

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

ECOLE INTER-ETATS DES SCIENCES ET MEDECINE VETERINAIRES
(E.I.S.M.V.)



ANNEE: 2009

N° 31

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'EPITHELIOCYTOSE DES POISSONS EN MILIEU NATUREL ET EN ELEVAGE

THESE

Présentée et soutenue publiquement le **28 Juillet 2009** à 9 heures devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de Dakar pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MEDECINE VETERINAIRE
(DIPLOME D'ETAT)

Par

Bernard Agré KOUAKOU

Né le 18 Février 1981 à Cocody (COTE D'IVOIRE)

JURY

Président :

M. José Marie AFOUTOU

Professeur à la Faculté de Médecine, de Pharmacie
et d'Odonto - Stomatologie de Dakar

Directeur et

Rapporteur de Thèse :

M. Serge Niangoran BAKOU

Maître de conférences agrégé à l'E.I.S.M.V. de Dakar

Membre :

M. Yalacé Yamba KABORET

Professeur à l'E.I.S.M.V de Dakar

Co-Directeur :

M. Oubri Bassa GBATI

Maître-assistant à l'E.I.S.M.V de Dakar



ECOLE INTER-ETATS DES SCIENCES ET MEDECINE VETERNAIRES DE DAKAR

BP 5077 - DAKAR (Sénégal)
Tél. (221) 865 10 08 - Télécopie (221) 825 42 83

COMITE DE DIRECTION

LE DIRECTEUR

▣ **Professeur Louis Joseph PANGUI**

LES COORDONNATEURS

▣ **Professeur Justin Ayayi AKAKPO**
Coordonnateur Recherches /Développement

▣ **Professeur Germain Jérôme SAWADOGO**
Coordonnateur des Stages et
de la Formation Post-Universitaires

▣ **Professeur Moussa ASSANE**
Coordonnateur des Etudes

Année Universitaire 2008-2009

PERSONNEL ENSEIGNANT

☛ **PERSONNEL ENSEIGNANT EISMV**

☛ **PERSONNEL VACATAIRE (PREVU)**

☛ **PERSONNEL EN MISSION (PREVU)**

☛ **PERSONNEL ENSEIGNANT CPEV (PREVU)**

A. DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET PRODUCTIONS
ANIMALES

CHEF DE DEPARTEMENT : Ayao MISSOHOU, Professeur

SERVICES

1. ANATOMIE-HISTOLOGIE-EMBRYOLOGIE

Serge N. BAKOU	Maître de conférences agrégé
Gualbert Simon NTEME ELLA	Assistant
Mlle Sabine NGA OMBEDE	Monitrice
Mr Bernard Agré KOUAKOU	Moniteur
Mlle Rose Eliane PENDA	Docteur Vétérinaire Vacataire

2. CHIRURGIE –REPRODUCTION

Papa El Hassane DIOP	Professeur
Alain Richi KAMGA WALADJO	Assistant
Bilkiss V.M ASSANI	Docteur Vétérinaire Vacataire
Fabrice Juliot MOUGANG	Docteur Vétérinaire Vacataire

3. ECONOMIE RURALE ET GESTION

Cheikh LY	Professeur
Adrien MANKOR	Assistant
Mr Gabriel TENO	Moniteur

4. PHYSIOLOGIE-PHARMACODYNAMIE-THERAPEUTIQUE

Moussa ASSANE	Professeur
Rock Allister LAPO	Assistant
Mr Sabra DJIGUIBET	Moniteur

5. PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

Germain Jérôme SAWADOGO	Professeur
Mouiche MOULIOM	Docteur Vétérinaire Vacataire
Mr Pascal NYABINWA	Moniteur

6. ZOOTECHNIE-ALIMENTATION

Ayao MISSOHOU	Professeur
Simplex AYESEDEWEDE	Assistant
Mr Kouamé Marcel N'DRI	Moniteur

B. DEPARTEMENT DE SANTE PUBLIQUE ET ENVIRONNEMENT

CHEF DE DEPARTEMENT : Rianatou BADA ALAMBEDJI, Professeur

SERVICES

1. HYGIENE ET INDUSTRIE DES DENREES ALIMENTAIRES D'ORIGINE ANIMALE (HIDAOA)

Malang SEYDI	Professeur
Bellancille MUSABYEMARIYA	Assistante
Khalifa Babacar SYLLA	Assistant
Mr David RAKANSOU	Docteur Vétérinaire Vacataire
Mr Eugène NIYONSIMA	Moniteur

2. MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-PATHOLOGIE INFECTIEUSE

Justin Ayayi AKAKPO	Professeur
Mme Rianatou ALAMBEDJI	Professeur
Philippe KONE	Assistant
Jean Marc FEUSSOM KAMENI	Docteur Vétérinaire Vacataire
Abdel-Aziz ARADA IZZEDINE	Docteur Vétérinaire Vacataire

3. PARASITOLOGIE-MALADIES PARASITAIRES-ZOOLOGIE APPLIQUEE

Louis Joseph PANGUI	Professeur
Oubri Bassa GBATI	Maître-assistant
Paul Armand AZEBAZE SOBGO	Docteur Vétérinaire Vacataire

4. PATHOLOGIE MEDICALE-ANATOMIE PATHOLOGIQUE - CLINIQUE AMBULANTE

Yalacé Yamba KABORET	Professeur
Yaghouba KANE	Maître-assistant
Mireille KADJA WONOU	Assistante
Medoune BADIANE	Docteur Vétérinaire (SOVETA)
Omar FALL	Docteur Vétérinaire (WAYEMBAM)
Alpha SOW	Docteur Vétérinaire (PASTAGRI)
Abdoulaye SOW	Docteur Vétérinaire (FOIRAIL)
Ibrahima WADE	Docteur Vétérinaire Vacataire
Charles Benoît DIENG	Docteur Vétérinaire Vacataire
Togniko Kenneth TCHASSOU	Moniteur
Enock NIYONDAMYA	Moniteur

5. PHARMACIE-TOXICOLOGIE

Félix Cyprien BIAOU	Maître-Assistant (<i>en disponibilité</i>)
Gilbert Komlan AKODA	Assistant
Assiongbon TEKOU AGBO	Assistant
Abdou Moumouni ASSOUMY	Moniteur

C. DEPARTEMENT COMMUNICATION

CHEF DE DEPARTEMENT : YALACE YAMBA KABORET, Professeur

SERVICE

1. BIBLIOTHEQUE

Mariam DIOUF Documentaliste

2. SERVICE AUDIO-VISUEL

Bouré SARR Technicien

3. OBSERVATOIRE DES METIERS DE LELEVAGE (OME)

D. SCOLARITE

El Hadji Mamadou DIENG	Vacataire
Mlle Houénafa Chimelle DAGA	Monitrice
Mlle Aminata DIAGNE	Sécretaire

PERSONNEL VACATAIRE (Prévu)

1. BIOPHYSIQUE

Boucar NDONG

Assistant

Faculté de Médecine et de Pharmacie UCAD

2. BOTANIQUE

Dr Kandouioura NOBA

Dr Mame Samba MBAYE

Maître de Conférences (**Cours**)

Assistant (**TP**)

Faculté des Sciences et Techniques UCAD

3. AGRO-PEDOLOGIE

Fary DIOME

Maître-Assistant

Institut de Science et de la Terre (**IST**)

4. ZOOTECHNIE

Abdoulaye DIENG

Docteur Ingénieur

Enseignant à ENSA - THIES

Léonard Elie AKPO

Professeur

Faculté des Sciences et Techniques

UCAD

Alpha SOW

Docteur Vétérinaire Vacataire

PASTAGRI

El Hadji Mamadou DIOUF

Docteur Vétérinaire Vacataire

SEDIMA

5. H I D A O A

. NORMALISATION ET ASSURANCE QUALITE

Mme Mame S. MBODJ NDIAYE

Chef de la division Agro-alimentaire de

L'Institut Sénégalais de Normalisation

. ASSURANCE QUALITE – CONSERVE DES PRODUITS DE LA PECHE

Abdoulaye DIAWARA

Direction de l'Élevage du Sénégal

PERSONNEL EN MISSION (Prévu)

1. TOXICOLOGIE CLINIQUE

Abdoulaziz EL HRAIKI

Professeur
Institut Agronomique et Vétérinaire
Hassan II Rabat (Maroc)

2. PATHOLOGIE CHIRURGICALE

Mohamed AOUINA

Professeur
Ecole Nationale de Médecine
Vétérinaire de TUNISIE

3. REPRODUCTION

Hamidou BOLY

Professeur
Université de BOBO-DIOULASSO
(Burkina Faso)

4. ZOOTECHNIE-ALIMENTATION ANIMALE

Jamel RKHIS

Professeur
Ecole Nationale de Médecine
Vétérinaire de TUNISIE

PERSONNEL ENSEIGNANT CPEV (Prévu)

1. MATHEMATIQUES

Abdoulaye MBAYE

Assistant
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD

2. PHYSIQUE

Issakha YOUM

Maître de Conférences (**Cours**)
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD

André FICKOU

Maître-Assistant (**TP**)
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD

3. CHIMIE ORGANIQUE

Abdoulaye SAMB

Professeur
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD

4. CHIMIE PHYSIQUE

Abdoulaye DIOP
Mame Diatou GAYE SEYE

Maître de Conférences
Maître de Conférences
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD

Rock Allister LAPO

Assistant (**TP**)
EISMV – DAKAR

Momar NDIAYE

Assistant (**TD**)
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD

5. BIOLOGIE VEGETALE

Dr Aboubacry KANE
Dr Ngansomana BA

Maître-Assistant (**Cours**)
Assistant Vacataire (**TP**)
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD

6. BIOLOGIE CELLULAIRE

Serge Niangoran BAKOU

Maître de conférences agrégé
EISMV - DAKAR

7. EMBRYOLOGIE ET ZOOLOGIE

Karomokho DIARRA

Maître de conférences
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD

8. PHYSIOLOGIE ANIMALE

Moussa ASSANE

Professeur
EISMV – DAKAR

9. ANATOMIE COMPAREE DES VERTEBRES

Cheikh Tidiane BA

Professeur
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD

10. BIOLOGIE ANIMALE (T.P.)

Serge Niangoran BAKOU

Maître de conférences agrégé
EISMV - DAKAR

Oubri Bassa GBATI

Assistant
EISMV - DAKAR
Assistant - DAKAR

Gualbert Simon NTEME ELLA

11. GEOLOGIE

. FORMATIONS SEDIMENTAIRES

Raphaël SARR

Maître de Conférences
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD

. HYDROGEOLOGIE

Abdoulaye FAYE

Maître de Conférences
Faculté des Sciences et Techniques
UCAD

12. CPEV TP

Travaux Pratiques

Houénafa Chimelle DAGA

Monitrice

DEDICACES

Au terme des études vétérinaires et de ce travail qui ont accouché cette thèse, je ne saurais tourner les pages suivantes sans mettre un frein pour dédier cette œuvre:

