

Revue des sciences de l'eau

**Observation et étude expérimentale de mycobactéries
atypiques en aquariums d'eau douce et d'eau de mer**

M. Dailloux, C. Henry and D. Terver

Publisher(s)

Université du Québec - INRS-Eau, Terre et Environnement (INRS-ETE)

ISSN 0992-7158 (print)
1718-8598 (digital)

Cite this article

Dailloux, M., Henry, C. & Terver, D. (1992). Observation et étude expérimentale de mycobactéries atypiques en aquariums d'eau douce et d'eau de mer. *Revue des sciences de l'eau*, 5(1), 69–82. <https://doi.org/10.7202/705121ar>

Tous droits réservés © Revue des sciences de l'eau, 1992



This document is protected by copyright law. Use of the services of Erudit (including reproduction) is subject to its terms and conditions, which can be viewed online. [<https://apropos.erudit.org/en/users/policy-on-use/>]

This article is disseminated and preserved by Érudit. Érudit is a non-profit organization with headquarters in Laval, and the Université de Québec à Montréal. Its mission is to promote and disseminate research. www.erudit.org

Article abstract

Water is a natural habitat of mycobacteria. In aquaria 3 species of atypical mycobacteria are frequently present : *M. marinera*, *M. kansasitand* *M. fortuitum*. They are potential pathogen for fishes and men. Tuberculosis has been recognized as the cause of mortality in marine and fresh water fishes. Clinical signs of fish tuberculosis are variable : ascites, skin ulcerations, skeletal deformities. The human infection is cutaneous granuloma occurring after in jury in aquaria.

In the aquaria, of which two patients with cutaneous lesions due to *M. marinum* were analysed, UV lamps were not used. Many factors have an influence on the number of mycobacterial organisms in aquaria waters : number of fishes per tank, decontamination system, salinity, temperature.

To determine the consequence of each factor, a study has been conducted at the "Aquarium du Musée de Zoologie de Nancy". Research of mycobacteria was carried out in the water of 40 tanks : 11 were supplied with fresh water and 29 with salt water. Each tank was equipped with germicide UV (λ : 253,7 nm) : the intensity was 15 watts for aquaria smaller than 1 000 liters and 36 watts for aquaria larger than 5 000 liters. The effectiveness of UV radiation against *M. marinum* was tested in 3 experimental fresh water tanks of 280 liters. The first part of the experiment was tested without fish. Tank n° 1 was a control, lamp was switched on during the complete study, *M. marinum* was not added. In tank n° 2 (with UV) and n° 3 (without UV), 2 ml of *M. marinum* (of suspension 10^7 CF/ml) was added. Samples of water were analysed every two weeks. After six weeks tanks n° 2 and n° 3, were prepared for the next study : UV lamps were switched on in n° 2 and switched off in n° 3 both of which were contaminated by *M. marinum*. After 4 weeks 27 fishes, Cichlids, were introduced in the three aquaria. The day after, *M. marinum* was added to tanks n° 2 and n° 3. Every week water analysis was done, as well as an identification and quantification of all species of mycobacteria.

From each tank 250 ml of water were collected. The water was passed through a 0,2 μ m membrane. The filters were introduced in distilled water and decontaminated by lauryl sulfate. The culture of mycobacteria was grown with Loewenstein medium at 30 and 37 °C. Each colony type was identified by cultural and biochemical characteristics.

This study shows the richness in aquaria of mycobacteria; whatever the tanks, mycobacteria presence was constant. In non-treated home aquaria, the presence of mycobacteria was very important, 4 to 6 species per tank, (but in this case *M. marinum* was not found). In aquaria with UV lamps, the number of species per tank was lower (1 to 3).

The growth of mycobacteria could be prevented when the samples were contaminated by fungi and bacteria. However, inability to recover mycobacteria from water occurred only when a massive over-growth by non-mycobacterial contaminant was present (10^3 CFU/ml). This was the case of non-treated tanks, belonging to patients who developed a chronic granuloma on their hands, *M. marinum* was not isolated in these aquaria. The evaluation of slowly growing mycobacteria could be altered by the important development of fast growing mycobacteria on the same culture tube. Among isolated species, *M. fortuitum* and *M. gordonae* saprophytic strains were

frequent; *M. kansasii* and *M. marinum* involved in human cutaneous granuloma were unusual, as were the non-pigmented strains of group III of Runyon ; *M. avium* was not isolated.

During this study, we observed a relationship between the mycobacteria presence and the cleanness of tank and the fishes population. A great number of fishes per tank was a factor which increased the bacterial and mycobacterial contamination. During this

study, we observed that lesions but when a dead fish was examined, the culture from post-modern samples revealed the presence of *M. marinum*. The microbiological examination of skipper and viscera was negative.

The comparison of results in non-treated home tanks and UV treated tanks of the Museum indicates the role of water treatment by UV lamps on the number of isolated mycobacteria.

The germicide UV camps are frequently used for the decontamination of tanks. The efficiency is good for bacteria, but unknown for

Observation et étude expérimentale de mycobactéries atypiques en aquariums d'eau douce et d'eau de mer

Observation and experimental study of typical
mycobacteria in fresh water and salt water aquaria

M. DAILLOUX¹, C. HENRY¹, D. TERVER²

Reçu le 3 avril 1991, accepté pour publication le 27 septembre 1991*.

SUMMARY

Water is a natural habitat of mycobacteria. In aquaria 3 species of atypical mycobacteria are frequently present : *M. marinum*, *M. kansasii* and *M. fortuitum*. They are potential pathogen for fishes and men. Tuberculosis has been recognized as the cause of mortality in marine and fresh water fishes. Clinical signs of fish tuberculosis are variable : ascites, skin ulcerations, skeletal deformities. The human infection is cutaneous granuloma occurring after injury in aquaria.

