

Essai de traitement des vibrioses du loup *Dicentrarchus labrax* dans une zone de pisciculture, à Monastir, Tunisie

Sea bass Dicentrarchus labrax vibriosis treatment in a pisciculture area, in Monastir, Tunisia

Amina Bakhrouf*, Hatem Ben Ouada**, Raouf Oueslati*

*Faculté de pharmacie de Monastir

** Institut national des sciences et technologie de la mer - Annexe de Monastir

Mots clés : *Dicentrarchus labrax*, *vibrions*, *survie*, *traitement*.

Key-words: *Dicentrarchus labrax*, *vibriosis*, *survival*, *treatment*.

RÉSUMÉ

Bakhrouf A., H. Ben Ouada, R. Oueslati, 1995 - Essai de traitement des vibrioses du loup *Dicentrarchus labrax* dans une zone de pisciculture, à Monastir, Tunisie. Mar. Life, 5 (2) : 47 - 54.

La recherche et l'identification des bactéries pathogènes du loup *Dicentrarchus labrax* ont été poursuivies, au cours de quatre années, dans une station de pisciculture du littoral méditerranéen, en Tunisie. Les vibrions les plus fréquemment isolés au cours des épizooties étaient *Vibrio alginolyticus* et *V. parahaemolyticus*. Isolés dans différents prélèvements, eau et poissons (adultes ou larves), il semble que ces germes soient responsables de la mortalité observée car ils étaient présents dans le sang de poissons malades. Nous avons étudié les principaux caractères de deux souches de *V. alginolyticus* et *V. parahaemolyticus* isolées dans un même prélèvement de sang. Elles étaient très résistantes aux antibiotiques et présentaient le même phénotype de résistance. Divers traitements essayés au cours des épizooties ont montré que les traitements par la furazolidone associée au formol, ou par le chloramphénicol, sont les plus efficaces pour arrêter l'extension des épizooties.

ABSTRACT

Bakhrouf A., H. Ben Ouada, R. Oueslati, 1995 - [Sea bass *Dicentrarchus labrax* vibriosis treatment in a pisciculture area, in Monastir, Tunisia]. Mar. Life, 5 (2) : 47 - 54.

Isolation and determination of *Dicentrarchus labrax* bacterial pathogens such as *Vibrio parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* and *V. anguillarum* were done for a period of four years in a Mediterranean aquaculture center in Tunisia. Strains isolated during epizootic periods were identified as *V. alginolyticus* and *V. parahaemolyticus*. They were found in different water and fish samples particularly in larvae and genitor blood. We studied the main phenetic characters of these vibrios and found that they had the same antibiotic resistance. Treatment of infected fishes with furazolidone associated with formol, or with chloramphenicol, gave the best results to arrest epizootic expansion.

INTRODUCTION

Les vibrioses des poissons posent des problèmes sérieux dans les zones d'aquaculture (Di Savio *et al.*, 1978 ; Ezura *et al.*, 1980). Anderson, Conroy (1970) les considèrent comme le plus sérieux obstacle de l'aquaculture marine japonaise. Paperna (1980), résumant les travaux effectués sur les infections bactériennes de poissons, a rapporté

que les bacilles Gram négatifs et, principalement les vibrions, causent chez les loups en élevage des ulcérations cutanées et des nécroses caudales. Il peut alors s'agir d'infections sporadiques, d'infections chroniques ou d'infections donnant une maladie où la mortalité est sporadique, mais dans certains cas d'épizooties mortelles.

Les problèmes d'épizooties observés chez les stades juvénile et adulte du loup dans le Centre

national d'aquaculture (C.N.A) de Monastir au cours des automnes et printemps 1987, 1988 et 1989, nous ont incité à rechercher les germes susceptibles d'être pathogènes pour ces poissons, afin de trouver leur origine, de déterminer leurs conditions de survie et de multiplication, et d'établir une méthode de traitement adéquate.

Nous avons pu décrire chez les adultes de loup les symptômes suivants que nous avons classés en trois étapes selon le degré d'extension de la maladie :

(i) lésions hémorragiques externes à la base des nageoires pectorales et/ou sur les opercules ;

(ii) extension des lésions hémorragiques à l'intérieur de la cavité buccale (vomer, palais et surtout langue). Ces lésions peuvent s'étendre aux lèvres et au sommet de la tête ;

(iii) extension de l'hémorragie aux flancs et à l'ensemble du corps. Des cas de pourriture des nageoires et de perte d'un oeil sont observés.