- **A DIEU. TU** es Grand, **TU** es Fort, **TU** es majestueux, et nous ne méritons pas tous ce que **TU** nous donnes. Je voudrais d'un cœur sincère te dire merci pour toutes les étapes de la vie que tu m'as permis de franchir, surtout pour ce moment. Accordez-moi votre grâce afin que je vous découvre en chacun de mes frère et dans le métier que je vais exercer d'ici peu.
- A la mémoire de mon père **KOUAKOU Dienzou**, tu es parti au moment où tu pourrais espérer les fruits de tes multiples sacrifices. C'est en pensant à toute la joie que tu aurais éprouvée aujourd'hui que j'ai eu la force et le courage d'aller jusqu'au bout. Rassures toi, tu vivras toujours dans mon cœur ; repose en paix.
- A ma mère **KOUASSI Aya Valéry**. Tu es mon dieu sur terre. Tu ne sais ni lire, ni écrire et pourtant tu as transmis à tous tes enfants une connaissance que nul ne connaîtrait l'origine : vois-en les fruits aujourd'hui. Je n'ai pas les mots pour extérioriser ma gratitude. Aussi ta sollicitude extrême et l'amour du prochain font de toi la reine des mères. Puisse Dieu te donner longue vie.
- A mes frères **Simon, Dimitri, Romaric** et sœurs **Lidwine, Brigitte, Antonia, Michaële**. Avec si peu, on peut faire beaucoup : voyez vous-même. Vous êtes un trésor pour moi. Je vous aime.
- A mon ami **Jean François KOBENAN**, merci d'avoir guidé mes pas vers l'université de COCODY (Côte d'Ivoire) et vers la médecine Vétérinaire au Sénégal. Je te dois beaucoup.
- A mon oncle **Antoine KAKOU et sa femme**. Vous avez acceptés sans conditions aucunes de payer mon inscription en 1^{ère} année d'université. Aujourd'hui voyez les fruits de votre humble geste. Que Dieu vous bénisse.
- A mon tuteur **ACADIER Stéphane**. Vous m'avez acceptés chez vous et m'avez accueilli comme votre fils. Voyez ce que je suis aujourd'hui : "merci père".
- A ma famille d'accueil au Sénégal, surtout à **maman Nancy**. Merci pour l'affection et le cadre familial que vous m'avez apportés.

- A mon ami **KOUAKOU Ba Toussaint** de l'Université de COCODY. Je te dois ce que je suis aujourd'hui. Merci pour les conseils et pour l'aide apportée pendant notre formation à l'université.
- A **Mon Amie**. Je t'ai connu ici à Dakar et nous nous sommes rendu compte que sommes compatibles. Avec toi, j'ai appris que quand on veut une chose, tout l'univers conspire à nous permettre de réaliser notre rêve. Que le future soit meilleur qu'aujourd'hui pour nous..
- A **Dr Kenneth T. Tchassou, Mr Gaston DOTOU, Mr Rivel Geordan LOUFOUMA**, pour l'amitié sincère et vraie que nous avons eu au Sénégal. Vous resterez toujours dans mon cœur et sachez que vous êtes marqués indélébilement dans ma mémoire.
- Au **Dr Elie BADAÏ**
- A Mr. **Aliou NACRO** vous que j'appelle "mon oncle". Merci pour les conseils de chaque jour.
- Au **Dr Cheryl M. French**, marraine de la 36^{ème} Promotion. Vous nous avez fait un grand honneur en acceptant d'être marraine de notre promotion. Sincère remerciement.
- . A tous **les étudiants de la 36^{ème} promotion**. Merci de m'avoir choisi comme président de promotion. Je profite de l'occasion pour vous souhaiter bonne vie professionnelle et familiale. Soyez les meilleurs vétérinaires là où vous serez.
- Au **Dr Abdou Mou Assoumy, Dr Habib SALAMI**, vous m'avez appris beaucoup de chose de la vie que je ne savais pas.
- Au **Dr Céline T.N. N'GUESSAN**, tu resteras une mère pour moi
- A mes amis de tous jours **Céline, Valentin, Constant, Enock, Marcel**. Restons unis
- A tous mes amis de l'école, vous allez me manquer.
- A mes frères de l'amicale des étudiants vétérinaires de Dakar (AEVD)
- A mes frères de l'amicale des étudiants vétérinaires Ivoirines au Sénégal (CEVIS).
- A ma patrie la Côte d'Ivoire
- Au Sénégal qui m'a accueilli.

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail il m'est particulièrement agréable d'adresser mes remerciements aux personnes suivantes :

- Au professeur **Serge Niangoran BAKOU**, merci de m'avoir confié ce travail et d'avoir œuvré pour sa réalisation.
- Au **Dr ATSE Boua Célestin** du **CRO** à Abidjan (Côte d'Ivoire), pour l'aide que vous m'avez accordée sur le terrain quant au prélèvement des poissons. Votre simplicité, votre gentillesse et votre amour pour le travail nous ont permis de réaliser cette œuvre. Que Dieu rende au centuple tout l'aide que vous nous m'avez accordée.
- **AU Dr Oubri Bassa GBATI**, merci pour les branchies prélevées à **SINE SALOUM** (Sénégal).
- Au **Dr SYLLA SOUMAILA** pour ces remarques et sa contribution.
- Au **Dr KOUMI Ahou Rachel**, à **M. Bernard** du **CRO** et à **ASSEU Patrick**, pour l'aide, vos conseils, votre bonne humeur et votre sympathie sur le terrain.
- A M. **DOUDOU Diagne** du laboratoire d'Histopathologie de l'EISMV
- A M. **SENE** technicien au Service Anatomie –Histologie- Embryologie, pour vos conseils.
- Au Docteur **Gualbert**

A NOS MAITRES ET JUGES

A notre Maître et Président de Jury,

M. José Marie AFOUTOU, Professeur à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d’Odonto-Stomatologie de Dakar.

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider notre jury de thèse malgré vos multiples occupations. Vos qualités scientifiques et votre disponibilité vous ont valu toute l’estime dont vous jouissez aujourd’hui.

Veillez trouver ici, la marque de notre grande estime et de toute notre profonde gratitude.

A notre Maître, Directeur et Rapporteur de thèse,

M. Serge Niangoran BAKOU, Maître de conférences agrégé à l’EISMV de Dakar.

Vous avez accepté d’encadrer et de diriger ce travail avec rigueur scientifique et pragmatisme, malgré vos multiples occupations. Vos qualités humaines et d’homme de science suscitent respect et admiration. Nous avons été marqués par votre amour du travail et votre simplicité. Soyez rassuré de notre sincère reconnaissance, et recevez nos sincères remerciements. Hommage respectueux.

A notre Maître et Juge

M. Yalacé Yamba KABORET, Professeur à l’E.I.S.M.V. de Dakar.

Nous avons été très touchés par la spontanéité et la simplicité avec lesquelles vous avez accepté de siéger dans ce jury. Votre rigueur scientifique et votre sens du travail bien fait font de vous une personnalité distinguée. Soyez rassurés de notre grande considération.

A notre maître et co-directeur de thèse

M. Oubri Bassa GBATI, Maître Assistant à l'E.S.M.V de Dakar.

Vous avez initié et co-encadré ce travail de thèse. Cela a été un réel plaisir pour nous de travailler avec vous, vue votre excellentes qualités humaines et votre passion pour la recherche. Soyez rassurée de notre profonde gratitude et de notre considération.

«Par délibération, la faculté et l'école ont décidé que les opinions émises dans les dissertations qui leurs sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner aucune approbation, ni improbation »

LISTE DES ABREVIATIONS

ADNr : Acide Désoxyribonucléique ribosomique

ARNr : Acide Ribonucléique ribosomique

CRG : groupe de recherche chlamydia

EB : elementary body = corps élémentaire infectieux

HE : Hémalum -Eosine

IB : intermediate body = corps intermédiaire

ILC : intermediate long cell = grandes cellules intermédiaires

ISH : hybridation in situ;

MES : matières en suspension

NHI : nécrose hématopoïétique infectieuse

NPI : nécrose pancréatique infectieuse

P B S : Phosphate Buffer Sulfate = Tampon phosphate

PCNA/Cyclin : antigène nucléaire de prolifération cellulaire

PCR : real-time Polymerase Chain Reaction

PLC : primary long cell = grandes cellules primaires

RB : corps réticulé

SC : small cell = petites cellules vacuolisées

SVH : Septicémie hémorragique virale

T.B.S : Tris Buffer sulfate = Tampon tris

VPC : virémie printanière de la carpe

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Mortalités associées à l'épithéliocytose signalée dans les élevages de poissons (confirmé par l'histopathologie)

Tableau II : Marquage immunohistochimique d'échantillons d'épithéliocytose selon la méthode de GROFF *et al.* (1996)

Tableau III : Identification moléculaire de l'agent de l'épithéliocytose

Tableau IV : Prévalence maximale de l'épithéliocytose signalée dans différentes espèces de poissons

Tableau V : Espèces de poisson où l'épithéliocytose a été signalée comme indétectable c'est-à-dire négatif (prévalence 0%) pour l'épithéliocytose

Tableau VI : Exemple de pathologie et réponse de l'hôte à l'épithéliocytose.

Tableau VII: Poids et longueurs standard chez *Oreochromis niloticus* (Dabou)

Tableau VIII : Poids et longueurs standard chez *Oreochromis niloticus* (Azaguié)

Tableau IX: Poids et longueurs standard chez *Oreochromis niloticus* (Aboisso)

Tableau X: Poids et longueurs standard chez *Sarotherondon melanotheron* (Dabou)

Tableau XI: Poids et longueurs standard chez *Chrysichthys nigrodigitatus* (Dabou)

Tableau XII: longueurs standards (Moyennes et écart-types) des 3 espèces de poissons

LISTE DES FIGURES

- Figure 1 :** Représentation schématique générale des branchies chez les Myxines, les Lamproies, les Elasmobranches et les Téléostéens
- Figure 2 :** Représentation schématique de la vascularisation artério-artérielle d'un filament branchial
- Figure 3 :** Représentation schématique de l'innervation des branchies
- Figure 4 :** Coupe semi-fine d'un épithélium branchial
- Figure 5 :** Schéma de coupe transversale de la lamelle branchiale.
- Figure 6 a :** les différents corps formés pendant le cycle de développement I
- Figure 6 a' :** Cycle de développement typique des Chlamydia
- Figure 7 :** Cycle de développement II
- Figure 8:** Relation phylogénétique entre les *Chlamydiales*
- Figure 9 :** Photo satellite d'étude de la zone d'étude : Village de Badoudou
- Figure 10. :** Situation géographique de la Station Expérimentale d'Aquaculture de Layo
- Figure 11 :** *Oreochromis niloticus*
- Figure 12:** *Sarotherodon melanotheron*
- Figure 13:** *Chrysichthys nigrodigitatus*
- Figure 14 :** Principales mensurations du Poisson
- Figure 15 :** Coupe de filaments branchiaux normaux (HE)
- Figure 16:** Coupe de filaments branchiaux présentant des lésions de téléangiectasies (HE)
- Figure 17:** Coupe de filaments branchiaux présentant des décollements des cellules piliastres (HE)
- Figure 18:** Coupe de filaments branchiaux présentant un œdème au niveau des lamelles branchiales primaires (HE)
- Figure 19 :** Coupe de filaments branchiaux avec fusion des lamelles (HE)

Figure 20 : Coupe histologique de peau de poisson (HE)

Figure 21: Répartition des kystes d'épithéliocytose en fonction de leur diamètre

Figure 22a: Coupe de filaments branchiaux montrant deux populations de kystes (flèches) (HE)

Figure 22b: Coupe de filaments branchiaux mettant en évidence la paroi du kyste (flèche) (HE).