In the aquaria, of which two patients with cutaneous lesions due to *M. marinum* were analysed, UV lamps were not used. Many factors have an influence on the number of mycobacterial organisms in aquaria waters : number of fishes per tank, decontamination system, salinity, temperature.

To determine the consequence of each factor, a study has been conducted at the "Aquarium du Musée de Zoologie de Nancy". Research of mycobacteria was carried out in the water of 40 tanks : 11 were supplied with fresh water and 29 with salt water. Each tank was equipped with germicide UV (λ : 253,7 nm) : the intensity was 15 watts for aquaria smaller than 1 000 liters and 36 watts for aquaria larger than 5 000 liters. The effectiveness of UV radiation against *M. marinum* was tested in 3 experimental fresh water tanks of 280 liters. The first part of the experiment was tested without fish. Tank n° 1 was a control, lamp was switched on during the complete study, *M. marinum* was not added. In tank n° 2 (with UV) and n° 3 (without UV), 2 ml of *M. marinum* (of suspension 10^7 CFU/ml) was added. Samples of water were analysed every two weeks. After six weeks tanks n° 2 and n° 3, were prepared

1. Laboratoire de Microbiologie, Pr. E. de Lavergne, Faculté de Médecine de Nancy, avenue de la Forêt de Haye, BP 184, 54505 Vandœuvre-lès-Nancy Cedex, tél. : 83 59 25 00, poste 2130.
2. Laboratoire de Biologie appliquée de l'Aquarium tropical de Nancy, Dr. D. Terver, 34, rue Sainte-Catherine, 54000 Nancy, tél. : 83 32 99 97.

* Les commentaires seront reçus jusqu'au 30 décembre 1992.

for the next study : UV lamps were switched on in n° 2 and switched off in n° 3 both of which were contaminated by *M. marinum*. After 4 weeks 27 fishes, Cichlids, were introduced in the three aquaria. The day after, *M. marinum* was added to tanks n° 2 and n° 3. Every week water analysis was done, as well as an identification and quantification of all species of mycobacteria.

From each tank 250 ml of water were collected. The water was passed through a 0,2 µm membrane. The filters were introduced in distilled water and decontaminated by lauryl sulfate. The culture of mycobacteria was grown with Löwenstein medium at 30 and 37 °C. Each colony type was identified by cultural and biochemical characteristics.

This study shows the richness in aquaria of mycobacteria ; whatever the tanks, mycobacteria presence was constant. In non-treated home aquaria, the presence of mycobacteria was very important, 4 to 6 species per tank, (but in this case *M. marinum* was not found). In aquaria with UV lamps, the number of species per tank was lower (1 to 3).

The growth of mycobacteria could be prevented when the samples were contaminated by fungi and bacteria. However, inability to recover mycobacteria from water occurred only when a massive over-growth by non-mycobacterial contaminant was present (10^3 CFU/ml). This was the case of non-treated tanks, belonging to patients who developed a chronic granuloma on their hands, *M. marinum* was not isolated in these aquaria. The evaluation of slowly growing mycobacteria could be altered by the important development of fast growing mycobacteria on the same culture tube. Among isolated species, *M. fortuitum* and *M. goodii* saprophytic strains were frequent ; *M. kansasii* and *M. marinum* involved in human cutaneous granuloma were unusual, as were the non-pigmented strains of groupe III of Runyon ; *M. avium* was not isolated.

During this study, we observed a relationship between the mycobacteria presence and the cleanness of tank and the fishes population. A great number of fishes per tank was a factor which increased the bacterial and mycobacterial contamination. During this experiment fishes didn't present tubercular lesions but when a dead fish was examined, the culture from post-mortem samples revealed the presence of *M. marinum*. The microbiological examination of skin and viscera was negative.

The comparison of results in non-treated home tanks and UV treated tanks of the Museum indicates the role of water treatment by UV lamps on the number of isolated mycobacteria.

The germicide UV lamps are frequently used for the decontamination of tanks. The efficiency is good for bacteria, but unknown for mycobacteria. This study shows that UV radiation decreased the mycobacterial contamination. The species of mycobacteria differ in their sensibility to UV radiation. In experimental tanks, the results showed the great susceptibility of *M. marinum* to UV lamps such they were used in aquaria. Presence of fish does not change the results. If the addition of *M. marinum* and the lighting of lamps were simultaneous, *M. marinum* was not isolated in water. If the contamination by *M. marinum* preceded the lighting of UV lamps, most of bacteria was eliminated in one week and the totality in 4 weeks. For the other species, we observed that the mycobacterial sensitivity to UV light decreases in the following order : quickly growing mycobacteria, photochromogen and scotochromogen strains. During our experimental study, *M. goodii* was isolated more frequently when UV lamps were switched on. The results obtained in the 40 tanks with UV lamps allowed the evaluation of the influence of salinity and temperature of water on mycobacterial survival and the selection of species. We did not observe a difference in the concentration of mycobacteria in two types of aquaria, fresh water and salt water. Na Cl is known as an inhibitor of

the mycobacterial growth. The sensitivity of strains differs. The salinity of water appears to be a selection factor. *M. fortuitum* was isolated more frequently in salt water.

M. marinum was isolated only in salt water and *M. kansasii* in fresh water. These results are surprising, as these strains have about the same metabolism. The temperature of water can also be a selection factor for mycobacteria, but in our study the temperature was similar in each aquarium (25°-26°). In this study, we did not observe thermophile strains such as *M. avium*.

Aquarists must be informed of the aquarium contamination by atypical mycobacteria and their role in the evolution of skin lesions after injury of hands and arms. The use of germicide UV lamps improves the bacteriological quality of water.

