayères ou à la qualité de l'eau,
- 3. un accroissement de la compétition interspécifique avec notamment une augmentation de la prédation par le brochet, *Esox lucius*,
- 4. une baisse de l'immunoséquence des ombles liée à la dégradation de la qualité de l'eau (même si le Léman est en phase de réoligotrophisation, certains produits toxiques continuent d'être présents en quantité importante dans les eaux),
- 5. le développement d'une maladie, la maladie rénale bactérienne. C'est cette dernière hypothèse qui fait l'objet de la présente étude.

¹ Institut Terre-Nature-Paysage, Ecole d'Ingénieurs de Lullier de la HES-SO / GE, Route de Presinge, CH-1254 Jussy.

² Musée du Léman, Quai Louis Bonnard 8, CH-1260 Nyon.

³ Centre for Fish and Wildlife Health. Institute of Animal Pathology, University of Berne. Länggassstrasse 122, CH-3012 Berne.

Bien que la corrélation ne soit pas forcément évidente, la diminution des effectifs d'ombles capturés traduit probablement dans une certaine mesure celle de la population effective du Léman, aucune modification de lois n'étant survenue récemment qui pourrait induire une diminution de la pression de pêche. Cette diminution pourrait être liée à l'apparition d'une maladie, la Maladie Rénale Bactérienne (MRB) ou Bacterial Kidney Disease (BKD), chez les ombles du Léman. Cette maladie est chronique dans les populations de salmonidés (Parodi *et al.* 1999). Toutefois, en fonction du stress du poisson, elle peut induire une mortalité importante, en tout cas en pisciculture. Ce stress peut notamment être lié à une surpopulation, induisant une augmentation de la densité en individus lorsque la niche écologique se sature. Il est dès lors possible qu'avec l'augmentation probable de la population naturelle d'ombles dans le Léman dans les années 90 (se traduisant par une augmentation observée des captures par les pêcheurs), des interactions intra-spécifiques ont induit une situation de stress supplémentaire, notamment à l'époque de la reproduction, se traduisant par une expression mortelle de la MRB chez les individus porteurs. Ainsi, la niche écologique étant saturée, la MRB pourrait jouer un rôle de régulateur en fonction de la densité en individus, stabilisant les effectifs à un certain seuil quelque soit l'effort de repeuplement 3 ans auparavant (la plupart des ombles étant capturés à cet âge là).

La MRB est causée par la bactérie *Renibacterium salmoninarum*, (RS). Il s'agit d'une maladie que l'on trouve à la fois dans les stocks d'élevage ou sauvages de salmonidés (Hamel 2001). Elle touche pratiquement toutes les espèces de salmonidés, mais pas les autres familles de poissons (Parodi *et al.* 1999). Elle a été décrite pour la première fois en 1930 dans deux populations écossaises sauvages de saumon atlantique, *Salmo salar*, sous le nom de *Dee disease*. En 1935, des lésions similaires furent observées dans une pisciculture nord-américaine de truites arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss*. Mais ce n'est qu'en 1956 seulement la bactérie fût mise en évidence et cultivée (Parodi *et al.* 1999). La maladie touche à la fois les salmonidés strictement dulçaquicoles ou diadromes. La bactérie peut induire un dysfonctionnement des reins, limitant ainsi fortement les possibilités d'osmorégulation des individus. En conséquence, les jeunes salmonidés infectés ne peuvent pas s'acclimater à l'eau de mer lors de la smoltification et meurent (Banner *et al.* 1983; Hamel 2001). La mortalité des smolts infectés de saumons coho, *O. kisutch*, était de 17% en eau douce et de 4% en eau de mer (Fryer & Sanders 1981). Cette maladie serait responsable de la diminution massive des peuplements de saumons chinook, *O. tshawytscha* et coho du lac Michigan. Aussi, depuis 1993, les gestionnaires de la pêche testent tous les poissons sauvages capturés pour l'élevage et les œufs ou les indivi-