Figure 23 : Kystes fixés au sommet des lamelles branchiales (HE)

Figure 24: Coupe de filaments branchiaux montrant des kystes en prolifération cellulaire (PCNA/Cyclin)

Figure 25: Coupe de filaments branchiaux montrant les cellules épithéliales (PCNA/Cyclin)

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....	4
Chapitre I : GENERALITES SUR LA BIOLOGIE DES POISSONS.....	5
I.1. Biologie du Poisson.....	6
I.1.1. Classification.....	6
I.1.2. Caractères généraux des Poissons.....	7
I.1.2.1. Téguments.....	7
I.1.2.1.1. Epiderme	7
I.1.2.1.2. Derme	7
I.1.2.1.3. Phanères	8
I.1.2.1.4. Glandes cutanées.....	8
I.1.2.1.5. Ecailles	9
I.1.2.2. Squelette	9
I.1.2.2.1. Squelette céphalique ou crânien.....	9
I.1.2.2.2. Squelette axial	10
I.1.2.2.3. Squelette appendiculaire (membres).....	10
I.1.2.3. Système nerveux et organes sensoriels	11
I.1.2.3.1. Système nerveux	11
I.1.2.3.2. Organes sensoriels.....	11

I.1.2.4. Appareil uro-génital.....	13
I.1.2.4.1. Appareil urinaire	13
<i>I.1.2.4.2. Appareil génital.....</i>	14
I.1.2.5. Appareil digestif et Vessie natatoire.....	15
I.1.2.5.1. Appareil digestif.....	15
I.1.2.5.2. Vessie natatoire	15
I.1.2.6. Appareil circulatoire.....	16
I.1.2.7. Appareil respiratoire.....	17
I.1.2.7.1 Aspect normal des branchies.....	17
Chapitre II : GENERALITES SUR LES MALADIES DES POISSONS.....	27
II.1. Les causes des maladies des Poissons.....	28
II.1.1. Les causes d'ordre physique.....	28
II.1.2. Les causes d'ordre chimique	29
II.1.3. Les causes d'ordre biologique	29
II.1.3.1. Les viroses.....	30
II.1.3.2. Les bactérioses	30
II.1.3.3. Les mycoses	31
II.1.3.4. Les parasitoses.....	31
Chapitre III : L'EPITHELIOCYTOSE CHEZ LES POISSONS	33
III.1. Introduction.....	34
III.1.1. Définition.....	34
III.1.2. Historique	34

III.1.3. Importance	34
III.2. Etiologie de l'épithéliocytose	37
III.2.1. Classification des agents pathogènes	37
III.2.2. Cycle de développement des agents pathogènes.....	37
III.3. Epidémiologie de l'épithéliocytose	46
III.3.1. Répartition géographique et espèces affectées.....	46
III.3.2. Réceptivité et sensibilité des espèces hôtes	46
III.3.2.1. Facteurs intrinsèques.....	46
<i>III.3.2.1.1. Espèces</i>	46
<i>III.3.2.1.2. Age</i>	47
III.3.2.2. Facteurs extrinsèques	47
<i>III.3.2.2.1. Fortes densités d'élevage et présence de nutriment</i>	52
<i>III.3.2.2.2. La saison et la température</i>	52
III.3.3. Mode de transmission.....	52
II.4. Etudes cliniques	53
II.4.1 Symptômes.....	53
III.4.2. Lésions.....	53
III.4.2.1. Lésions macroscopiques	53
III.4.2.2. Lésions microscopiques.....	53
III.5. Diagnostic	59
III.6. Traitement	59
DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE	61

Chapitre I : MATERIEL ET METHODES	62
I.1 Lieux d'étude.....	63
I.1.1 Village de Badoudou (Sénégal)	63
I.1.2 La Station Expérimentale d'Aquaculture de Layo de Dabou	64
I.1.3 Station piscicole de Azaguié.....	66
I.2 Matériel.....	66
I.2.1 Matériel animal	66
I.2.2. Matériel technique.....	69
I.2.2.1. Matériel de prélèvement et de transport	69
I.2.2.2. Matériel de mesure et de pesée.....	69
I.2.2.3. Matériel d'extraction des branchies.....	69
I.2.2.4. Produits pour la confection des coupes histologiques.....	69
I.2.2.5. Matériel pour la confection des coupes	70
I.3. Méthodes	71
I.3.1. Mensurations et pesées.....	71
I.3.2. Extraction et conservation des branchies.....	73
II.3.3. Réalisation des coupes histologiques.	73
I.3.4 Colorations et réactions histologique.....	74
I.3.4.1. Coloration à l'Hémalun - Eosine (HE).....	74
I.3.4.2. Réaction immunohistochimique	74
I.4. Montage des lamelles	75
I.5. Observation des lames	75

I.6. Etude histomorphométrique	76
Chapitre II : RESULTATS	77
II.1. Mensurations	78
II.2. Résultats	82
II.2.1. Lésions macroscopiques	82
II.2.2. Lésions microscopiques.....	82
II.2.2.1. <i>Poissons d'élevage</i>	82
II.2.2.2. Poissons de l'estuaire du Sine – Saloum.....	86
II.2.2.2.1. Description des lésions	86
II.2.2.2.2. Nombre de poissons atteints	90
Chapitre III : DISCUSSION	91
III.1 Conduite de l'étude expérimentale	92
III. 2 Analyse des résultats.....	92
III.2.1 Mensurations et poids.....	92
III.2.2 Lésions histologiques	93
CONCLUSION	98
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	102

INTRODUCTION

La consommation annuelle de poisson en Côte d'Ivoire a été estimée à 243.581 tonnes en 2000 (ANONYME, 2000). Ceci représente environ 70% des protéines animales consommées (BNETD, 2003). Environ 70% des besoins nationaux en poissons sont importés. La production nationale de poissons est presque exclusivement assurée par la pêche (ANONYME, 2000). La pisciculture ne fournit par conséquent qu'une infime quantité de poissons. Elle a débuté en Côte d'Ivoire dans les années 1975. Actuellement le cycle de reproduction de plusieurs espèces à savoir les *Ciclidae* comme *Oreochromis niloticus*, les *Bagridae* comme *Chrysichthys nigrodigitatus* et les *Clariidae* comme *Heterobranchus longifilis* et *Heterobranchus bidorsalis* sont bien maîtrisés.

La zone du Delta du Saloum au Sénégal présente l'une des biodiversités les plus riches des milieux estuariens tropicaux. On y trouve une faune très riche qui constitue un abri pour plusieurs espèces en danger d'extinction. Son écosystème de mangrove joue un rôle important pour les animaux aquatiques, surtout les poissons, en leur fournissant des habitats productifs et diversifiés et des apports nutritifs pour leur croissance et leur développement (BLABER, 1986). Cependant, ces milieux sont en train de se dégrader de jour en jour du fait des pollutions d'origine et d'ampleur variées, naturels ou anthropiques. Ces altérations ont des impacts écologiques au niveau des sources d'énergie et de la nourriture ou encore de la qualité de l'eau (KARR, 1991).

L'étude des pathologies des poissons se justifie par leur rôle dans l'alimentation et l'économie des populations africaines mais aussi par le fait que les poissons, de part, leur mode de vie aquatique, constituent un indicateur biologique non négligeable de la qualité de l'eau. Ainsi, les poissons peuvent être vus comme un outil d'étude et de conservation des milieux aquatiques

Chez les Poissons, la finesse des lamelles des branchies et leur large contact avec l'eau permettent de surmonter le handicap de la teneur en oxygène de ce

milieu mais les amènent inexorablement à rencontrer un maximum d'agents de maladies présents dans le milieu (bio-agresseurs, produits toxiques). Toute altération branchiale se répercutera alors sur la respiration et les performances du poisson. Les branchies sont donc la force et le premier point faible du poisson (KINKELIN *et al.*, 1985).

BYUKUSENGE (2008) a rapporté des lésions d'épithéliocytose chez *Mugil cephalus* au cours de son étude sur la pathologie des branchies des poissons de l'estuaire du Sine Saloum. Ces lésions étaient caractérisées par des kystes dont le contenu forme une substance granuleuse homogène et basophile. Ces kystes étaient de taille variable (20 à 40 μm de diamètre) et délimités par une membrane simple. Ils adhéraient à l'épithélium primaire des filaments branchiaux, dans les espaces séparant deux lamelles branchiales.

L'objectif général de notre étude est de faire l'étude de l'épithéliocytose chez les poissons d'élevage (Côte d'Ivoire) et vivant à l'état naturel dans l'estuaire du Sine – Saloum (Sénégal).

De manière spécifique, il s'agira de :

- réaliser l'étude de l'incidence de la maladie en élevage et en milieu naturel ;
- préciser les lésions d'épithéliocytose.

Notre étude comporte deux parties.

- Une première partie bibliographique consacrée à la biologie et aux maladies du Poisson de manière générale et en particulier l'étude de l'épithéliocytose chez les Poissons,
- Une deuxième partie consacrée à l'étude expérimentale qui traite du matériel et des méthodes utilisés ainsi que les résultats obtenus et leur discussion.

PREMIERE PARTIE :

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I :
GENERALITES SUR LA BIOLOGIE
DES POISSONS

I.1. Biologie du Poisson

I.1.1. Classification

Jusqu'à la fin du XIX^e siècle, les poissons étaient considérés comme une vaste classe de Vertébrés au même titre que les amphibiens, les reptiles, les oiseaux et les mammifères. Mais, les progrès de la paléontologie ont montré le caractère hétérogène faisant de cet ensemble un groupement *paraphylétique*, ce qui fait que beaucoup de zoologistes renoncent à donner au terme de « poissons » un sens scientifique (BEAUMONT *et al.*, 2000).

Les poissons sont alors démembrés en deux grands ensembles : les Agnathes et les Gnathostomes.

- ⇒ **Les Agnathes** : Ils sont caractérisés par l'absence de mâchoires et différents autres traits primitifs. Ils ne sont représentés dans la nature actuelle que par deux groupes bien distincts : les *lamproies* et les *myxines*, autrefois réunies sous le terme de « *cyclostomes* », qui ne désigne en réalité qu'un ensemble polyphylétique. On leur joignait de nombreuses formes fossiles d'agnathes cuirassés.
- ⇒ **Les Gnathostomes** : Leur apomorphie principale est la possession de mâchoires articulées. Outre la possession de mâchoires, ces vertébrés sont caractérisés par la présence d'un troisième canal semi-circulaire horizontal, celle de myéline autour des axones, la présence d'un tractus uro-génital et de deux paires de nageoires paires (pectorales et pelviennes). Les gnathostomes sont représentés dans la nature actuelle par deux classes : les poissons cartilagineux (Chondrichthyens) et les poissons osseux (Ostéichthyens).
- ✓ **Les condrichthyens** constituent une classe monophylétique ; ils sont caractérisés par un squelette cartilagineux. En plus des Sélaciens (requins

et raies) et des Holocéphales (Chimères), deux autres groupes fossiles se rattachent aux condrichthyens : les Edestides et les Pétalodontides.

- ✓ **Les ostéichthyens** constituent quant à eux, une classe paraphylétique. Ils ont été démembrés en deux grands groupes monophylétiques actuels : les **Actinoptérygiens** (Chondrostéens, Brachyoptérygiens, Holostéens et Téléostéens) et les **Sarcoptérygiens** (Dipneustes et Crossoptérygiens). Ils sont caractérisés par l'ossification du squelette.

I.1.2. Caractères généraux des poissons

I.1.2.1. Téguments

La particularité des téguments des Poissons est la présence d'écailles.