Key-words : atypical mycobacteria, aquaria, UV lamps.

RÉSUMÉ

L'eau des aquariums est source de Mycobactéries atypiques qui peuvent être pathogènes pour l'homme et les poissons.

Une étude a été réalisée à l'aquarium du Musée de Zoologie de Nancy. La recherche de Mycobactéries a été effectuée dans 40 aquariums équipés de lampes germicides à UV : 11 bassins étaient alimentés en eau douce et 29 en eau de mer. Deux aquariums non équipés de système de désinfection ont également été analysés, les propriétaires de ces derniers ayant présenté un granulome cutané à *M. marinum*. L'action des UV sur *M. marinum* en suspension dans l'eau a été testée expérimentalement dans des bassins d'eau douce peuplés de Cichlidés.

Pour chaque aquarium, un échantillon de 250 ml a été prélevé. Les cultures après décontamination au lauryl sulfate de soude ont été réalisées sur milieu de Löwenstein.

Les résultats indiquent que, quel que soit l'aquarium, la présence de mycobactéries est constante. L'isolement des mycobactéries peut être gêné par la présence d'une flore bactérienne ou fongique importante ($\geq 10^3$ U.F.C./ml).

Les espèces les plus fréquemment isolées sont *M. gordonae* et *M. fortuitum* ; *M. kansasii* et *M. marinum* ont rarement été isolées (6/40 aquariums). Différents facteurs peuvent intervenir sur la sélection des espèces. La salinité de l'eau limite le développement de certaines espèces, alors qu'elle permet la croissance de *M. fortuitum*. Dans notre étude, la température de l'eau n'a pas été un facteur sélectif. L'utilisation de lampes UV limite le nombre de Mycobactéries. Dans les bassins expérimentaux, les radiations UV se sont révélées très actives sur *M. marinum* en présence ou en l'absence de poissons. A l'inverse de *M. gordonae*, *M. fortuitum* est rarement isolée en présence d'UV. Un nombre important de poissons par aquarium augmente la flore bactérienne et mycobactérienne.

La prévention des infections à Mycobactéries atypiques chez l'homme comme chez les poissons devrait pouvoir être assurée par des mesures d'hygiène élémentaire.

Mots clés : mycobactéries atypiques, aquariums, lampes UV.

INTRODUCTION

Plusieurs études (CARRET, 1973 ; GOSLEE et WOLINSKY, 1976 ; PARRYN *et al.*, 1971) relatent la présence des mycobactéries atypiques dans des aquariums d'eau de mer ou d'eau douce. Les espèces isolées sont nombreuses, certaines peuvent être pathogènes pour les poissons mais aussi pour l'homme.

En effet, chez les aquariophiles contaminés, *Mycobacterium marinum* (= *M. balnei*), *Mycobacterium fortuitum* et *Mycobacterium kansasii* provoquent des lésions granulomateuses qui se développent à la faveur d'une excoriation cutanée (RICKEN et LAUER, 1977 ; COLLINS *et al.*, 1985). Chez les poissons, la Mycobactériose ou « Tuberculose des poissons » provoque de nombreuses altérations morphologiques, *M. marinum* et *M. fortuitum* étant les espèces pathogènes les plus fréquentes (BERNSTAD, 1974 ; LEIBOVITZ, 1980 ; HOUCHOT, 1979 ; KORMENDY *et al.*, 1979 ; LAUER, 1976 ; RICKEN et LAUER, 1977).

Par la recherche des mycobactéries dans plusieurs types d'aquariums, nous avons essayé de déterminer les espèces les plus fréquentes et le rôle des facteurs intervenant sur leur présence dans les aquariums : nombre de poissons par bassin, salinité, température et système de décontamination de l'eau.

Actuellement, l'emploi de lampes à rayonnement germicide ultra-violet (UV-longueur d'ondes de 253,7 nanomètres) pour la purification bactériologique de l'eau des aquariums est courant. L'action bactéricide de tels systèmes est connue sur de nombreuses espèces bactériennes mais reste peu étudiée sur les Mycobactéries particulièrement résistantes aux agents décontaminants. Pour préciser leur action sur les mycobactéries, nous avons réalisé à l'Aquarium du Musée Zoologique de Nancy une étude expérimentale dans des bassins peuplés de poissons et traités par lampes UV ; l'espèce *M. marinum* a été choisie pour ce travail en raison de son pouvoir pathogène chez l'homme et chez les poissons.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Types d'aquariums testés

Aquariums privés

Il s'agit de 2 aquariums d'eau douce sans lampe UV et appartenant à des personnes ayant présenté un granulome dû à *M. marinum* au niveau de la main. Dans les aquariums de ces patients, la recherche des mycobactéries a été faite dans l'eau (échantillon de 500 ml) et sur un poisson choisi au hasard car aucun ne présentait de signe d'infection au moment de l'étude.

□ **Aquariums d'exposition du Musée de Zoologie de Nancy**

40 aquariums d'exposition ont été étudiés : 11 d'eau douce et 29 d'eau de mer reconstituée. Chaque bac est pourvu de lampes à UV qui fonctionnent en continu. La puissance absorbée des lampes est de 15 watts (puissance utile : 3,5 watts) pour les aquariums de moins de 1 000 litres (eau douce : 11, eau de mer : 27). Elles traitent 500 à 700 litres/h. Des lampes de 36 watts (puissance utile : 13 watts) équipent deux bassins d'eau de mer de 5 000 et 8 000 litres. Elles traitent jusqu'à 2 500 litres/h chacune. Les conditions de température et de pH sont celles décrites par TERVER (1982). Un poisson (*Labeo bicolor*) mort pendant l'étude a été disséqué et analysé.