Les poissons peuvent succomber dès la première étape ou à la deuxième ; certains, cependant, résistent jusqu'à la dernière étape. Les traitements antibactériens ont pu guérir des spécimens dès l'apparition des symptômes mais pas les animaux trop atteints. Les poissons nouvellement atteints présentent un état anémique et refusent toute alimentation. Des symptômes semblables ont été décrits par De Kinkelin et Gérard (1980) pour des maladies connues en aquaculture : vibrioses, furunculoses et yersiniozes. Les *Aeromonas* et les *Pseudomonas* peuvent être la cause de l'extension de l'hémorragie à l'ensemble du corps, phénomène désigné par le nom commun de *pestes rouges*.

Nous avons centré notre travail sur la recherche des vibrions. La salinité élevée (40-42) des eaux du CNA Monastir et les températures élevées, essentiellement en été (jusqu'à 32°C), sont en effet favorables au développement de ces germes plutôt que d'autres (Bakhrouf, 1993).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Prélèvement

Les prélèvements ont été faits dans l'écloserie et dans les bassins de grossissement intensif du C.N.A., à des périodes différentes, de façon à cerner l'incidence des vibrioses aux différentes étapes d'élevage du loup : géniteurs, élevage larvaire, sevrage et grossissement. Deux prélèvements sur des géniteurs moribonds (septembre et octobre 1989), deux sur des larves d'un jour et de 47 jours (février et mars 1990), deux sur des alevins d'un gramme (avril 1990) et un prélèvement sur des loups et un sur des dorades (*Sparus aurata*) en grossissement (poids de 50 à 300 g environ) ont été effectués.

Cinq spécimens ont été examinés pour chaque prélèvement. Pour tous les prélèvements, les poissons moribonds ont été choisis, à l'excepti-

on des larves qui ne présentaient pas de signes apparents de maladie.

Des échantillons d'eau ont été collectés avec chaque prélèvement.

Pour les géniteurs, des prélèvements de sang ont été effectués par ponction du vaisseau dorsal de chaque poisson anesthésié.

Traitement des échantillons

Pour les larves, les alevins et les poissons de 50 à 300 g, chaque spécimen a été lavé cinq fois à l'eau de mer autoclavée.

Les organes (branchies, viscères, coeur, reins, muscle) ont été prélevés séparément puis regroupés par lot de cinq pièces. Les échantillons ainsi préparés ont été broyés stérilement, les larves étant broyées en totalité.

Les échantillons d'eau d'élevage ont été filtrés sur membranes à pores de 0,22 µm. Ces membranes ont été placées dans un bouillon hypersalé, et incubées à 37°C pendant 48 heures.

Les échantillons ainsi préparés ont été ensemencés en duplicata sur gélose préparée à l'eau de mer, sur milieu TCBS et en bouillon trypticase soja préparé à l'eau de mer, également. L'incubation a été faite pendant 48 heures à 37°C.

Identification des germes

Le traitement et la recherche des vibrions ont été réalisés par les tests suivants : coloration Gram, recherche de l'oxydase, détermination du type respiratoire et étude des caractères biochimiques sur galeries API 20NE.

La sensibilité aux antibiotiques a été analysée par la méthode de diffusion (antibiogramme) en milieu de Mueller Hinton solide préparé à l'eau de mer. La concentration minimale inhibitrice a également été déterminée en bouillon de Mueller Hinton.

Étude de la survie en eau de mer

Deux souches de vibrions ont été soumises à une étude de survie au laboratoire. Les cellules incubées pendant 18 heures en bouillon trypticase soja préparé à l'eau de mer, ont été récupérées par centrifugation de 15 mn à 3000 t/mn et à température ambiante, puis lavées trois fois à l'eau de mer stérile. Le culot final a été inoculé dans un flacon renfermant 120 ml d'eau de mer stérile jusqu'à une densité de 10⁶ cellules/ml. Un premier dénombrement a été effectué sur gélose nutritive préparée à l'eau de mer (GNEM) et incubée à 37°C. Le flacon a été ensuite maintenu à l'obscurité à la température ambiante, un contrôle de la survie étant réalisé chaque semaine.

Recherche des formes filtrables (< 0,45 µm)

Elle a été effectuée par filtration de 50 ml d'eau de mer inoculée avec le vibron sur membranes à pores de 0,45 µm. La culture de ces formes filtrables a été faite dans le bouillon trypticase soja préparé à l'eau de mer. Les deux souches Va et Vp

ont été inoculées séparément dans des flacons contenant de l'eau de mer, de l'eau de mer additionnée de sable marin prélevé dans une région éloignée des zones urbaines et stérilisé en autoclave (1 : 10), de l'eau de mer additionnée d'eau de puits (1 : 1) et de l'eau physiologique. Un contrôle qualitatif a été effectué quotidiennement durant les deux premières semaines, puis mensuellement.