I.1.2.1.1. Epiderme

L'épiderme des poissons n'est pas stratifié. Les cellules épidermiques restent vivantes dans toute l'épaisseur de l'épiderme et sont éliminées sans subir de transformation particulière. Les cellules superficielles des poissons possèdent des microvillosités courtes et trapues, revêtues d'un manteau de nature glycoprotéique (interprété comme une « cuticule » en microscope photonique) qui ne serait normalement pas formé par le mucus sécrété par les cellules glandulaires spécialisées, mais directement par les cellules épithéliales superficielles (**BEAUMONT et al.**, 2000).

I.1.2.1.2. Derme

Le derme est constitué par un feutrage de fibres de collagène superposées à un réseau de fibres élastiques. Cette structure lui confère une grande résistance mécanique et donne à la peau son rôle protecteur. Le derme est pénétré par de nombreux vaisseaux sanguins, des terminaisons nerveuses et des cellules

pigmentaires. Ces dernières encore appelées *chromatophores*, sont généralement situées sous l'épiderme et sont responsables de la coloration du tégument (BEAUMONT *et al.*, 2000 ; GRASSE, 1996).

1.1.2.1.3. Phanères

Les phanères ne sont connus que chez un très petit nombre de téléostéens. Ils sont représentés par les *tubercules de reproduction* ou organes *perliiformes* qui se différencient juste avant la reproduction au niveau de la tête, du dos et des nageoires des mâles de certaines espèces. Ce sont de simples épaissements épidermiques recouverts d'une coiffe de cellules kératinisées. Ils permettraient de maintenir le contact entre partenaires pendant l'accouplement (BEAUMONT *et al.*, 2000).

1.1.2.1.4. Glandes cutanées

L'épiderme non kératinisé des poissons contient de nombreuses cellules glandulaires isolées, différenciées à partir de l'assise germinative. L'activité continue de cette dernière les déplace progressivement vers la surface de l'épiderme où elles crèvent, déversent leurs sécrétions et meurent. La plupart de cellules élaborent du mucus qui forme un film protecteur contre les micro-organismes (Champignons, Bactéries...). Certaines glandes cutanées chez les téléostéens cypriniformes, sécrètent une *substance d'alarme* qui est détectée par l'organe olfactif d'autres individus de la même espèce.

Les *pseudoglandes* venimeuses des poissons sont des groupements de cellules glandulaires sans canal excréteur propre. Elles sont annexées aux épines operculaires ou aux rayons épineux des nageoires dorsales, anales et pelviennes. Les *organes lumineux* des poissons marins sont soit des formations glandulaires abritant des photobactéries symbiotes, soit plus généralement des organes d'origine épidermique possédant des *photocytes*, cellules capables de

transformer en lumière l'énergie chimique libérée par l'oxydation enzymatique d'un substrat, la luciférine (**BEAUMONT et al.**, 2000).

1.1.2.1.5. Ecailles

⇒ *Les écailles des Ostéichthyens :*

Ce sont des plaques exosquelettiques permanentes, articulées ou imbriquées, à croissance continue, constituées par des tissus exosquelettiques variés, parmi lesquels le tissu osseux est toujours présent. Deux grands types d'écailles caractérisent les Ostéichthyens et correspondent à leurs deux grandes lignées évolutives : les écailles *cosmoïdes* et leurs dérivés sont propres à la lignée des *Sarcoptérygiens*, les écailles *ganoïdes* et leurs dérivés à la lignée des *Actinoptérygiens*.

⇒ *Les écailles placoides des Chondrichthyens :*

Les écailles des Chondrichthyens diffèrent de celles des ostéichthyens par leur remplacement illimité, leur éruption par percement de l'épiderme, leur cavité pulpaire et leur soudure à un socle acellulaire (**BEAUMONT et al.**, 2000).

1.1.2.2. Squelette

1.1.2.2.1. Squelette céphalique ou crânien

Du point de vue anatomique, le crâne des poissons comme celui de tous les vertébrés, se compose de deux parties :

- Un *neurocrâne* organisé autour de l'encéphale et des organes sensoriels pairs (olfactifs, visuels et stato-acoustiques) ;
- Un *splanchnocrâne* organisé autour des cavités buccale et pharyngienne.

1.1.2.2.2. Squelette axial

⇒ *Squelette axial primaire* :

Le squelette primaire des embryons de vertébrés est constitué par la *corde dorsale*, tige élastique faite de cellules vacuolisées, polyédriques par pression réciproque.

Chez les chondrichthyens et les téléostéens la corde dorsale est étranglée par le développement des vertèbres et son calibre ne reste normal que dans les espaces intervertébraux.

⇒ *Squelette axial secondaire* :

Le squelette axial secondaire ou *colonne vertébrale*, propre au vertébrés, s'organise autour de la corde à partir du mésenchyme sclérotomien. Il est fait d'une succession de pièces métamérisées, cartilagineuses ou ossifiées, les *vertèbres* (**BEAUMONT et al.**, 2000 ; **GRASSE**, 1996).

1.1.2.2.3. Squelette appendiculaire (membres)

Les membres des poissons sont de type *nageoires* ou *ptérygium*. Ce sont des replis cutanés en forme de palettes, soutenus par des rayons squelettiques. Il existe des nageoires *impaires* situées dans le plan sagittal et liées plus ou moins directement à la colonne vertébrale. Suivant leur position, elles sont qualifiées de dorsale (s), caudale, anale (s). Les nageoires *paires* sont situées au niveau du tronc de part et d'autre du plan sagittal, elles sont articulées sur les arcs squelettiques transversaux, les ceintures : la ceinture antérieure ou pectorale porte une paire de nageoires pectorales, la ceinture postérieure (pré-cloacale), une paire de nageoires pelviennes.

I.1.2.3. Système nerveux et organes sensoriels

I.1.2.3.1. Système nerveux

Le système nerveux des poissons est construit sur le plan commun à tous les vertébrés. Il comporte d'une part le système cérébro-spinal (encéphale, moelle épinière, ganglions, nerfs crâniens et spinaux), et le système autonome (ganglions sympathiques, nerfs sympathiques et parasympathiques).

L'encéphale des poissons, de petite dimension par rapport à la boîte crânienne émet *dix* paires de nerfs crâniens. Il comporte les mêmes divisions que chez les vertébrés supérieurs mais présente un développement relativement différent :

- ✓ Le télencéphale est réduit aux lobes olfactifs antérieurs et postérieurs ;
- ✓ Le diencephale comporte l'épithalamus, le thalamus, l'hypothalamus et, à sa partie antérieure, le chiasma optique ;
- ✓ Le mésencéphale constitue les lobes optiques ;
- ✓ Le métencéphale vient ensuite, suivi du myélocéphale d'où partent plusieurs nerfs crâniens.

Enfin, la moelle épinière chemine à la partie supérieure de la colonne vertébrale en émettant des nerfs spinaux en nombre variable selon les espèces (**KINKELIN** *et al.*, 1985)

I.1.2.3.2. Organes sensoriels

Les organes sensoriels fondamentaux des vertébrés existent chez les poissons. La sensibilité chimique (olfaction et goût) est bien développée chez la plupart d'entre eux. L'*odorat* est localisé aux sacs nasaux situés en avant ou au-dessus de la bouche, ouverts par un étroit orifice. Son importance est variable, mais il joue généralement un rôle important dans divers types de comportement comme la recherche des aliments ou le phénomène de homing chez les migrants.

Chez quelques téléostéens, les sacs olfactifs présentent une régression et peuvent disparaître.

Les *bourgeons gustatifs* sont abondants dans la muqueuse buccale et pharyngienne. Ils peuvent se rencontrer autour de la bouche, sur la tête et, dans certaines espèces de silures et de loches, se répandre sur toute la surface du corps. Les *yeux* ont la même organisation que dans les autres vertébrés. Il faut noter cependant, que le cristallin sphérique est indéformable et que l'accommodation se réalise alors par divers mécanismes qui le déplacent par rapport à la rétine où se forme l'image. La réduction de l'œil jusqu'à la disparition s'est réalisée plus souvent que chez les autres vertébrés, et l'on a dénombré ainsi une centaine d'espèces de poissons anophtalmes vivant dans des milieux non éclairés, grands fonds marins et eaux souterraines.

L'*appareil stato-acoustique* est représenté par l'oreille interne constituée comme chez les tétrapodes. La partie supérieure (utricule et canaux circulaires) est un organe d'équilibration sensible à la position du corps par rapport à la pesanteur, mais aussi aux variations des vitesses de déplacement et aux changements de direction. La posture normale d'un poisson paraît déterminée à la fois par la pesanteur agissant sur l'oreille interne et par l'éclairement vertical agissant sur le système optique. L'ouïe est souvent faible chez les poissons. Cependant, chez certains téléostéens, il existe une connexion entre la vessie natatoire (vessie gazeuse) et l'oreille interne, relation qui favorise la réception des sons dans l'eau.

L'appareil sensoriel le plus caractéristique des poissons (bien qu'il se rencontre aussi, plus ou moins dégradé, chez les larves aquatiques des amphibiens et chez l'adulte pour les espèces de ce groupe qui mènent une vie aquatique permanente) est le *système latéral*. C'est un système mécano-sensoriel, sensible aux mouvements d'eau dans le milieu environnant, ce qui permet à l'animal

d'éviter les obstacles, de détecter ses proies ou ses prédateurs et de nager en bancs sans visibilité : il s'agit véritablement d'une forme de «toucher à distance». Beaucoup de poissons, comme la truite présentent une ligne particulièrement visible qui s'étend latéralement, de la tête à la queue, et a donné son nom à l'ensemble du système.

Les cellules de ce système sont groupées en sortes de bourgeons, les *neuromastes*, disposés superficiellement dans l'épiderme ou le long des canaux épidermiques enfoncés dans le derme mais communiquant par des pores avec la surface. Un canal du système latéral appelé *ligne latérale* court sur chaque flanc et se prolonge sur la tête suivant un plan bien déterminé. La stimulation des neuromastes est assurée par les courants d'eau à la surface du corps de l'animal, et le système latéral rend ainsi compte des mouvements de l'eau au voisinage du poisson et sans doute aussi des vibrations de basses fréquences (**GHYSEN** *et al.*, 2003).

I.1.2.4. Appareil uro-génital

I.1.2.4.1. Appareil urinaire

Chaque rein est essentiellement formé d'une série de tubes ou *néphrons*, métamérisés à l'origine, qui partent du coelome et communiquent avec l'extérieur par un canal commun, le *canal de Wolff*.

Sur leur trajet, ces tubes présentent un renflement ou *chambre néphritique* qui vient coiffer un peloton de vaisseaux capillaires dépendant de l'aorte et forme le glomérule de Malpighi. Ce rein primitif ou *pronephros* n'apparaît que dans les myotomes les plus antérieurs, ceux qui sont situés immédiatement en arrière de la tête. Le pronephros se forme dans tous les embryons, mais, précocement, il est remplacé par un *opisthonephros* fonctionnel qui se différencie dans les segments mésodermiques situés en arrière de ceux qui donnent le rein primitif. Très tôt, la portion rénale se sépare de la plaque latérale

et du myotome ; elle devient un tubule qui entre d'abord en communication avec le canal de Wolff, puis avec le cœlome ; elle bourgeonne une ou plusieurs chambres néphritiques qui donnent autant de glomérules de Malpighi. Autour de ces tubules urinaires s'amasse un tissu conjonctif d'aspect lymphoïde. Les canaux de Wolff débouchent au cloaque (**GRASSE**, 1996).