□ **Etude de la survie de *M. marinum* en suspension dans l'eau d'un aquarium traité ou non par les UV**

Cette étude a été réalisée sur une période de trois mois dans trois bassins d'eau douce de 280 litres au Musée de Zoologie de Nancy. Chaque bassin a été équipé de lampes UV de 15 watts identiques au modèle précédemment décrit. Cette expérimentation a comporté plusieurs étapes.

La 1^{re} phase a été réalisée dans les aquariums sans poisson. L'aquarium n° 1 a servi de témoin mycobactéries négatif, les lampes UV ont fonctionné pendant toute l'expérience. Dans les aquariums n° 2 (UV éteints) et n° 3 (UV allumés), 2 ml d'une suspension en eau distillée de *M. marinum* titrant 10^7 unités formant colonies/ml (UFC) ont été ajoutés. La souche *M. marinum* utilisée pour ce travail correspond à un isolement réalisé à partir d'une lésion granulomateuse chez un sujet aquariophile. Les prélèvements d'eau pour contrôle bactériologique et recherche de Mycobactéries ont été faits toutes les 2 semaines. Après 6 semaines, les aquariums n° 2 et n° 3 ont été préparés pour la 2^e partie de l'étude. Les lampes UV ont été allumées dans l'aquarium n° 2 et éteintes dans l'aquarium n° 3 que nous avons contaminé par *M. marinum* (2 ml de la suspension titrant 10^7 UFC/ml).

A la 17^e semaine, l'expérience en présence de poissons a commencé : 27 Cichlidés *Heros severus* (HECKEL) ont été introduits dans les 3 aquariums. Le lendemain, *M. marinum* à la même concentration que précédemment a été ajouté dans l'aquarium n° 2 (UV en fonctionnement) et n° 3 (UV à l'arrêt). Les contrôles microbiologiques ont été effectués toutes les semaines.

Le tableau 1 résume les différentes étapes de l'expérimentation.

Techniques d'isolement et d'identification des Mycobactéries

1. Traitement des prélèvements d'eau

• Tous les échantillons d'eau, quelle que soit leur origine, sont filtrés sur membrane de porosité 0,45 µm. La membrane est introduite dans un flacon stérile contenant 20 ml d'eau distillée et quelques billes de verre destinées à favoriser l'agitation. Ces flacons maintenus à + 4 °C sont agités pendant 24 heures, délai permettant aux mycobactéries fixées sur le filtre de passer en suspension dans l'eau.

Tableau 1 Caractéristiques des aquariums au cours de l'expérimentation.

Table 1 Aquaria characteristics during the experimentation.

| | | | | | | | | | | | |
|------------------------|--------|------|------|-------|-------|------|-------|--------|------|-------|-------|
| Aquarium 1 | ⚡ | ⚡ | ⚡ | ⚡ | ⚡ | ⚡ | ⚡ | ⚡ | ⚡ | ⚡ | ⚡ |
| Aquarium 2 | * | | | ⚡ | ⚡ | ⚡ | ⚡ | * ⚡ | ⚡ | ⚡ | ⚡ |
| Aquarium 3 | ⚡ * | ⚡ | ⚡ | ⚡ | * | | | * . | . | . | . |
| Dates des prélèvements | 4/9 | 18/9 | 2/10 | 16/10 | 23/10 | 6/11 | 21/11 | 27/11 | 4/12 | 11/12 | 18/12 |

⚡ : Lampes UV en fonctionnement continu.

. : Présence de poissons : 27 cichlidés = *Heros severus* (Heckel).

* : Addition d'une suspension de *M. marinum* = 10^7 UFC/bassin.

• La destruction de la flore associée est assurée selon la technique proposée par TACQUET et TISON (1961) utilisant le lauryl sulfate de sodium (30 g/l) et la soude (10 g/l). Pour chaque prélèvement, 6 milieux de Loewenstein (Institut Pasteur Production) ont étéensemencés, la moitié étant incubée à 30 °C et l'autre à 37 °C. L'incubation à 40 °C n'a pas été jugée utile, les mycobactéries ayant un optimum de croissance à 40 °C peuvent également se développer à 37 °C.

2. Traitement des prélèvements effectués chez les poissons

La recherche des mycobactéries a été faite au niveau de la peau, des branchies et du cœur. Chaque prélèvement, après mixage a été traité au lauryl sulfate de sodium,ensemencé sur Loewenstein (Institut Pasteur Production) puis incubé à 30 °C et à 37 °C.

3. Identification des souches de Bacilles Acido Alcoolo Résistants (BAAR)

Les milieux de cultureensemencés sont examinés toutes les semaines. Les colonies de BAAR, dès leur apparition sont repiquées et identifiées par l'étude des caractères cultureux et biochimiques (LE MINOR et VERON, 1989). Les tests ayant servi à la détermination des différentes espèces figurent sur le tableau 2.

L'identification de *Mycobacterium szulgai* a été faite par l'étude des caractères suivants : photochromogène à 25 °C, scotochromogène à 37 °C, hydrolyse du tween lente et réduction des nitrates positive. La caractérisation des lipides n'a pas été réalisée.

Tableau 2 Caractères d'identification des mycobactéries (LE MINOR et al., 1989).