du infectés sont systématiquement éliminés. Le transfert de la maladie peut être horizontal (de poisson à poisson) ou vertical (de parent à alevin) (Hamel 2001). L'infection peut se faire via de la nourriture ou de l'eau contaminée (bien que la bactérie ne survive pas longtemps hors de son hôte) ou par contact avec des poissons infectés (Parodi *et al.* 1999). La bactérie peut entrer et survivre à l'intérieur même des œufs d'une femelle et ainsi contaminer l'alevin dès sa naissance (Parodi *et al.* 1999). C'est d'ailleurs la seule maladie bactérienne connue qui puisse être transmise directement de la mère à l'œuf (Hamel 2001). Par contre, il ne semble pas y avoir de contamination via le sperme des mâles (Evelyn *et al.* 1986). La période d'incubation peut durer plusieurs mois, voir des années, en fonction de certains facteurs environnementaux comme le stress, la température, l'état sanitaire de l'hôte, le type de nourriture et la virulence de la souche bactérienne (Hamel 2001; Parodi *et al.* 1999). Une augmentation de la température peut induire une virulence accrue de la maladie. Les signes cliniques externes (branchies pâles, exophthalmie, distension abdominale, vésicules sur la peau, ulcères, hémorragies) peuvent n'apparaître que très tardivement, lorsque le poisson est âgé au minimum de 6-12 mois (Parodi *et al.* 1999). En aquaculture, cette maladie peut causer des pertes économiques importantes. Actuellement, il n'existe pas de vaccin efficace, ni d'antibiotiques performants. L'éradication de la maladie apparaît donc extrêmement difficile (Parodi *et al.* 1999). La désinfection des piscicultures contaminées est longue puisque la bactérie peut survivre près d'un mois dans le sédiment. Elle n'a de chance de succès que si les installations sont alimentées par de l'eau de source et si aucun poisson contaminé n'est plus introduit (Parodi *et al.* 1999).

Les questions auxquelles la présente étude a cherché à répondre étaient:

- 1. Peut-on mettre au point un protocole de laboratoire simple de dépistage de la maladie pour les poissons ayant des signes cliniques apparents, ainsi que pour les porteurs apparemment sains?
- 2. La MRB est-elle présente dans la population d'ombles chevaliers du Léman? si oui, dans quelle proportion?
- 3. La MRP est-elle susceptible d'induire une mortalité significative des ombles de la population sauvage?

Les réponses à ces questions pourraient être lourdes de conséquences en terme de gestion piscicole, mais cruciales pour assurer le maintien de l'omble dans le Léman. Ainsi par exemple, un dépistage systématique des géniteurs induirait un travail supplémentaire considérable. Il faudrait en effet extraire séparément les œufs de chaque femelle, puis examiner ses reins pour exclure les individus montrant des signes cliniques. Seulement à ce moment là, les œufs pourraient être mélangés dans la pisciculture. Même ainsi,

en l'absence d'un protocole rapide de dépistage, on risquerait néanmoins d'infecter le milieu si la femelle était apparemment saine, sans signes cliniques apparents, bien que porteuse de la bactérie. Ce dépistage pourrait néanmoins s'avérer essentiel dans la lutte contre la prolifération de la maladie, car une fois les individus infectés (déjà dans l'œuf), il devient pratiquement impossible d'éliminer totalement les bactéries en l'absence de traitement efficace. En effet, même la désinfection des œufs pendant 15 minutes dans un bain de solution iodée ne prévient pas la transmission verticale (Bruno & Munro 1986). Un accroissement de nos connaissances concernant cette maladie, son impact sur la population, et sur les moyens de lutte apparaissait dès lors totalement indispensable. C'était l'objet de cette étude.

Matériel et méthodes

Test des méthodes de détection en laboratoire

Cette étude a été menée par G. Chassot dans le cadre d'un programme d'occupation de 6 mois, au laboratoire national pour le diagnostic des maladies de poissons (NAFUS) du Centre pour la médecine des poissons et des animaux sauvages (FIWI) de l'Institut de pathologie animale de l'Université de Berne. Au total, 3 méthodes de diagnostic pour la MRB ont été évaluées: (1) la croissance sur gélose sélective type SKDM, (2) la croissance sur gélose non sélective type KDM, (3) par immunohistologie utilisant des anticorps monoclonaux (Aquatic Diagnostics, Stirling, Ecosse). Il s'agissait également d'obtenir une culture pure de bactéries pour de futures analyses.

Campagnes prospectives

Une première campagne d'échantillonnages a été menée par P.-A. Chevalley dans le cadre d'un stage au Musée du Léman. Du 13 septembre au 15 octobre 2004, 331 ombles chevaliers ont été échantillonnés chez 10 pêcheurs professionnels sur l'ensemble du Léman. La taille, le poids et le sexe ont été identifiés pour chaque individu. Des écailles ont été prélevées afin de déterminer l'âge des poissons par scalimétrie. Des signes visuels d'une infection par *R. salmoninarum* ont été systématiquement recherchés chez chaque poisson. Ces signes correspondent à l'apparition de nodules blanchâtres sur les reins, ainsi que sur le foie pour les cas avancés. L'identification n'est pas évidente lorsque la maladie est peu développée. Il existe notamment un risque de confusion avec des glandes au nombre de 2 à 3 situées sur les reins à l'aplomb de la nageoire dorsale. Dans les cas extrêmes, la maladie se caractérise également par l'apparition de petites vésicules sur la peau qui peuvent se nécroser.