1.1.2.4.2. Appareil génital

Chez les poissons, l'anatomie des organes reproducteurs, les testicules chez les mâles et les ovaires chez les femelles est assez semblable. Ils sont de forme allongée et en contact avec la paroi inférieure de la vessie natatoire (**KOUA**, 2003).

- ⇒ **Les testicules** : Ils se présentent sous la forme de deux languettes allongées et lobées d'aspect lisse et de couleur laiteuse. Ils s'étendent dorsalement, tout le long et l'arrière de la cavité abdominale. Ils sont associés à des vésicules séminales qui sont plus ou moins développées et ramifiées, localisées entre la papille génitale et les testicules (**OTEME et al.**, 1996). De chaque testicule part un canal déférent. Les deux canaux déférents se réunissent pour aboutir à un *orifice ano-génito-urinaire* (**KOUA**, 2003).
- ⇒ **Les ovaires** : Les ovaires ont un aspect granuleux et de teinte rosée. Chacun d'eux possède une cavité ovarienne débouchant sur un oviducte qui aboutit à *l'orifice génito-urinaire*. Les ovaires sont très riches en vaisseaux sanguins et surtout en vaisseaux lymphatiques. Ces derniers sont les principaux intervenants dans le transfert des substances telles que les hormones, les lipides, les acides aminés, l'oxygène et le gaz carbonique entre le tissu ovarien et les ovocytes (**OTEME et al.**, 1996) .

I.1.2.5. Appareil digestif et Vessie natatoire

I.1.2.5.1. Appareil digestif

L'appareil digestif comprend l'ensemble des organes qui participent à la digestion des aliments, c'est-à-dire à leur transformation en substances chimiques simples capables de pénétrer dans le sang ou la lymphe (BEAUMONT *et al.*, 2000).

Les dents des sélaciens ont la structure des écailles placoides. Dans certaines espèces, elles sont répandues sur toute la muqueuse buccale ; mais, généralement elles sont localisées au pourtour de la bouche. Chez les actinoptérygiens, les dents se soudent à certains os : mâchoires, palais...

Sur les arcs branchiaux (5^e paire) de beaucoup de téléostéens apparaissent des dents bien développées, formant de véritables mâchoires dites pharyngiennes.

Le canal alimentaire n'a rien de bien particulier ; à l'œsophage fait ordinairement suite une dilatation ou estomac, dans l'épithélium duquel se trouvent des glandes à pepsine. L'estomac ainsi que les glandes à pepsine manquent chez beaucoup de téléostéens, ce qui montre que ces organes ne sont pas indispensables à toutes les espèces ou que, physiologiquement, d'autres viscères suppléent à leur absence. L'intestin moyen des chondrichthyens et des ostéichthyens primitifs présente un repli interne saillant qui décrit une spire à tours nombreux, comparable à un escalier de colimaçon dépourvu d'axe.

Les glandes annexes du tube digestif sont : le *foie*, très volumineux et riche en huile qui contient en abondance l'ergostérol (vitamine D) provenant en particulier des diatomées prises dans le plancton et le *pancréas* massif ou diffus (GRASSE, 1996).

I.1.2.5.2. Vessie natatoire

Chez la plupart des actinoptérygiens, la paroi dorsale de l'œsophage émet un diverticule impair qui se développe au plafond de la cavité générale, entre les

reins, immédiatement sous la colonne vertébrale, en volumineux sac rempli de gaz, de forme très variable : c'est la *vessie natatoire* ou encore vessie aérienne ou vessie gazeuse (**BEAUMONT et al.**, 2000). Elle contient de l'oxygène mélangé à un peu d'azote et de gaz carbonique. A ses surfaces externe et interne, les capillaires artériels forment des réseaux admirables, connus sous le nom de corps rouge. En outre, chez diverses espèces, à la face interne de l'organe, on observe des amas de cellules d'aspect glandulaire qui forment la glande gazeuse. Les chondrichthyens mais aussi certains téléostéens n'ont pas de vessie natatoire. Chez les sarcoptérygiens, ce diverticule hydrostatique devient un poumon (**GRASSE**, 1996).

I.1.2.6. Appareil circulatoire

Le cœur, composé de deux chambres contractiles, *oreillette* et *ventricule*, est situé sur la ligne médio-ventrale en arrière du dernier arc branchial. Il est enveloppé d'un **péricarde** d'origine cœlomique. Le ventricule se continue en avant par un renflement qui se prolonge par l'artère branchiale d'où se détachent les *artères branchiales afférentes* à raison d'une paire par arc branchial. Dans la branchie, ces vaisseaux se résolvent en un réseau d'où partent les *artères branchiales efférentes* qui se jettent dans les racines de l'aorte dorsale laquelle distribue le sang aux divers organes et se continue par l'artère caudale jusqu'à l'extrémité de la queue. Les vaisseaux qui pénètrent dans un même arc branchial constituent un arc aortique (**BEAUMONT et al.**, 2000 ; **GRASSE**, 1996).

Le sang revient au cœur par un système veineux complexe. Plusieurs des veines de la queue se jettent dans les reins où elles se capillarisent et forment un *système porte-rénal* ; elles en sortent par deux gros vaisseaux : les *veines cardinales postérieures* qui aboutissent au cœur par un large sinus. Le *système porte-hépatique* comprend la veine porte qui se déverse dans le foie où elle se résout en capillaires ; le sang s'échappe par la veine hépatique qui se jette

directement dans le sinus veineux. De grosses *veines latérales* ramènent au cœur le sang superficiel de la partie postérieure du corps. Le sang de la partie antérieure revient au sinus veineux par des *veines cardinales antérieures*. Le cœur, en définitive, n'est donc traversé que par du sang veineux : on parle de circulation sanguine à « sens unique ». Les hématies des poissons sont ellipsoïdes et nucléées (GRASSE, 1996).

I.1.2.7. Appareil respiratoire

Les organes respiratoires des poissons sont typiquement des branchies. C'est-à-dire des systèmes de lamelles épithéliales, fortement vascularisées, situées au niveau des perforations latérales du pharynx, qui mettent en communication la cavité pharyngienne et l'extérieur.

Les échanges gazeux se font à travers le mince épithélium limitant des lamelles branchiales. Le poisson avale de l'eau qui pénètre dans le pharynx et ressort directement par des fentes branchiales, chez les Chondrichthyens, ou par les fentes operculaires, chez les ostéichthyens. La prise d'eau se fait selon un rythme régulier (GRASSE, 1996).

Quelques poissons osseux possèdent divers dispositifs anatomiques qui leur permettent de respirer l'air atmosphérique, soit qu'ils puissent provisoirement quitter l'eau et se déplacer à terre, soit que, la teneur en oxygène dans l'eau étant trop faible, ils viennent piper l'air en surface.

I.1.2.7.1 Aspect normal des branchies

I.1.2.7.1.1 Définition

Les branchies sont des organes à fonctions multiples qui, en plus d'être le siège de la respiration aquatique, assurent également des fonctions excrétrices

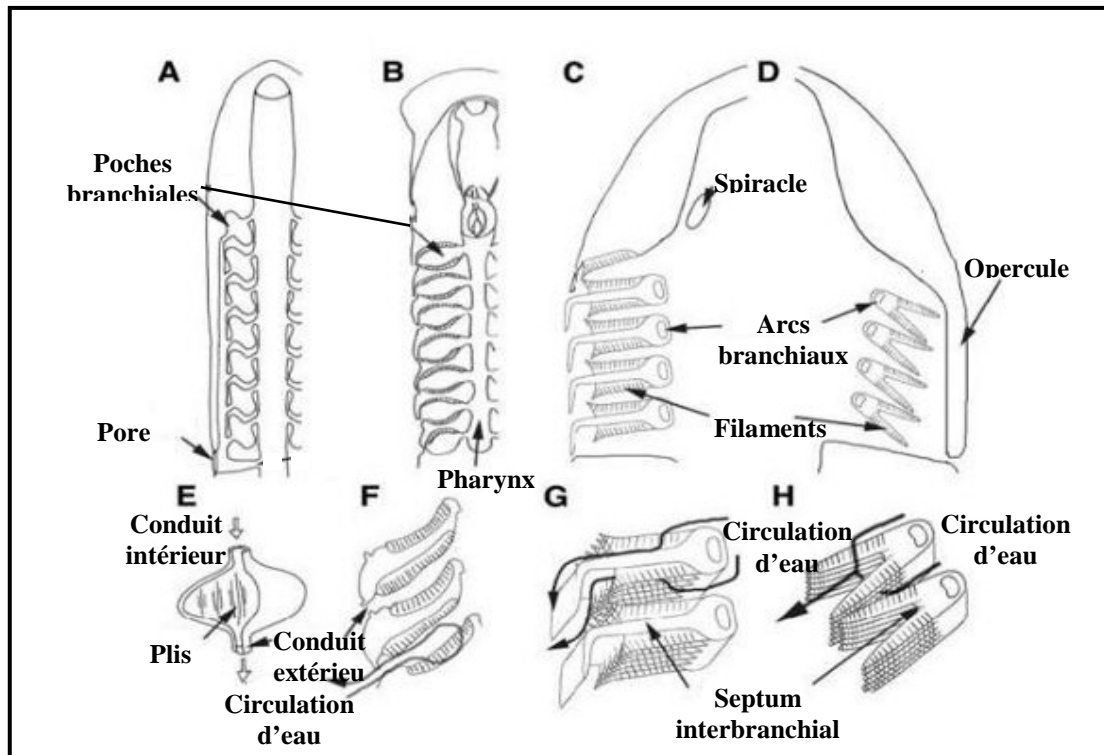
(élimination de l'ammoniaque issue du catabolisme protéique), ionorégulatrices et de contrôle de l'équilibre acido-basique (EVANS *et al.*, 2003).

Les branchies externes cutanées, pennées, si répandues chez les invertébrés, ne se rencontre qu'à titre transitoire chez les larves d'amphibiens et de certains Poissons. Les branchies définitives sont toujours des branchies internes, lamellaires, caractéristiques des oordés, développées sur les parois de diverticules latéraux pairs du pharynx, les poches branchiales, en communication avec le milieu extérieur par les fentes branchiales (BEAUMONT *et al.*, 2000).

1.1.2.7.1.2 Structure anatomique

1.1.2.7.1.2.1 Topographie

La structure anatomique générale des branchies est fondamentalement la même dans toutes les lignées des poissons. Elle consiste en une double série de *lames branchiales* superposées, développées de part et d'autre d'un *septum interbranchial* et portant elles-mêmes, deux rangées de *lamelles branchiales* vascularisées (**figure 1**) (BEAUMONT *et al.*, 2000).



**Figure 1 : Représentation schématique générale des branchies chez les myxines (A et E), les lamproies (B et F), les élasmobranches (C et G) et les téléostéens (D et H).
Source : EVANS *et al.* (2003).**

1.1.2.7.1.2.1.1. Branchies septales des Elasmobranches

Le septum interbranchial, sur lequel les lames s'insèrent sur la quasi-totalité de leur longueur, est une cloison aplatie qui confère une forme allongée aux poches et aux fentes branchiales. Il est soutenu par les rayons branchiaux cartilagineux articulés sur l'arc branchial correspondant situé dans sa partie interne, auxquels peuvent s'ajouter des cartilages extrabranchedans sa partie externe.