Table 2 Identification table for Mycobacteria.

| | <i>M. marinum</i> | <i>M. kansasii</i> | <i>M. goodii</i> | <i>M. flavescens</i> | <i>M. szulgai</i> | <i>M. non chromogenicum</i> | <i>M. fortuitum</i> | <i>M. chelonae</i> | <i>M. aurum</i> |
|-----------------------------|-------------------|--------------------|------------------|----------------------|-------------------|-----------------------------|---------------------|--------------------|-----------------|
| Croissance/semaine | <1 | 2 | 2 | 1 | 2 | 1-2 | <1 | <1 | <1 |
| T° optimale culture | 30 | 37 | 30 | 37 | 37 | 37 | 30 | 30 | 30 |
| Culture possible | | 30 | 37 | 30 | 30 | 30 | 37 | 37 | 37 |
| Aspect des colonies | S | R | S | R | S | R | S | S | S |
| Pigmentation | ph | ph | sc | sc | ph25 sc 37 | np | np | np | sc |
| Niacine | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Réduction des nitrates | - | + | - | + | + | - | + | - | ± |
| Hydrolyse du tween 5 j | + | + | ± | + | ± | + | ± | ± | ± |
| Phosphatase acide | + | v | - | - | + | + | v | ± | ± |
| Hydrolyse de l'urée | + | v | ± | + | + | - | + | + | + |
| Croissance Tb 1 10 µg/ml | + | - | + | + | + | + | + | + | + |
| Croissance EMB 2 µg/ml | - | - | - | - | - | - | + | + | - |

ph : Photochromogène

sc : Scotochromogène

np : Non pigmenté

v : Variable

EMB : Ethambutol

Tb 1 : Thiosemicarbazone

S : Smooth - colonie lisse

R : Rough - colonie rugueuse

4. Analyse bactériologique de l'eau

La mise en évidence de la flore microbienne associée aux mycobactéries a été faite sur gélose nutritive (Bio Mérieux réf. : 41 394). Seule, une numération bactérienne totale a été faite à 30 °C et à 37 °C. Les espèces isolées n'ont pas été identifiées.

RÉSULTATS

□ *Aquariums privés*

Plusieurs espèces mycobactériennes ont été identifiées, elles figurent sur le tableau 3 ; *M. marinum* n'a pas été isolé. La contamination bactérienne de ces aquariums était très importante et a certainement faussé en partie les résultats.

Tableau 3 Aquariums privés, mycobactéries isolées.

Table 3 Privated aquaria, Isolated Mycobacteria.

| | MYCOBACTÉRIES | | FLORE MICROBIENNE ASSOCIÉE |
|------------|--|---|----------------------------|
| | Eau | Poissons | |
| Aquarium A | <i>M. gordonae</i> <i>M. aurum</i> <i>M. fortuitum</i> <i>M. chelonae</i> | <i>M. gordonae</i> <i>M. fortuitum</i> | > 103 UFC/ml |
| Aquarium B | <i>M. gordonae</i> <i>M. flavescens</i> <i>M. non chromogenicum</i> <i>M. chelonae</i> <i>M. fortuitum</i> | <i>M. gordonae</i> <i>M. fortuitum</i> | > 103 UFC/ml |

□ Aquariums d'exposition du Musée Zoologique de Nancy

Les tableaux 4 et 5 indiquent respectivement pour les aquariums d'eau douce et d'eau de mer les différentes espèces de mycobactéries isolées seules ou en association, ainsi qu'une évaluation de la flore bactérienne. Au cours de cette étude, *M. marinum* a été isolé dans les organes internes (cœur-intestin) d'un poisson malade.

□ Etude de la survie de *M. marinum* en suspension dans l'eau d'un aquarium traité ou non par les UV

Les résultats obtenus au cours de cette étude sont représentés sur les graphiques du tableau 6. Pour ce travail, seules les mycobactéries isolées à 30 °C ont été prises en considération.

DISCUSSION

Le nombre des mycobactéries isolées est probablement inférieur à celui de la réalité. En effet, plusieurs facteurs peuvent intervenir.

Le premier, qui gêne considérablement l'isolement des mycobactéries, est la présence d'une flore associée, bactérienne ou fongique, qui envahit et épuise rapidement les milieux de culture, malgré les techniques de décontamination. Ce phénomène s'observe lorsque la concentration bactérienne est supérieure à 10^3 UFC/ml ; ce qui fut le cas des aquariums non traités par UV et peuplés de poissons. Pour le cas des patients ayant présenté un granulome cutané à *M. marinum*, il est probable que la source de contamination était l'eau de l'aquarium et que la technique d'isolement n'a pas permis de mettre en évidence cette espèce qui se développe difficilement.

Tableau 4 Mycobactéries isolées dans les aquariums d'eau de mer.

Table 4 Isolated Mycobacteria from the salt water aquaria.

| Mycobactéries | | | Bactériologie | |
|-------------------|--|--|-----------------------|---------------------------|
| Photochromogènes | Scotochromogènes | Croissance rapide non chromogènes | Nombre d'aquariums | Numération bactérienne |
| 0 Espèce | | | | |
| | | | 1 1 | + nt |
| 1 Espèce | | | | |
| <i>M. marinum</i> | | | 1 5 1 6 2 | + + ++ +++ nt |
| | | <i>M. fortuitum</i> | 1 2 1 | + ++ +++ |
| | <i>M. gordonae</i> | | | |
| 2 Espèces | | | | |
| | <i>M. gordonae</i> | <i>M. fortuitum</i> | 2 2 | + +++ |
| <i>M. marinum</i> | | <i>M. fortuitum</i> | 1 | +++ |
| 3 Espèces | | | | |
| <i>M. marinum</i> | | <i>M. fortuitum</i> <i>M. aurum</i> | 1 | + |
| | <i>M. gordonae</i> <i>M. flavescens</i> | <i>M. fortuitum</i> | 1 | + |
| <i>M. marinum</i> | <i>M. gordonae</i> | <i>M. fortuitum</i> | 1 | nt |

Numération bactérienne : + < 10³ b/ml
 ++ > 10³ b/ml et < 10⁶ b/ml
 +++ > 10⁶ b/ml
 nt : non testé

Le deuxième facteur qui pourrait limiter les isoléments de certaines mycobactéries est leur temps de croissance variable. En effet, il peut s'établir une compétition de croissance entre les souches poussant en 48 heures et celles nécessitant une durée plus longue. Pour nos résultats, il ne semble pas que *M. fortuitum*, qui se multiplie rapidement, ait pu gêner le développement des autres espèces puisqu'il est isolé fréquemment en association avec plusieurs espèces. Le nombre des colonies par tube est en général faible et le repiquage des colonies dès leur apparition permet de limiter considérablement cet inconvénient.