Suivi et traitement de la maladie

Cette expérience de terrain, suivie pendant deux années consécutives, a concerné six bassins de 12 m³ contenant chacun 30 pièces de géniteurs d'un poids moyen de 2 kg et six bassins de 5 m³ destinés au sevrage-prégrossissement à une charge initiale de 10 individus de 50 mg au litre. Les traitements étaient à base de furazolidone associé au formol pour une meilleure solubilité dans l'eau. Ils ont été effectués par bains de trente minutes à des doses de 10, 70 et 100 ppm. Les traitements ont été appliqués pendant sept jours consécutifs à raison d'un traitement par jour durant les trois premiers jours puis d'un traitement tous les deux jours.

L'évaluation du résultat du traitement a été fondée sur le suivi de l'évolution des symptômes de la maladie et sur la mortalité au sein de chaque bassin.

RÉSULTATS

Recherche des vibrions

Géniteurs de *Dicentrarchus labrax*

L'hémoculture de ces poissons nous a permis d'isoler quatre vibrions potentiellement pathogènes puisqu'ils ont été isolés du sang de tous les poissons étudiés. Sur des galeries API 20 NE, nous avons observé les caractéristiques biochimiques représentées dans le tableau I. Selon ces résultats, les quatre souches isolées sont identifiées à *V. parahaemolyticus* (Vp) (souche 1) si l'on considère que la β galactosidase est positive, *V. alginolyticus* (Va) (souche 2), une souche intermédiaire entre les deux souches précédentes (souche 3) et *V. alginolyticus* (souche 4).

Eau d'élevage et larves

Les analyses bactériologiques des eaux alimentant la salle des pontes naturelles (filtrées sur filtre à pores de 50 μ m), ainsi que celles des eaux d'élevage larvaire (filtrées sur filtre à pores de 5 μ m) et les larves d'un jour (filtrées sur filtre à pores de 5 μ m), ont permis d'isoler quatre souches appartenant aux espèces *V. parahaemolyticus* et *V. alginolyticus*, dont les caractères sont représentés sur le tableau II. D'autre part, l'espèce *V. alginolyti-*

Tableau I - Caractères biochimiques sur galeries API 20 NE de quatre vibrions isolés par hémoculture chez un géniteur malade de *Dicentrarchus labrax*. + : réponse positive ; - : réponse négative ; * : réponse faiblement positive. / Biochemical characters on API 20 NE plaques of vibrios isolated in blood of *Dicentrarchus labrax* infected genitors. + : positive response ; - : negative response ; * : weak response.

Caractère Souche	NO3	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNP	GLU	ARA	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC	OX	Souche
1	+	+	+	-	-	-	+	*	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	Vp
2	+	+	+	-	-	-	+	-	*	-	-	+	-	*	-	-	-	+	-	-	+	Va
3	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	
4	+	+	+	-	-	-	+	-	*	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	

Tableau II - Caractères biochimiques sur galeries API 20 NE des vibrions isolés dans l'eau et chez les larves. EPN : eau des bassins de ponte naturelle. L1j : eau et larves d'un jour. L47j : eau et larves de 47 jours. IC : eau d'élevage intensif bassin circulaire. Vp : *V. parahaemolyticus*. Va : *V. alginolyticus*. / Biochemical characters on API 20 NE plaques of vibrios isolated from water and larvae. EPN : water in natural spawning tanks. L1j : water and one day old larvae. L47j : water and 47 days old larvae. IC : water in intensive rearing circular tanks. Vp : *V. parahaemolyticus*. Va : *V. alginolyticus*.

Caractère Souche	NO3	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNP	GLU	ARA	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC	OX	Souche
EPN	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	Vp
L1J	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	Vp
L47J	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	Va
IC	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	Va

Tableau III - Caractères biochimiques sur galeries API 20 NE des vibrions isolés de la chair de poissons adultes. L : loup. D : dorade. Vp : *V. parahaemolyticus*. Va : *V. alginolyticus*. Vv : *V. vulnificus*. / Biochemical characters of vibrios isolated from flesh of adult fishes, on API 20 NE plaques. L : Sea bass. D : Sea bream. Vp : *V. parahaemolyticus*. Va : *V. alginolyticus*. Vv : *V. vulnificus*.