L'appareil branchial d'un élasmobranch est composé, de chaque côté, d'une hémibranchie mandibulaire vestigiale ou pseudobranchie, d'une hémibranchie hyoïdienne et de quatre holobranchies branchiales (BEAUMONT *et al.*, 2000 ; EVANS *et al.*, 2003 ; WRIGHT, 1973).

Chez les élasmobranches, l'eau entre au niveau du pharynx par la bouche ou spiracle, passe entre les filaments branchiaux, le long du septum interbranchial pour sortir par les fentes branchiales (EVANS *et al*, 2003).

1.1.2.7.1.2.1.2 Branchies operculées des Ostéichthyens

Elles dérivent probablement des branchies septales par réduction du septum qui devient plus court que les lames branchiales et n'atteint plus la paroi du corps (**Fig. 1H**). Les lames branchiales deviennent alors libres sur la plus grande partie de leur longueur. Deux structures nouvelles viennent suppléer à la réduction du septum en tant que support des lames branchiales : les *arêtes branchiales* et l'*opercule* (**Fig. 1D**) (BEAUMONT *et al.*, 2000 ; EVANS *et al*, 2003).

Chez les téléostéens, l'eau entre par la bouche puis, passe à travers les filaments branchiaux et tout au long de la paroi de l'opercule pour ressortir par l'ouverture caudale de l'opercule (EVANS *et al*, 2003).

1.1.2.7.1.2.2 Vascularisation

Le sang entre au niveau des branchies par les *artères branchiales afférentes*, qui reçoivent la totalité du sang venant du cœur par l'aorte ventrale. Le sang est alors oxygéné au niveau des lamelles branchiales. Le sang oxygéné est ensuite collecté par les *artères branchiales efférentes* qui le conduisent à l'aorte dorsale pour regagner la distribution systémique (OLSON, 1981 ; 2002).

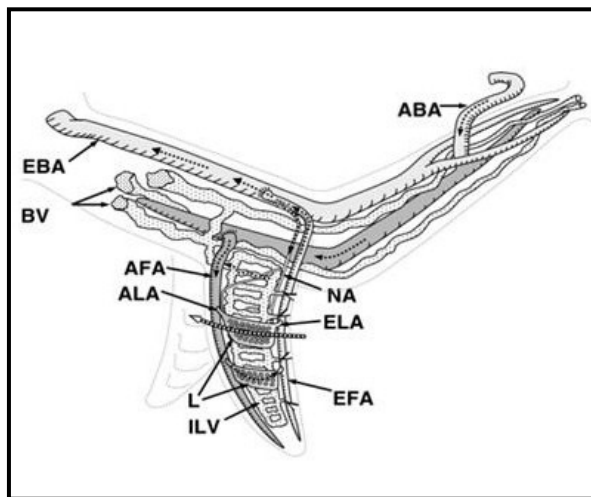
Au moins deux systèmes microcirculatoires interconnectés favorisent les diverses activités des branchies et forment le plus complexe des réseaux vasculaires trouvés chez aucun Vertébré (BEAUMONT *et al.*, 2000):

⇒ Un circuit *artério-artériel* à rôle respiratoire spécialisé. C'est une vascularisation fonctionnelle ; il vascularise l'épithélium secondaire des

lamelles branchiales et permet donc les échanges gazeux entre le sang du poisson et son environnement (EVANS *et al*, 2003). Il est constitué par :

- des *artères afférentes des filaments*, issues des artères branchiales afférentes, qui longent le bord interne des filaments branchiaux ;
- des *artères efférentes des filaments* qui longent le bord externe puis se jettent dans les artères branchiales efférentes (BEAUMONT *et al.*, 2000 ; OLSON, 1981 ; 2002). (Fig. 2)

⇒ Des circuits *artério-veineux* nutritifs classiques qui sont particulièrement complexes et encore mal connus. Ils vascularisent l'épithélium primaire des filaments branchiaux (et non les lamelles) (BEAUMONT *et al.*, 2000 ; EVANS *et al*, 2003).



ABA= artère branchiale afférente,
 AFA= artère afférente de filament,
 ALA= artérioles lamellaires afférentes,
 BV= veines branchiales,
 EBA= artère branchiale efférente,
 EFA= artère branchiale efférente,
 ELA= artériole lamellaire efférente,
 ILV= vaisseaux interlamellaires,
 L= lamelle,
 NA= artère nutritive.

Figure 2 : Représentation schématique de la vascularisation artérielle d'un filament branchial. Source : OLSON, 2002.

1.1.2.7.1.2.3 Innervation

Les nerfs qui innervent les branchies dérivent des nerfs crâniens VII (facial), IX (glossopharyngien) et X (vague). Chacun d'eux est divisé en deux rameaux, l'un post-trématique, *rameau moteur* et l'autre pré- et post-trématique, *rameau sensoriel*. Les arcs branchiaux autres que le premier sont

généralement innervés par le nerf vague. Selon certains auteurs, il existerait une innervation sensorielle et motrice autonome dans les branchies des Téléostéens. Une telle innervation n'a pas encore été décrite chez les Elasmobranches et les Agnathes même si les récepteurs adrénergiques et cholinergiques ont été identifiés dans les vaisseaux des branchies des Elasmobranches et des Myxines (EVANS *et al.*, 2003 ; METCALFE *et al.*, 1984).(Fig. 3)

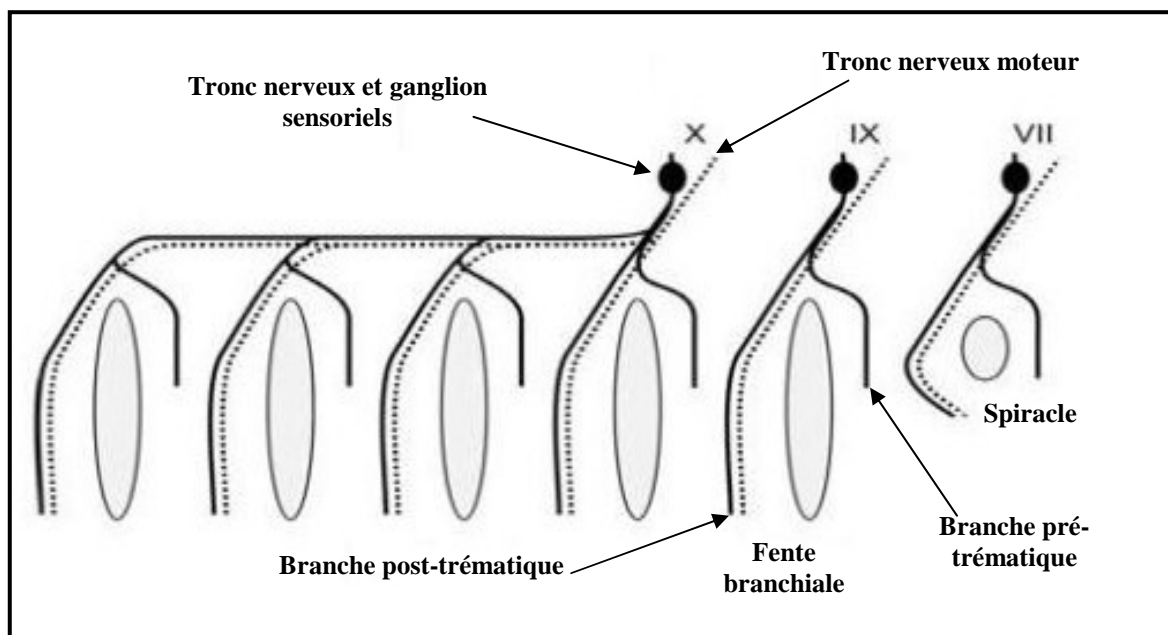


Figure 3 : Représentation schématique de l'innervation des branchies.
Source : EVANS *et al.*, 2003.

Du point de vue histochimique, il existe des fibres nerveuses aux catécholamines associées aux artères afférentes des filaments et aux artérioles lamellaires afférentes chez certaines espèces de téléostéens. Des fibres similaires sont associées aux artères efférentes et aux artérioles lamellaires efférentes chez certaines espèces. Les lamelles semblent ne pas être innervées (DUNEL *et al.*, 1982 ; EVANS *et al.*, 2003).

Les fibres cholinergiques ont été décrites dans les branchies mais elles ne sont associées qu'à la vascularisation efférente. Il existe également dans les

filaments branchiaux, des cellules neuro-épithéliales sérotoninergiques mais aussi des fibres et cellules neuro-épithéliales contenant de l'oxyde nitrique (DUNEL *et al.*, 1982 ; DUNEL *et al.*, 1989).

1.1.2.7.1.3 Structure histologique

1.1.2.7.1.3.1. Aspect macroscopique

La branchie est un organe d'aspect strié dont la structure fonctionnelle est la *lamelle branchiale*. Les lamelles sont implantées sur des formations horizontales, les *filaments*, renfermant des vaisseaux afférents et efférents ainsi qu'un axe cartilagineux. Les filaments eux-mêmes sont insérés sur des piliers osseux entourant la cavité bucco-pharyngée, les *arcs branchiaux* (BEAUMONT *et al.*, 2000 ; EVANS *et al.*, 2003 ; KINKELIN *et al.*, 1985).

C'est la stratification des filaments accrochés à leurs arcs qui forme *une lame branchiale* et donne à la branchie l'aspect macroscopique strié qu'on lui connaît. Deux lames sont implantées sur chaque arc et constituent une branchie (KINKELIN *et al.*, 1985).

1.1.2.7.1.3.2. Aspect microscopique

1.1.2.7.1.3.2.1. Structure d'une lamelle branchiale

L'observation au microscope d'une lamelle branchiale montre que celle-ci est essentiellement composée de deux feuillets épithéliaux dont les faces internes sont jointes par une série de cellules individuelles appelées *cellules pilastres* qui assurent donc la rigidité de l'ensemble (**figure 4 et 5**). Le sang circule entre les espaces autour des cellules pilastres et entre les deux couches épithéliales des lamelles branchiales (EVANS *et al.*, 2003 ; KINKELIN *et al.*, 1985).

1.1.2.7.1.3.2.1.1. Epithélium branchial

L'épithélium qui couvre les filaments et les lamelles constitue une barrière entre l'environnement externe du poisson et les fluides extracellulaires, mais il joue également un rôle important dans les fonctions physiologiques de la branchie (EVANS *et al*, 2003).

L'épithélium branchial est composé de plusieurs types cellulaires mais les principaux sont les cellules pavimenteuses (>90%) et les cellules riches en mitochondries (<10%), communément appelées chez les Téléostéens, *cellules à chlorure* (LAURENT *et al*, 1980).

⇒ Cellules pavimenteuses

Même si les cellules pavimenteuses couvrent la plus grande partie de la surface du filament branchial, elles ne jouent qu'un rôle passif dans les fonctions physiologiques de la branchie chez la plupart des poissons. Ce sont des cellules fines, squameuses ou cuboïdales avec une grande surface apicale. Elles constituent le principal type cellulaire qui couvre les sites où se passent les échanges gazeux, c'est-à-dire les lamelles branchiales (LAURENT *et al*, 1980 ; SARDET *et al*, 1979).

La membrane apicale des cellules pavimenteuses est caractérisée par la présence des microvillosités et/ou des microcrêtes dont l'arrangement varie en fonction des espèces. Ces projections apicales augmentent considérablement la surface fonctionnelle de l'épithélium mais elles servent aussi à fixer le mucus à la surface de l'épithélium (EVANS *et al*, 2003 ; LAURENT *et al*, 1980)(Figure 4 et 5).