Tableau 5 Mycobactéries isolées dans les aquariums d'eau douce.

Table 5 Isolated Mycobacteria from the fresh water aquaria.

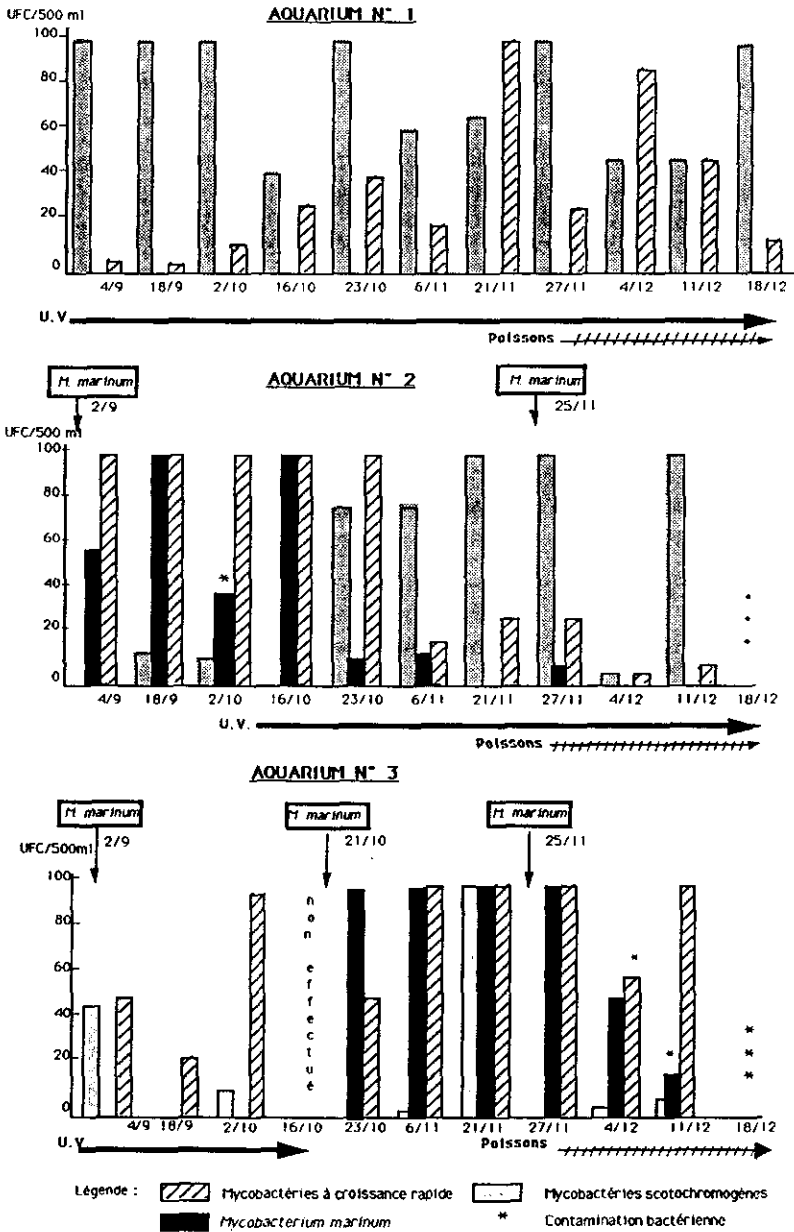
| Mycobactéries | | | Bactériologie | |
|--|--|---|--------------------|---------------------------|
| Photochromogènes | Scotochromogènes | Croissance rapide *Croissance lente non pigmenté* | Nombre d'aquariums | Numération bactérienne |
| 0 Espèce | | | | |
| Contamination bactérienne identification des mycobactéries impossible | | | 2 | +++ |
| 1 Espèce | | | | |
| | <i>M. gordonae</i> | | 1 1 1 | + +++ nt |
| 2 Espèces | | | | |
| | <i>M. gordonae</i> | <i>M. fortuitum</i> | 1 1 | +++ nt |
| 3 Espèces | | | | |
| <i>M. kansasii</i> | <i>M. gordonae</i> <i>M. flavescens</i> | | 1 | +++ |
| <i>M. kansasii</i> | <i>M. gordonae</i> | <i>M. fortuitum</i> | 1 | +++ |
| | <i>M. gordonae</i> | <i>M. fortuitum</i> <i>M. non chomo.</i> | 1 | ++ |
| | <i>M. gordonae</i> <i>M. szulgai</i> | <i>M. fortuitum</i> | 1 | nt |

M. non chromo. = M. non chromogenicum + < 10 b/ml
 ++ > 10 b/ml et < 10³ b/ml
 +++ > 10³ b/ml
 nt : non testé

Les résultats de cette étude démontrent la présence constante des mycobactéries atypiques dans les eaux d'aquariums. Les espèces les plus fréquentes ont été *M. fortuitum* et *M. gordonae*, les espèces photochromogènes *M. kansasii* et *M. marinum* ont rarement été isolées, de même que les mycobactéries non pigmentées à croissance lente. A l'exception de ce dernier groupe, nos résultats sont similaires à ceux de la littérature (GOSLEE et WOLINSKY, 1976). C'est dans les aquariums non traités par lampes UV que le nombre d'espèces isolées est le plus important, ce qui laisse à penser qu'il existe un lien entre la présence de nombreuses mycobactéries et les conditions d'entretien des bassins. L'utilisation de lampes germicides à rayons UV améliore la qualité bactériologique de l'eau (ESCALLIER, 1976 ; TERVER *et al.*, 1984) et limite le nombre de mycobactéries isolées, comme en témoigne la différence entre les résultats des aquariums privés et ceux du

Tableau 6 Mycobactéries isolées dans les prélèvements d'eau d'aquariums en relation avec la présence de poissons et l'action de lampes UV.