Caractère Souche	NO3	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNP	GLU	ARA	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC	OX	Souche
L	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	*	-	-	-	+	+	-	+	Va
L	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	Va
L	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	Va
D	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	Va

cus a été retrouvée dans les larves de 47 jours et dans les eaux des bassins de grossissement.

Chair de poissons moribonds en grossissement (poids moyen de 50 à 300 g)

Nous avons isolé de la chair des loupes trois souches de *V. alginolyticus*. En outre, *V. alginolyticus* (ou *V. vulnificus*) a été isolé dans la chair des dorades (tableau III).

Étude de Va et Vp isolés chez les géniteurs

Résistance aux antibiotiques

Le profil d'antibiorésistance était le même pour ces deux souches (tableau IV). Celles-ci n'étaient sensibles qu'à la furazolidone et au chloramphénicol. La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de la furazolidone pour les deux germes montre aussi la même sensibilité, la CMI étant égale à 2 mg/l dans les deux cas.

Tableau IV - Résistance aux antibiotiques des deux vibrions étudiés. R = résistant, S = sensible, L = intermédiaire. / *Vibrios resistance to antibiotics. R = resistant, S = sensitive, L = intermediary.*

Antibiotique	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. alginolyticus</i>
Ampicilline	R	R
Ticarcilline	R	R
Amikacine	R	R
Gentamycine	R	R
Kanamycine	R	R
Tobramycine	R	R
Chloramphénicol	S	S
Tétracycline	R	R
Sulfamide	L	L
Furazolidone	S	S

Survie en eau de mer

Les deux souches incubées en eau de mer, seule ou additionnée de sédiment, ont pu survivre plus de dix-huit mois sans aucun supplément nutritif. Le suivi des variations quantitatives de Va et de Vp au cours de leur incubation en eau de mer (figure 1), montre une augmentation considérable de la survie au cours des trois premiers jours, suivie d'une phase de stabilité relative. Une diminution significative a été observée au cours de la deuxième semaine.

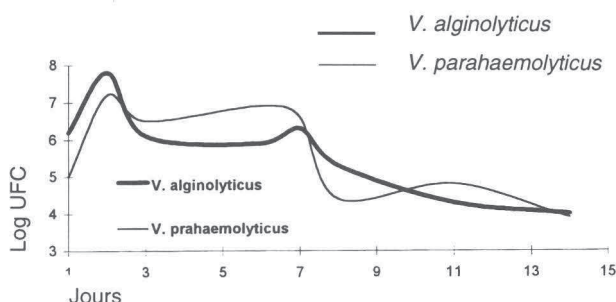


Figure 1 - Variations du nombre de cellules viables et cultivables des deux vibrions testés au cours de leur séjour en eau de mer. *Quantitative variation of the two tested vibrios in sea water.*

Apparition des formes filtrables (<0,45 µm)

Des formes filtrables viables et cultivables des deux souches sont apparues au cours du premier mois d'incubation dans les quatre types de milieu (eau de mer, eau de mer additionnée de sédiment ou d'eau de puits, eau physiologique) puis elles sont devenues rares avant de disparaître au cours du deuxième mois d'incubation.

Les caractères biochimiques de ces formes filtrables, évalués sur galerie API 20NE, sont les mêmes que ceux de la souche parentale à une seule différence : la présence de l'esculine hydrolase, initialement absente chez les deux souches.

Suivi et traitement des vibrioses

En ce qui concerne les géniteurs, la maladie a affecté quatre des six bassins concernés par l'étude. Ces bassins, à l'encontre des deux autres abrités en salle, sont situés à proximité des visiteurs.

Les périodes d'apparition de la maladie étaient, pour deux années consécutives, fin avril-début mai et fin octobre-début novembre, ce qui correspond en fait aux périodes de changement saisonnier.

Divers traitements ont été testés. Les mortalités enregistrées au cours de chaque traitement sont présentées dans le tableau V. Les traitements les plus efficaces ont été ceux appliqués dès l'apparition des premiers symptômes externes, couleur rose au niveau des nageoires et anémie. Ceux appliqués plus tardivement, même à forte dose, ont empêché la propagation de la maladie aux individus sains, mais n'arrivaient pas à guérir ceux qui étaient déjà atteints.