Des échantillons de reins et de foie des individus montrant des altérations ont été prélevés pour analyse bactériologique et une partie des mêmes organes a été fixé au formol pour analyse immunohistologique.

Une seconde campagne d'échantillonnages a été menée par A. Greenman. Le 16 décembre 2005, dans le cadre des pêches exceptionnelles de géniteurs effectuées sur les sites de reproduction de Chillon et de Montreux, 142 ombles ont été échantillonnés. A cette occasion les reins de chaque individu ont été systématiquement observés afin de détecter la présence clinique d'infection par la MRB.

Analyse en laboratoire des échantillons

Cent quatre des 331 ombles échantillonnés en 2004 présentaient divers signes pouvant potentiellement faire penser à une infection par MRB. Des prélèvements de reins des individus ont fait l'objet d'une analyse particulière, effectuée par M. Nicod du Musée du Léman dans le cadre d'un stage au NAFUS. Des coupes histologiques ont été préparées et la présence de la MRB y a été testée par l'utilisation d'anticorps.

Résultats

Test des méthodes de détection en laboratoire

Une souche de *R. salmoninarum* a pu être obtenue auprès du laboratoire CEFAS de Weymouth en Angleterre. Néanmoins, la bactérie s'est avérée extrêmement difficile à cultiver quelque soit la méthode utilisée. En effet, la bactérie ne «pousse» que très lentement et les cultures sont envahies par d'autres bactéries à croissance plus rapide. Par contre, la méthode de détection par immunohistologie (LSAB) fonctionne bien et permet un diagnostic rapide et efficace.

Campagnes d'échantillonnages

Sur les 331 ombles chevaliers échantillonnés lors de la campagne de 2004, dans un cas seulement, des lésions typiques ont été trouvées. Elles avaient envahi une grande partie de la cavité générale. Pour cet individu, de nombreuses nécroses au niveau de la peau étaient également manifestes (Fig. 1).

Au total, 104 individus présentaient des signes cliniques pouvant faire penser à une infection par MRB. L'analyse par immunohistologie n'a toutefois révélé que chez deux individus seulement la présence effective de bactéries provoquant la MRB, soit un taux d'infection très faible de 0.6% du nombre total d'individus échantillonnés.

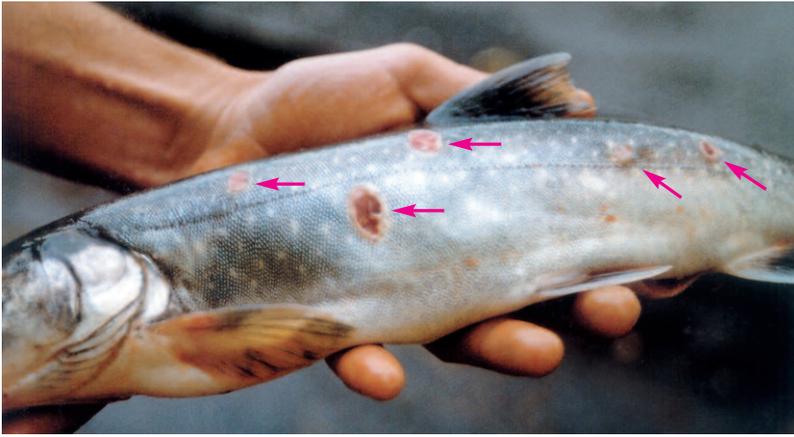


Fig. 1: Mâle capturé le 14/10/04 devant Pully, de 430 mm pour 690 g, présentant d'importants signes cliniques d'infection par la MRB. Ci-dessous, l'important nodule visible au centre de l'image a pratiquement envahi toute la cavité générale.



En 2005, aucun des 142 individus observés ne montrait des signes cliniques pouvant faire penser à une infection par la MRB. Par contre chez 6 individus (4% des poissons échantillonnés), on observait des blessures typiques de morsures de brochets.

Chez un poisson seulement le foie présentait de manière irrégulière des tâches blanchâtres. Les coupes histologiques effectuées démontraient une infection des vessies biliaires par des plasmodia de *Myxidium truttae* (Myxozoa). Autour des vessies infectées des réactions d'inflammation prononcées étaient observées, mais à nouveau pas de MRB.