Table 6 Isolated mycobacteria from water samples of aquaria in relation with presence of fishes and ultra-violet radiations.



Musée de Zoologie. L'étude expérimentale de l'action des rayons UV sur *M. marinum* nous conduit à penser que cette espèce y est sensible. Dans la première période de l'expérimentation où les bassins ne contenaient pas de poissons, il nous a été impossible de l'isoler durant les jours qui ont suivi son introduction dans l'eau de l'aquarium traité par UV, alors qu'on le retrouve durant au moins 6 semaines lorsque les UV sont absents. La qualité bactériologique de l'eau étant bonne, l'isolement de *M. marinum* n'a pas posé de problème. Cependant, si la contamination par *M. marinum* précède de plusieurs jours la mise en fonction des UV, on l'isole en très faible quantité pendant environ 10 jours.

Au cours de la phase d'étude où les poissons ont été introduits dans l'aquarium, les résultats sont semblables : *M. marinum* est rapidement éliminée de l'eau sous l'action des UV, à l'inverse la souche persiste en l'absence d'UV. Dans l'aquarium n° 3, l'absence de lampes UV et la présence de poissons est à l'origine d'une contamination bactérienne importante qui a gêné considérablement l'isolement des mycobactéries à croissance lente, ce qui explique le nombre plus faible de colonies de *M. marinum* et d'espèces scotochromogènes apparaissant en 15 jours par rapport à celles des souches qui se développent en 4 jours. Le temps de l'expérience relativement court n'a pas permis le développement de lésions chez les poissons. La dissection des poissons en fin d'expérience et la recherche des mycobactéries dans les différents organes n'ont pas permis de mettre en évidence *M. marinum*, il semble peu probable que les poissons aient éliminé par ingestion *M. marinum* présent dans l'eau.

Les résultats obtenus dans les 3 bassins expérimentaux montrent qu'en fonction de la présence ou de l'absence des UV, l'espèce de mycobactérie dominante varie. En effet, si les lampes UV fonctionnent, *M. gordonae* l'emporte alors que si elles sont éteintes, c'est *M. fortuitum* qui est l'espèce la plus abondante. Ces résultats obtenus à plusieurs reprises confirment ceux publiés par TSUKAMURA (1963) : les espèces photochromogènes sont les plus sensibles, les non chromogènes ont une sensibilité moyenne et les scotochromogènes sont les plus résistantes. De même, DAVID (1973) classe les espèces scotochromogènes parmi les plus résistantes, cependant dans son étude, *M. fortuitum* apparaît plus sensible que *M. marinum*. Cette discordance peut s'expliquer par les conditions techniques différentes, les souches utilisées par DAVID (1973) étaient cultivées en l'absence de lumière, ce qui tendrait à prouver que la présence de pigment caroténoïde peut représenter une protection contre l'action des UV (DAVID *et al.*, 1971). Les lampes à UV telles que nous les avons utilisées ont une action inhibitrice sur certaines mycobactéries, à condition toutefois qu'elles soient en suspension dans l'eau ; si elles sont sous forme d'agrégat et hébergées par les poissons, elles échappent totalement à leur action, ce qui expliquerait la présence de *M. marinum* dans certains aquariums traités par UV.

Les résultats comparatifs des aquariums d'eau douce et d'eau de mer ne nous permettent pas d'affirmer que la population mycobactérienne en eau douce est supérieure à celle en eau de mer, comme l'indiquait VIALLIER *et al.* (1977). Néanmoins, l'action inhibitrice du chlorure de sodium sur certaines mycobactéries est connue. GEORGE *et al.* (1980) indiquent qu'à la concentra-

tion de 3,69 % (concentration de l'eau de mer), l'inhibition des mycobactéries du groupe *M. avium intracellulare* est pratiquement totale. La survie des mycobactéries en eau salée est variable en fonction des espèces (VIALIER *et al.*, 1977), *M. fortuitum* étant l'une des plus résistantes. Ceci explique peut être qu'en eau de mer nous ayons retrouvé *M. fortuitum* plus souvent que *M. gordonae*. On constate aussi que *M. marinum* n'a été isolée que dans les aquariums d'eau de mer alors que *M. kansasii* n'a été trouvée qu'en eau douce. Ceci est surprenant quand on sait qu'il s'agit d'espèces biochimiquement proches. Le chlorure de sodium n'est certainement pas le seul facteur en cause. La température de l'eau peut également intervenir dans la sélection des espèces. L'augmentation de la température permet la survie des espèces thermophiles telles que les souches à croissance rapide et les espèces du groupe *M. avium intracellulare*. Au niveau des aquariums que nous avons étudiés, la variation des températures (25-26 °C) est faible d'un bassin à l'autre, aucune sélection n'a été observée. Le peuplement de l'aquarium par rapport au volume du bac joue également un rôle sur la flore mycobactérienne, nous avons pu constater au cours de cette étude que les aquariums les plus peuplés étaient les plus contaminés.