Tableau V - Pourcentage de mortalité des géniteurs de *D. labrax* sous différents traitements au furazolidone. / *D. labrax brood stock mortality percent during different furazolidon treatments.*

Dose de furazolidone	10 g . m ⁻³	70 g . m ⁻³	100 g . m ⁻³	Traitement tardif
Mortalité	40 %	4 %	3 %	70 %

La dose de furazolidone la plus efficace semble être de 70 à 100 g . m⁻³, mélangée avec autant de formol. Ces doses appliquées dès l'apparition des premiers symptômes ont pu empêcher l'aggravation des symptômes et la mortalité.

Le traitement avec le chloramphénicol, à une concentration de 20 g . m⁻³ a donné des résultats semblables.

La figure 2 présente une synthèse des résultats des traitements appliqués aux alevins. Le premier pic de mortalité était commun à toute opération de sevrage et correspondait à la mortalité des animaux incapables de s'adapter au changement alimentaire. La maladie est apparue cinq à six jours environ après la fin du sevrage. Elle était caractérisée par une coloration noire des individus sans distinction de taille et le développement d'un deuxième pic de mortalité.

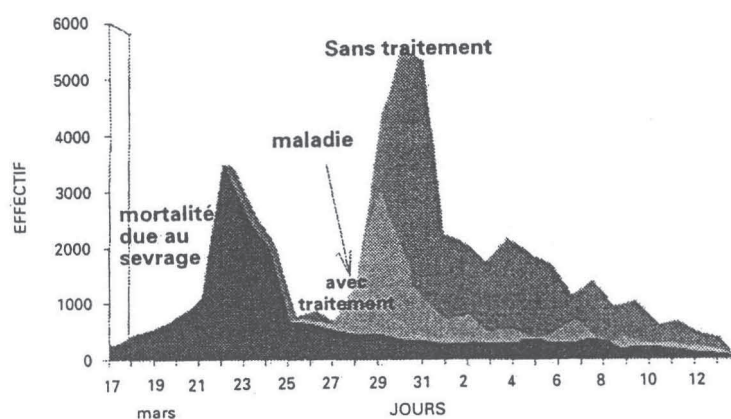


Figure 2 - Mortalité de *D. labrax* au cours du sevrage. / Weaning *D. labrax* mortality.

Seuls les traitements appliqués dès l'apparition des premières mortalités (début deuxième pic), à des doses de 30 à 50 g. m⁻³ de furazolidone et de 30 ml. m⁻³ de formol, ont été efficaces.

DISCUSSION

Les vibrioses des poissons peuvent être causées par plusieurs germes. Dans les zones côtières de Norvège, *V. anguillarum* et *V. salmonicida* sont les pathogènes des poissons les plus fréquents (Hoff, 1989). D'autres vibrios comme *V. carchariae* (Grimes *et al.*, 1984), *V. damsela* (Love *et al.*, 1981), *V. salmonicida* (Soorum *et al.*, 1988) et *V. vulnificus* (Biosca *et al.*, 1991) sont impliqués également dans de nombreuses pathologies de poissons. Egidijs (1987) considère que *V. anguillarum* est le principal agent de la vibriose du loup. Collorni *et al.* (1981) en Israël, et Bakhrouf *et al.* (1992) en Tunisie, ont associé *V. alginolyticus* à la maladie chez la dorade et le loup, bien que cette espèce soit rarement incriminée comme cause de pathologie chez les poissons (Freichs et Roberts, 1989).

La présence de *V. parahaemolyticus* et *V. alginolyticus* a été signalée par différents auteurs dans des climats chauds ou tempérés. Aubert *et al.* (1966) les ont signalés dans les eaux du littoral Nord de la Tunisie. Bockemühl et Triemer (1974) ont signalé la présence de Vp sur les côtes du Togo. Milotoris *et al.* (1985) ont montré que les lagunes des côtes ouest-africaines représentent des réservoirs à Vp et Va. Rivera *et al.* (1989) ont observé Vp et *V. vulnificus* à Puerto Rico, à climat tropical, où la température moyenne est de 28°C. Phelepp *et al.* (1985), signalent que *V. alginolyticus* est le germe le plus fréquent dans la microflore associée à l'élevage du loup et de la dorade.

Nos résultats ont montré une large dominance de *V. parahaemolyticus* et *V. alginolyticus* isolés à maintes reprises en souches pures, à partir des ulcères, des muscles et du sang. Ils étaient ici la cause principale des épizooties enregistrées à différents niveaux des élevages de loup.