Discussion

Présence de la MRB

Cette étude avait pour but de déterminer si la MRB était présente dans le Léman et si cette maladie pouvait être un problème pour la population d'ombles chevaliers. L'analyse confirme la présence de la MRB

dans le lac, dans un cas avéré visuellement et dans deux cas avec le test immunologique. Ce qui démontre par ailleurs, la fiabilité du test utilisé. Toutefois, le pourcentage d'individus infectés est extrêmement faible. Cette faible présence correspond à des résultats d'analyses effectuées en Suède (Wichardt 2004) et en Angleterre (Chambers 2004). A ce jour cependant, avec un taux aussi faible d'infections avérées, il n'y a pas lieu de modifier les procédures actuellement en vigueur lors de la capture des géniteurs ou de l'élevage des jeunes en pisciculture.

Si vraiment la MRB avait été la cause primaire de l'effondrement observé en 2000, l'infection aurait dû être extrêmement massive puisque dans des conditions d'une eau libre cette bactérie n'est mortelle qu'à de hauts degrés d'infection. Dans ce cas quelques années plus tard, on aurait dû retrouver un taux d'individus porteurs beaucoup plus important que celui observé dans cette étude. Le petit nombre de poissons trouvés infectés dans notre étude va à l'encontre de cette hypothèse. Avec des méthodes diagnostiques plus fines on aurait peut-être trouvé plus d'in-

dividus porteurs. Toutefois, même dans ce cas, une chute de la population causée par la MRB reste peu probable.

Les autres pistes?

Ce résultat nous amène à rejeter l'hypothèse d'une diminution des effectifs de la population d'ombles lémaniques lié principalement au développement de la MRB. Il n'en demeure pas moins que les captures ne cessent de chuter année après année. Il convient dès lors d'orienter nos investigations vers d'autres pistes. La gestion piscicole doit maintenant être analysée en profondeur afin de s'assurer que la taille minimale de capture est toujours bien adaptée à l'évolution de la biologie de l'espèce, notamment en fonction de la croissance actuelle des poissons. L'impact de la prédation par le brochet devrait également faire l'objet d'investigations spécifiques.

Remerciements

Cette étude prospective a pu être effectuée grâce au financement accordé au Musée du Léman par la Ville de Nyon (Préavis n° 59). Qu'il soit donc permis ici de remercier chaleureusement et sincèrement les édiles nyonnais pour avoir rendu cette étude possible.

Diverses investigations de terrain ont été effectuées par A. Greeman et P.-A. Chevalley de l'Ecole d'ingénieurs de la HES-SO de Lullier, filière Gestion de la Nature. Les analyses de laboratoire ont été effectuées par M. Nicod du Musée du Léman et G. Chassot.

Bibliographie

- **BANNER CR, ROHOVEC JS, FRYER JL.** 1983. *Renibacterium salmoninarum* as a cause of mortality among chinook salmon in salt water. *Journal of the World Mariculture Society*, 14: 236-239.
- **BRUNO DW, MUNRO ALS.** 1986. Observations on *Renibacterium salmoninarum* and the salmonid egg. *Diseases of Aquatic Organisms*, 1: 83-87.
- **CHAMBERS E.** 2004. An investigation into the prevalence and interaction of BKD in wild and farmed fish in selected river systems in the UK. *Trout News*, 38: 20.
- **EVELYN TPT, PROSPERI-PORTA L, KETCHESON JE.** 1986. Experimental *intraovum* infection of salmonid eggs with *Renibacterium salmoninarum* and vertical transmission of the pathogen with such eggs despite their treatment with erythromycin. *Diseases of Aquatic Organisms*, 1: 197-202.
- **FOREL FA.** 1904. L'origine de la faune ichtyologique du Léman. In: F Rouge (éd.) *Le Léman*, monographie limnologique, Vol. III, pp. 343-354, Lausanne.
- **FRYER JL, SANDERS JE.** 1981. Bacterial Kidney disease of salmonid fish. *Annual Review of Microbiology*, 35: 273-298.
- **HAMEL OS.** 2001. The dynamics and effect of Bacterial Kidney Disease in Snake River spring Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). PhD thesis, University of Washington, Washington.
- **PARODI AL, BAUDIN LAURENCIN F, GIOGETTI G, HILL B, KOSKI P, OLESEN NJ, SCHLOTFELDT HJ.** 1999. Bacterial Kidney Disease. Report of the Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare, 1-44.
- **WICHARDT UP.** 2004. Regarding detected cases of renibacteriosis in Swedish fish farms 1985-2003. *Alvkarleby: Fish health control programme*, 1-17.