CONCLUSION

Les mycobactéries atypiques sont constamment présentes dans l'eau des aquariums. La salinité ne paraît pas influencer le taux de contamination alors qu'elle semble entraîner une sélection parmi les espèces, *M. fortuitum* étant l'une des plus résistantes. L'emploi des lampes UV dans les aquariums diminue le taux de contamination par les mycobactéries. *M. marinum*, espèce pathogène pour l'homme et les poissons s'est révélée sensible à l'action germicide des lampes UV. *M. gordonae*, souche saprophyte semble être résistante aux UV. Des efforts doivent être faits pour limiter la prolifération des mycobactéries dans les aquariums.

« La tuberculose des poissons » est une des rares maladies transmises directement du poisson à l'homme. Actuellement, les cas de mycobactériose cutanée observés chez l'homme sont dus le plus souvent à une contamination par l'eau d'un aquarium ou par un poisson. Le terme de « maladie des aquariums » vient remplacer celui de « granulome des piscines ». Le diagnostic de ces infections est souvent difficile et tardif. Sous traitement associant divers antibiotiques : Rifampicine, Ethambutol et/ou cyclines, la guérison sera obtenue en quelques semaines. Comme le rappellent PERRON (1988) et SIMON (1991), les aquariophiles doivent être informés de la contamination possible des aquariums par des Mycobactéries et de la résistance de ces dernières à la plupart des agents physiques et chimiques. La prévention devrait pouvoir être faite par des mesures d'hygiène élémentaire : peuplement peu abondant, renouvellement fréquent de l'eau et emploi de lampes germicides devraient améliorer la qualité de l'eau et diminuer les risques d'infection.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BERNSTAD S., 1974. *Myc. borstelense* isolated from aquariums fishes with tuberculous lesions. *Scand. J. Infect. Dis.*, 6, 241-246.
- CARRET J.M., 1973. Inventaire des Mycobactéries atypiques de l'environnement. *Thèse de Médecine, Lyon*.
- COLLINS C.H., GRANGE J.M., NOBLE W.C., YATES M.D., 1985. *Mycobacterium marinum* infections in Man. *J. Hyg.*, 94 (2), 135-149.
- DAVID H.L., 1973. Response of Mycobacteria to UV light radiation. *Amer. Rev. Respir. Dis.*, 108, 1175-1186.
- DAVID H.L., JONES W.D., NEWMAN C.M., 1971. Ultraviolet Light Inactivation and Photoreactivation in the Mycobacteria. *Infect. Immunity*, 4 (3), 318-319.
- ESCALLIER G., 1976. Purification bactériologique des eaux par rayons UV. Application à l'aquarophilie. *Revue fr. Aquariol.*, 3 (1) : 37-41.
- GEORGE K.L., PARKER B.C., GRUFT H., FALKINHAM J.O., 1980. Epidemiology of Infection by Nontuberculous Mycobacteria : growth and survival in Natural Waters. *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 122, 89-94.
- GOSLEE S., WOLINSKY E., 1976. Water as a Source of Potentially Pathogenic Mycobacteria. *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 113, 287-292.
- HOUCHOT A., 1979. Contribution à l'étude des mycobactérioses pisciaires en aquarium. Etude d'une Enzoote à *Mycobacterium fortuitum*. *Thèse de Doctorat Vétérinaire*, Univ. Claude Bernard, Lyon.
- KORMENDY B., TUBOLY S., BANKI M., CSABA G.Y., BEKESI L., KOVACS G.E., 1979. Mykobakteriose der Fische. *Schweiz. Arch. Tierheilk.*, 121, 201-205.
- LAUER M., 1976. La tuberculose des poissons, une maladie inhérente aux conditions d'élevage. *Revue fr. Aquariol.*, 1, 42-44.
- LEIBOVITZ L., 1980. Fish Tuberculosis Mycobacteriosis. *J. Amer. Vét. Méd. Ass.*, 176 (5), 415.
- LE MINOR L., VERON M., 1982. *Bactériologie médicale*. Flammarion Médecine Sciences Paris.
- PATTYN S.R., PORTAELS F., BOIVIN A., VAN DEN BREEN L., 1971. Mycobacteria Isolated from the Aquaria of the Antwerp Zoo. *Acta Zool. Path. Antverpiensia*, (52), 65-72.
- PERRON J., 1988. Aquariophiles : portez des gants ! *Gazette Médicale*, 95, 16-17.
- PRADINAUD R., 1980. Mycobactérioses cutanées atypiques. *Encycl. Méd. Chir. Dermatol. Paris*, 12510 B 10.
- RICKEN K.H., SCHMELZ H., LAUER M., 1977. Fischtuberculose. *Tierärztl. Prax.*, 5, 255-258.
- RICKEN K.H., LAUER M., 1977. Die Pathogene bedeutung Fischpathogener mykobakterien für den Menschen. *Tierärztl. Prax.*, 5, 115-117.
- SIMON R.D., 1991. Aquarium granuloma. *Aquarium*, 14, 151-152.
- TACQUET A., TISON F., 1961. Nouvelle technique d'isolement des mycobactéries par le Lauryl sulfate de sodium. *Ann. Inst. Pasteur*, 100, 676-680.
- TERVER D., AGBALIKA F., DAILLOUX M., ESCALLIER G., JORET J.C., 1984. Analyses bactériologiques et recherche de Mycobactéries à l'aquarium tropical de Nancy. *Revue fr. Aquariol.*, 4, 113-124.
- TERVER D., 1982. L'aquarium eau douce, eau de mer. *Réalisations éditoriales pédagogiques*, Paris.
- TSUKAMURA S., 1963. Biological Significance of Pigments of Mycobacteria - Résistance to Ultraviolet Irradiation of Various Unclassified Mycobacteria. *Jap. J. Tuberc.*, 12 (1-2), 7-9.
- VIALLIER J., VIALLIER G., 1977. Etude de la survie dans des eaux de mer de différentes mycobactéries atypiques. *Rev. Inst. Pasteur Lyon*, 10 (2), 139-147.