Les souches de *V. parahaemolyticus* décrites dans le Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, (Bergey, 1984), sont des halophiles faibles et nécessitent au moins 0,5 % de NaCl pour se développer. Leur halotolérance est de 6 à 8 % de NaCl en eau peptonée (Popoff *et al.*, 1982). Les souches que nous avons isolées ne sont pas halophiles. Il semble qu'il s'agisse de deux souches typiques de certaines régions (Bakhrouf *et al.*, 1992). Sakazaki *et al.* (1968) avaient signalé la présence de telles souches non halophiles au Japon.

Il semble que l'augmentation de la température et de la salinité soient favorable à la survie et la multiplication de ces germes et, par suite, à l'apparition des vibrioses (Tamplin *et al.*, 1982 ; Roberts *et al.*, 1982).

Les conditions de survie et de transmission des vibrios, encore peu claires, semblent dépendre des conditions du milieu. Kaneko et Colwell (1978), ont montré que *V. parahaemolyticus* présente des variations saisonnières dans la baie de Chesapeake et s'adsorbe à la surface des copépodes pour survivre aux conditions hostiles du milieu. Colwell (1983) et Tamplin, Colwell (1986) ont montré que *V. cholerae* survit bien dans des eaux lagunaires sous formes épi-biotiques ou sous forme naine libre "microvibrio". Les transformations morphologiques des vibrios sont fréquentes en milieu hospitalier. Popoff *et al.* (1982) ont montré qu'au cours de la dégénérescence des vibrios en culture vieillissante, il y a décollement de l'enveloppe externe du corps bactérien, aboutissant à la formation d'une sphère dans laquelle est enroulé le corps bactérien. Les formes naines (< 0,45 µm) résultent d'un ensemble de transformations morphologiques et correspondent à un état d'adaptation des vibrios à la carence alimentaire en eau de mer oligotrophe. Il s'agit d'un stade évolutif par lequel passent ces deux biotypes au cours de leur séjour en mer (Kjelleberg *et al.*, 1987). Il est possible que les formes filtrables que nous avons obtenues redonnent des formes normales mais il est également possible qu'elle évoluent vers des formes non cultivables (Oliver, 1993).

La survie prolongée des vibrions étudiés (Va et Vp), dépassant huit mois en flacon d'eau de mer, est suffisante pour expliquer l'état endémique des vibrioses de *Dicentrarchus labrax* dans le CNA. Le suivi de l'incidence des épizooties à vibrions qui sont apparues dans ce centre au cours des quatre dernières années, montre qu'il s'agit d'affections endémo-épidémiques où des poussées épidémiques ont lieu au moment de changement des saisons chaudes et froides : septembre, octobre, avril et mai. Le changement de la température entraîne effectivement des troubles physiologiques chez les poissons en élevage. Il en résulte alors un affaiblissement des défenses de ces animaux qui "se laissent envahir par les germes", particulièrement les vibrions en survie dans cette eau. Nous avons de plus constaté que les bassins situés à proximité du passage des visiteurs et du personnel sont les plus fréquemment touchés par les maladies, probablement favorisées par l'état de stress de ces poissons.

Les traitements appliqués tardivement sont ainsi d'une efficacité limitée. L'infection peut évoluer vers un stade de nécroses hémorragiques entraînant des dommages irréversibles au niveau des tissus internes de l'organisme. Les seuls traitements efficaces sont ceux qui sont appliqués dès l'apparition des maladies ou, mieux encore, avant les périodes de changement de saison, ou après toute manipulation ou stress des poissons, ou encore lors de toute étape critique des élevages marquée par une mortalité naturelle importante : métamorphose ou sevrage.

De tels traitements préventifs, accompagnés d'une hygiène stricte des bassins d'élevage, ont réduit sinon éliminé les vibrioses de loup au CNA de Monastir durant ces deux dernières années. Ils ont de plus l'avantage de réduire les doses d'antibiotiques utilisées (20 mg.m³ au maximum par traitement), diminuant ainsi les risques de sélection de souches bactériennes résistantes qui seraient le résultat d'une utilisation abusive et anarchique des antibiotiques.

La résistance aux antibiotiques, identique chez Va et Vp, laisse supposer qu'il s'agit de deux biovars d'une même espèce. La similitude d'antibiorésistance entre ces deux souches pourrait aussi, au moins partiellement, être due à la présence des mêmes déterminants plasmidiques, peut-être échangés entre les vibrions dans les eaux de la station d'aquaculture, voire même dans les organismes infectés. D'ailleurs, la souche Vp à β - galactosidase faiblement positive est, à 84,6 % de probabilité, un *V. parahaemolyticus* si on considère que la β - galactosidase est positive, et, à 95,8 % de probabilité *V. alginolyticus*, si on considère qu'elle est négative.