⇒ Cellules à chlorure

Les cellules à chlorure sont des cellules larges, de forme ovoïde dont le cytoplasme est riche en mitochondries. De plus, ce sont des cellules polarisées car leurs membranes cellulaires apicales et basolatérale

ont des morphologies différentes. Elles doivent leur nom à leur fonction sécrétoire du NaCl chez les téléostéens d'eau de mer.

L'une des caractéristiques les plus frappantes des cellules à chlorure est la présence d'un réseau intriqué formé par d'énormes invaginations de la membrane basolatérale. Ce labyrinthe tubulo-membraneux s'étend dans la grande partie du cytoplasme où il est fortement associés aux mitochondries. Il constitue le site du transport actif par l'enzyme Na^+/K^+ -ATPase, impliqué dans la sécrétion du NaCl par ces cellules (**PHILPOTT**, 1980).

La membrane apicale est concave et repose en dessous de la surface des cellules pavimenteuses voisines pour former un pôle apical ou crypte commun à d'autres cellules à chlorure (**EVANS et al**, 2003 ; **FOSKETT et al.**, 1981 ; **HOOTMAN et al.**, 1980).

Contrairement aux cellules pavimenteuses, les cellules à chlorure occupent la plus petite fraction de l'épithélium branchial, mais elles sont considérées comme le site principal des processus physiologiques actifs dans les branchies. Alors que les cellules pavimenteuses se trouvent dans toutes les régions des filaments branchiaux, les cellules à chlorure sont le plus souvent rencontrées sur le bord afférent des filaments mais aussi au niveau des régions interlamellaires. Aussi, les cellules à chlorure ne sont pas toujours présentes dans l'épithélium branchial, mais certaines conditions de l'environnement sont liées à la présence de ces cellules dans certaines espèces (**EVANS et al**, 2003 ; **VARSAMOS et al**, 2002).
(figure 4 et 5).

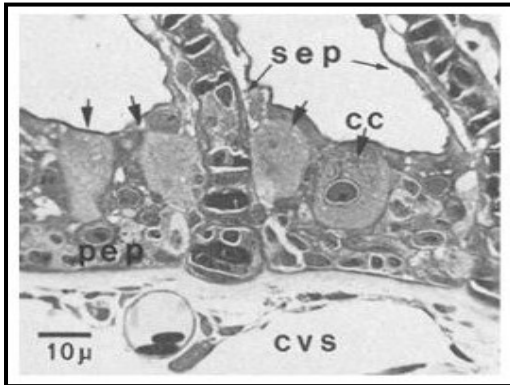


Figure 4 : Coupe semi-fine d'un épithélium branchial.

CC= cellules à chlorure ; CVS= sinus veineux central ; pep = Epithélium primaire ; sep = Epithélium secondaire.
Source : Laurent *et al.*, 1980.

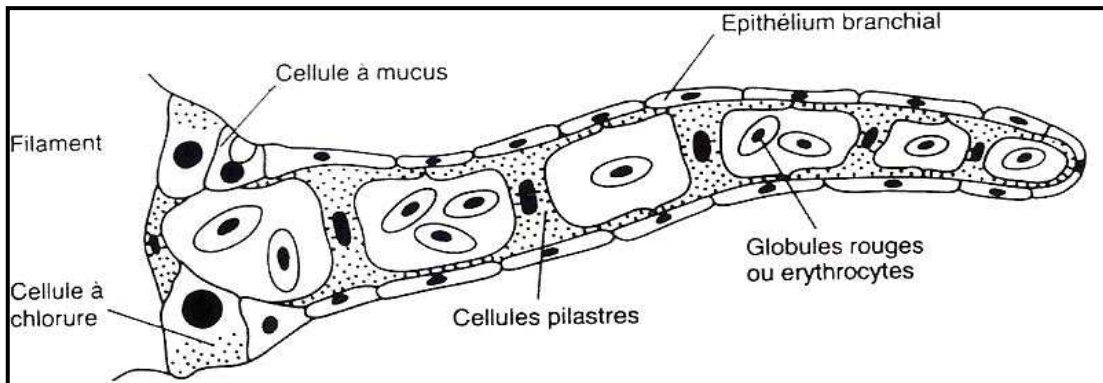


Figure 5 : Schéma de coupe transversale de la lamelle branchiale.

Source : Kinkelin *et al.*, 1985.

Chapitre II :
GENERALITES SUR LES MALADIES
DES POISSONS

L'importance des pathologies des poissons s'explique non seulement par des pertes économiques qu'elles occasionnent un peu partout dans le monde, quelque soit le type de production piscicole considéré, mais aussi par leur impact sur les populations naturelles de poissons et par la menace sanitaire que font peser directement ou potentiellement certains germes en cause sur la santé humaine.

Les pertes encourues par les éleveurs de poissons sont associées à la maladie, les inondations, les déplétions de l'oxygène, les intoxications chimiques et d'autres causes diverses. Les maladies sont de loin la cause la plus significative des pertes en aquaculture (MEYER, 1991).

Le développement de l'aquaculture et de la pêche de loisir a fait découvrir l'incidence croissante des maladies des poissons. Le développement de ces activités piscicoles a également favorisé l'apparition, ou du moins la propagation de certaines maladies.

L'état de maladie se traduit chez les poissons, par l'apparition d'anomalies du comportement (symptômes) et/ou de l'intégrité corporelle (lésions) qui entraînent une baisse des performances et souvent la mort des sujets atteints. Ces manifestations morbides sont dues à des causes d'ordre physique, chimique ou biologique, agissant seules ou en association pour perturber les fonctions physiologiques de l'animal, et sont mises en jeu de manière naturelle ou induite. Le terme « induite » implique une action humaine (KINKELIN *et al.*, 1985).

II.1. Les causes des maladies des poissons

II.1.1. Les causes d'ordre physique

D'abord constituées par les propriétés physiques de l'eau (température, teneur en matières en suspension ou MES), elles comprennent ensuite les rayonnements et tous les traumatismes résultant du comportement des animaux

ou des pratiques piscicoles. Un exemple d'interaction de ces facteurs étiologiques est donné d'emblée par la température qui, en dehors de tout effet létal direct, intervient sur de nombreux facteurs impliqués dans la santé des poissons. En effet, comme il s'agit d'animaux à température variable, toute la physiologie de l'espèce donnée se trouvera influencée par la température de l'eau et, partant, sa réceptivité vis-à-vis des agents infectieux pourra être différente. La température conditionnera en même temps la teneur en oxygène dissous dont un certain niveau est indispensable au maintien de la santé du poisson, et se répercutera sur toutes ses fonctions. D'un côté encore, la température fera varier la toxicité de nombreux polluants, soit en modulant leur transformation en leur forme toxique, soit en facilitant leur absorption branchiale par élévation du rythme respiratoire (DU *et al.*, 2008 ; KINKELIN *et al.*, 1985).

II.1.2. Les causes d'ordre chimique

Ce sont tout d'abord les propriétés et la composition de l'eau (pH, alcalinité, teneur en gaz dissous, en matières azotées, en toxines sécrétées par les algues ou en polluants divers tels que les chlorures, sulfates, mercure, acides, pesticides, chlorophénols, détergents, hydrocarbures, etc.) Un exemple important d'interaction de causes d'ordre chimique et physique est celui de la toxicité de l'ammoniac modulée à la fois par le pH, la température, la salinité et la teneur en oxygène de l'eau pour une espèce de Poisson donnée, dans un état physiologique donné. Le deuxième groupe de facteurs d'ordre chimique est constitué par l'alimentation sous ses aspects qualitatif et quantitatif (KINKELIN *et al.*, 1985).

II.1.3. Les causes d'ordre biologique

Les virus, bactéries et parasites (ou bioagresseurs) représentent les causes biologiques des maladies. Nombre de ces bioagresseurs voient leur propre

physiologie conditionnée par les facteurs physico-chimiques de l'environnement (**KINKELIN** *et al.*, 1985).

II.1.3.1. Les viroses

Malgré le nombre important d'espèces de poissons, il n'y a que moins de 45 virus qui ont été isolés ou observés. Cela est dû au fait que ce n'est qu'en élevage (intensif surtout) que les conditions de contagion se trouvent réunies pour révéler l'existence de virus ; peu d'espèces de poissons faisant partie d'un élevage, le nombre de virus connus ne s'est accru que lentement.

Les viroses majeures en aquaculture sont les herpèsviroses des *Salmonidae*, les rhabdoviroses (la Septicémie hémorragique virale ou SVH, la nécrose hématopoïétique infectieuse ou NHI, la virémie printanière de la carpe ou VPC), la nécrose pancréatique infectieuse (NPI) et la branchio-néphrite de l'anguille (**KINKELIN** *et al.*, 1985 ; **MEYER**, 1991).

II.1.3.2. Les bactérioses

Les bactéries pathogènes causent plus de maladies des poissons que toutes les autres causes réunies. Sur le plan lésionnel, on rencontre plus souvent les septicémies à dominante nécro-hémorragique (vibriose, furonculose, yersiniose), les infections locales (cutanées surtout) à dominante nécro-hémorragique, les infections générales à manifestations noduleuses et hypertrophiantes ainsi que les infections localisées à manifestations hypertrophiantes et hyperplasiques. Les bactéries en causes sont surtout les bacilles Gram négatif (**KINKELIN** *et al.*, 1985 ; **MEYER**, 1991).

II.1.3.3. Les mycoses

La prolifération des champignons à la surface des œufs et des larves des Poissons peut causer des mortalités considérables. Ils apparaissent le plus souvent comme envahisseurs secondaires dans les plaies et les lésions causées par les bactéries pathogènes ou les parasites. Certains champignons sont néanmoins, des agents pathogènes primaires et peuvent être à l'origine des mortalités importantes (**MEYER**, 1991).

II.1.3.4. Les parasitoses

Le parasitisme est fréquent, sinon constant, chez les poissons, mais les maladies parasitaires ne s'extériorisent que lorsque les conditions de l'environnement permettent la prolifération du parasite. De ce fait, les parasitoses cliniques sont rares à l'état naturel, mais beaucoup plus répandues en élevage dans la mesure où l'habitat favorise la transmission des parasites monoxènes et/ou la persistance des porteurs ou des hôtes intermédiaires.

Les protozoaires représentent l'un des groupes de parasites pathogènes qui affectent la santé des poissons. Un certain nombre de protozoaires parasites, sont connus pour être des agents causals des maladies sévères des poissons. C'est le cas par exemple, des flagellées du genre *Piscionodinium*, pathogènes des poissons d'eau douce ou encore du genre *Amyloodinium*, pathogènes des poissons marins. Les autres parasites des poissons appartiennent aux groupes des Myxozoaires (Myxozoa), des helminthes et des crustacés (**SCHOLZ**, 1999).

Dans les écloseries et les élevages intensifs d'eau douce, ce sont les microparasites à tropisme cutané qui sont les plus dangereux. En mer, les Poissons sont principalement sous la menace des crustacés parasites. Dans les étangs d'eau douce, ce sont encore les crustacés, avec le renfort des sangsues, qui constituent le plus grand danger parasitaire (**KINKELIN et al.**, 1985)

Ces deux premiers chapitres nous ont permis de comprendre la biologie et les maladies des poissons en général. En effet, la constitution du poisson y a été décrite de même que les causes susceptibles de rendre les poissons malades. Le troisième chapitre de la première partie que nous aborderons, traitera d'une pathologie particulière, l'épithéliocytose, qui affecte l'appareil respiratoire des poissons c'est-à-dire les branchies.