La confirmation de cette hypothèse nécessite le recours à la taxonomie moléculaire (Wiik et al., 1995). De nombreux facteurs favorisent l'apparition des vibrioses au CNA de Monastir :

(i) l'écloserie présente des conditions favorables au développement des vibrions, comme cela est souvent le cas dans ce type d'élevage : température de 20°C et salinité de 42 ;

(ii) les aliments des poissons et leurs rejets peuvent en effet servir au développement des vibrions ;

(iii) les épizooties se manifestent généralement à la suite de troubles physiques, chimiques ou nutritionnels.

La multirésistance des vibrions, due à l'utilisation abusive et non contrôlée des antibiotiques au cours des maladies, les rend plus menaçants car l'échange des plasmides entre les bacilles Gram négatifs est facilité en milieu marin (Gauthier et al., 1981). Ce danger reste important tant que les conditions de survie, de multiplication et de transmission sont peu connues. Les espèces Va et Vp que nous avons trouvées présentent une longue durée de survie en eau de mer.

L'existence de ces germes peut avoir des répercussions sur la santé humaine. *V. parahaemolyticus* et, plus rarement, *V. alginolyticus*, peuvent être responsables d'intoxications alimentaires consécutives à la consommation de fruits de mer ou de poissons contaminés (Temmyo, 1966).

BIBLIOGRAPHIE

- Anderson J.I.W., D.A. Conroy, 1970 - *Vibrio* disease in marine fishes. In : *A symposium on diseases of fishes and shellfishes*. S. F. Sniesko, (ed.), Am. Fish. Soc., Sp. Publ. n° 5, Washington DC, pp : 266-272.
- Aubert M., J. Aubert, M. Gauthier, S. Daniel, 1966 - Origine et nature des substances antibiotiques présentes dans le milieu marin. 1ère partie : Etude bibliographique et analyse des travaux. *Revue int. Océanogr. méd.*, **1** : 9-26.
- Bakhrouf A., 1993 - *Modification des caractères des salmonelles, de Pseudomonas aeruginosa et des vibrions en milieu marin*. Thèse d'Etat ès-Sciences. Fac. Sc. Tunis, 159 pp.
- Bakhrouf A., M. Jeddi, H. Ben Ouada, 1992 - Essai d'identification de deux vibrions isolés dans une zone de pisciculture. *Microb. Hyg. alim.*, **4** (9).
- Bergey D.H., 1984 - *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. R.E. Buchanan, N.E. Gibbons (eds), Baltimore, pp : 516-548.
- Biosca E.G., C. Amaro, E. Esteve, E. Elcaid, E. Garay, 1991 - First record of *Vibrio vulnificus* biotype 2 from disease European eel, *Anguilla anguilla*. *J. Fish Dis.*, **14** : 103-109.
- Bockemühl J., A. Triemer, 1974 - Ecology and epidemiology of *Vibrio parahaemolyticus* on the coast of Togo. *Bull. WHO*, **51** : 353-360.
- Collorni A., I. Paperna, H. Gordin, 1981 - Bacterial infections in gilt-head sea bream *Sparus aurata* cultured at Elat. *Aquaculture*, **23** : 257-267.
- Colwell R.R., 1983 - *Vibrios in the environment*. R.L. Metclaf, W.S. Turm, (eds). J. Wiley and Sons, New York.
- De Kinkelin P., J.P. Gérard, 1980 - *Cours de pathologie des poissons*. Conseil supérieur de la Pêche 80440 Boves, France.

- Di Savio L.H., J. Blecka, R. Zerbal, 1978 - *Vibrio anguillarum* and larval mortality in a California coastal shellfish hatchery. *Appl. environ. Microbiol.* **53** (1) : 219-221.
- Egidius E., 1987 - Vibriosis pathogenicity and pathology, a review. *Aquaculture*, **67** : 15-28.
- Ezura Y., K. Tajima, M. Yoshimizu, T. Kimura, 1980 - Studies in taxonomy of causative organisms of fish vibriosis. *Fish Pathol.*, **14** : 167-179.
- Frerichs G.N., R.J. Roberts, 1989 - *Fish pathology*. R.J. Roberts (ed.). 2nd Ed. Baillière Tindall, pp: 289-319.
- Gauthier M.J., G.N. Flatau, P. Bernard, 1981 - Tolérance au plomb, au cadmium et au vanadium, et résistance aux antibiotiques chez les bactéries hétérotrophes de sédiments marins portuaires ou littoraux. *Revue int. Océanogr. méd.*, (63-64) : 65-83.
- Grimes D.J., J. Stemmler, H. Hada, E.B. May, D. Maneval, F.M. Hetrick, R.T. Jones, M. Stoskopf, R.R. Colwell, 1984 - *Vibrio* species associated with mortality of sharks held in captivity. *Microb. Ecol.*, **10** : 271-282.
- Hoff KA., 1989 - Survival of *Vibrio anguillarum* and *Vibrio salmonicida* at different salinities. *Appl. environ. Microbiol.*, **55** (7) : 1775-1786.
- Kaneko T., R.R. Colwell, 1978 - The annual cycle of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake Bay. *Microb. Ecol.*, **4** : 135-155.
- Kjelleberg S., M. Hermansson, P. Marden, 1987 - The transient phase between growth and nongrowth of heterotrophic bacteria, with emphasis on the marine environment. *Ann. Rev. Microbiol.*, **41** : 25-49.
- Love M., D. Teebken-Fisher, J.E. Hose, J.J. Farmer, F.W. Hickman, G.R. Fanning, 1981 - *Vibrio damsela*, a marine bacterium, causes skin ulcers on the damselfish *Chromis puncti-pinnis*. *Science*, **214** : 1139-1140.
- Milotoris E., S.W. Joseph, M.I. Krichensky, W. Sindhuhardja, R.R. Colwell, 1985 - Characterization and distribution of *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus* isolated in Indonesia. *Appl. Microbiol.*, **50** : 1388-1394.
- Oliver, 1993 - Non culturable and resuscitation of *Vibrio vulnificus*. In : *Trends in Microbial Ecology*. R. Guerrero, C. Pedros Alio (eds), Spanish Society of Microbiology, Barcelone, pp : 187-191.
- Paperna T., 1980 - Parasites, infections and diseases of fish in Africa. *CIFA tech. Pap.*, **7** : 7-13.
- Phelepp C., C. Delort, Y. Martin, 1985 - Bactéries associées aux différents niveaux d'une éclosure de poissons marins (*Sparus aurata* ; *Dicentrarchus labrax*). Etude quantitative, caractéristiques et sensibilité à différents antibiotiques de quelques *Vibrionaceae*. *Colloque franco-japonais d'océanographie*. Marseille 16-21 sept. 1985, **4** : 33-46.
- Popoff P., P. Berche, M. Veron, 1982 - Chapitre 16 : *Vibrionaceae*. In : *Bactériologie Médicale*. L. Le Minor, M. Véron (eds), Flammarion Médecine Sciences, Paris, pp : 316-334.
- Rivera S., L. Tomas, T.C. Hazen, 1989 - Autoecology of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* in tropical waters. *Wat. Res.*, **23** : 923-931.
- Roberts N.C., R.J. Siebling, J.B. Kaper, H.B. Bradford, 1982 - *Vibrio* in the Louisiana Gulf Coast Environment. *Microb. Ecol.*, **8** : 299-312.
- Sakazaki R., K. Tamura, T. Kato, Y. Obara, S. Yamai, K. Hobo, 1968 - Studies on the enteropathogenic facultatively halophilic bacteria, *Vibrio parahaemolyticus*. *Ill. Japan. J. med. Sci. Biol.*, **21** : 325-331.
- Soorum H., T.T. Poppe, O. Olsvik, 1988 - Plasmids in *Vibrio salmonicida* isolated from Salmonids with hemorrhagic syndrome (hitra disease). *J. clin. Microbiol.*, **26** : 1679-1683.
- Tamplin M., G.E. Rodrick, N.J. Blake, T. Cuba, 1982 - Isolation and characterisation of *Vibrio vulnificus* in two Florida estuaries. *Appl. environ. Microbiol.*, **44** : 1466-1470.
- Tamplin M.L., R.R. Colwell, 1986 - Effects of microcosm salinity and organic substrate concentration on production of *Vibrio cholerae* enterotoxin. *Appl. environ. Microbiol.*, **52** (2) : 297-301.
- Temmyo R., 1966. Studies on the prevention of food poisoning caused by *Vibrio parahaemolyticus*. *Bull. Tokyo Med. Dent. Univ.*, **13** : 489-510.
- Wiik R., E. Stackebrandt, O. Valle, Fl. Daae, O.M. Rodseth, K. Andersen, 1995 - Classification of fish pathogenic vibrios based on comparative 16S RNA analysis. *Int. J. syst. Bact.*, **45** (3) : 421-428.

Reçu en février 1994 ; accepté en juillet 1996.

Received February 1994; accepted July 1996.