Chapitre III :
L'EPITHELIOCYTOSE
CHEZ LES POISSONS

III.1. Introduction

III.1.1. Définition

L'épithéliocytose est une maladie d'origine infectieuse commune à plusieurs espèces de poissons due à des organismes apparentés aux chlamydies.

C'est une infection intracellulaire à bactéries Gram négatifs, qui affecte à la fois les branchies et la peau.

Elle se caractérise par des lésions d'hypertrophie des cellules hôtes (cellules épithéliales principalement) et la formation de kystes sphériques au niveau des lamelles branchiales et de l'épiderme.

Le terme épithéliocytose provient donc de l'aspect histologique des lésions épithéliales secondaires à l'infection.

III.1.2. Historique

L'épithéliocytose a été décrite pour la première fois chez la carpe commune, *Cyprinus carpio L.*, comme étant la mucophilose (**PLEHN**, 1920).

Elle a été découverte par la suite chez d'autres espèces de poissons et bien identifiée comme une maladie due à un agent bactérien apparenté aux chlamydies (**HOFFMAN et al** 1969).

III.1.3. Importance

L'épithéliocytose est une maladie ayant une double importance aussi bien médicale qu'économique. Elle a été décrite chez divers téléostéens (**PAPERNA, et al**, 1980 ; **WOLF**, 1988; **TURNBULL**, 1993; **FRYER et al** 1994).

Elle a été associée à des morbidités et des mortalités dans les élevages de poisson. Cependant, le lien direct entre l'épithéliocytose et ces mortalités n'est pas encore établi par manque de modèle d'expérimental de la maladie. En effet, il n'existe pas à ce jour de méthode de culture de l'agent causal.

Les mortalités associées à l'épithéliocytose ont été signalées seulement

chez les poissons en élevage à des taux allant de 4 à 100%. De plus, la plupart des mortalités sont observées aux toutes premières étapes de la vie des poissons à l'exception de quelques espèces (**Tableau I**).

Tableau XIII : Mortalités associées à l'épithéliocytose signalée dans les élevages de poissons (confirmé par l'histopathologie)

Espèces	Mortalités(%)	Age	Reponse proliférative de l'hôte	Milieu	Référence
Truite grise, <i>Salvenus namaycush</i> (Walbaum)	95	0+, 1+	Oui	Eau douce	BRADLEY et al. (1988)
Esturgeon blanc, <i>Acipenser transmontanus</i> (Richardson)	4-8	1 an	Pas de réponse ou hyperplasie	Eau douce	GROOF et al. (1996)
Black-bas à grande bouche, <i>Micropterus salmoides</i> (Lacepède)	1/jour	7 mois	Oui	Eau douce	GOODWIN et al. (2005)
Pacū, <i>Piaractus mesopotamicus</i> (Holberg)	30-40	600-650 g	Oui	Eau douce	SZAKOLCZAI et al. (1999)
Dorade japonaise, <i>Pagrus major</i> (Temminck & Schlegel)	20	Juvenile	Oui	Mer	MIYAZAKI et al. (1986)
Sériole couronnée, <i>Seriola dumerili</i> (Risso)	85	0+	Oui	Mer	CRESPO et al. (1990) ; GRAU & CRESPO (1991)
Sériole de lalande, <i>Seriola lalandi</i> (Valenciennes)	30-100	Larve, juvenile	Non	Mer	VENIZELOS & BENETTI (1996)
Platycephalus, <i>Platycephalus sp</i> (Bloch)	98-100	juvenile	Non	Mer	MIYAKI et al. (1998)
Saumon atlantique, <i>Salmo salar</i> L.	10	jeune	Oui	Mer	NYLUND et al. (1998)
Dorade royale, <i>Sparus aurata</i> L.	26/10 jours	6 mois	Oui	Mer	PAPERNA (1997)
Australien bas, <i>Macquaria novemaculatea</i> (Steindachner)	Sévère	Larve, juvenile	Non	Mer	J.S. LANGDON & S.C. BATTAGLENE , date non publiée
Sériole de lalande, <i>Seriola lalande</i> (Valenciennes)	Sévère	Adult (1-1,5 Kg)	Non	Mer	C. JOHNSTON & P. PHILLIPS , publication personnelle

III.2. Etiologie de l'épithéliocytose

III.2.1. Classification des agents pathogènes

Les agents pathogènes responsables de l'épithéliocytose sont des bactéries Gram négatifs, qui sur la base de leur ultrastructure ont été classés dans la famille des Chlamydiaceae (**PAPERNA** *et al.* 1981; **GROFF** *et al.* 1996; **SZAKOLCZAI** *et al.* 1999) ou des Rickettsiaceae (**ZACHARY** *et al.* 1977; **MIYAZAKI** *et al.* (1986). Enfin, **NYLUND** *et al.* (1998) pensent que l'agent causal de l'épithéliocytose pourrait être aussi bien des Chlamydies comme des Rickettsies.

III.2.2. Cycle de développement des agents pathogènes

Selon **WARD** (1998), l'agent causal de l'épithéliocytose présente un cycle de développement similaire à celui des Chlamydies.

Quant à **CRESPO** *et al.* (1999), ils suggèrent l'hypothèse selon laquelle l'épithéliocytose est soit causée par les Chlamydies ou les Rickettsies, soit qu'elle est causée par un agent pathogène qui utilise deux cycles de développement de manière commutative: le cycle I ou cycle de développement typique des Chlamydies et un cycle II.

Le cycle de développement typique des Chlamydies (cycle I) comprend un corps élémentaire infectieux (EB), un corps réticulé (RB) et un corps intermédiaire (IB) (**Figure 6a et 6a'**).

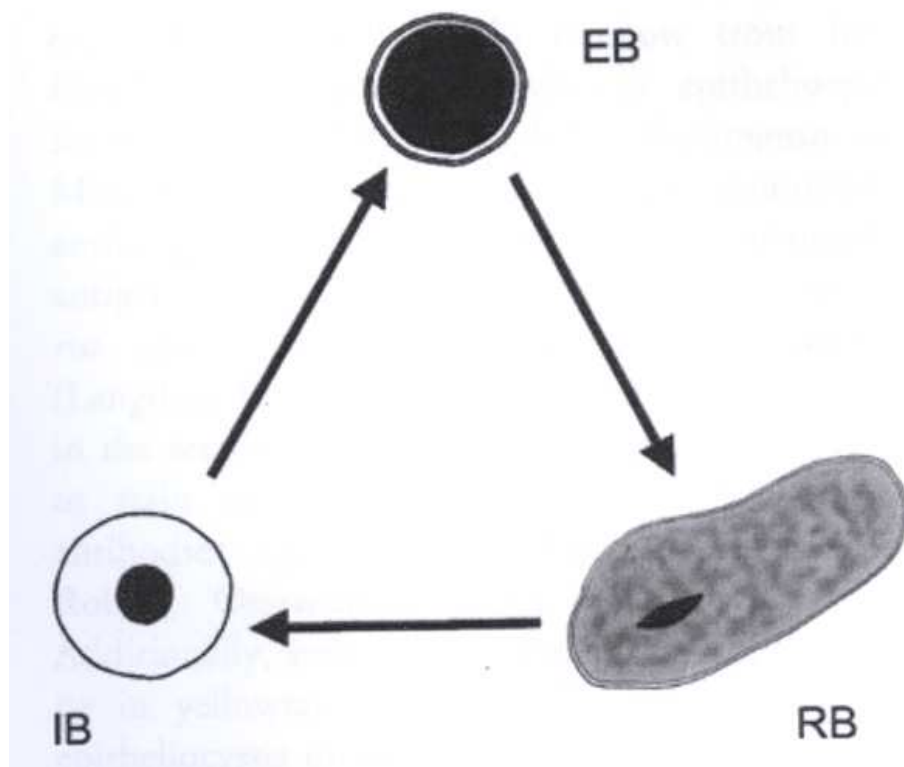


Figure 6 a : les différents corps formés pendant le cycle de développement I

Les Chlamydies pénètrent dans la cellule par phagocytose sous forme de **corps élémentaires infectieux (CE, EB)** de $0,2 \mu\text{m}$ et sont englobés dans une vacuole dans laquelle ils se transforment en **corps intermédiaires (CI, IB)** puis en **corps réticulés (CR, RB)** ($0,8$ à $1 \mu\text{m}$). Ils se multiplient par division binaire; la vacuole augmente de taille et devient une grande inclusion basophile. Après 4 à 5 divisions, les corps réticulés subissent une maturation en corps intermédiaires puis en nouveaux corps élémentaires. L'inclusion finit, après un délai de 48 à 72 heures, par éclater en lysant la cellule hôte et en libérant des corps élémentaires qui parasitent de nouvelles cellules. Les corps élémentaires sont la forme virulente mais leur pouvoir infectieux diminue sitôt entrée dans la cellule et devient nul pour les corps réticulés.

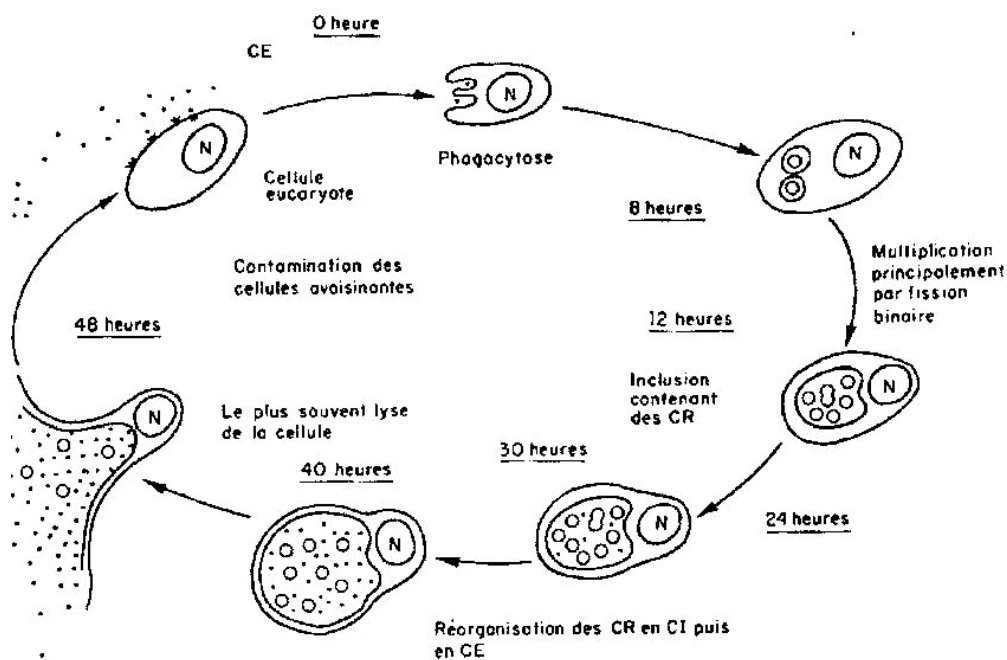


Figure 6 a' : Cycle de développement typique des Chlamydia
Source : Internet 1

Dans certaines espèces de poissons, il a été décrit un autre cycle de développement de l'agent causal de l'épithéliocytose appelé cycle II, dans lequel, l'infection est initiée par la pénétration de grandes cellules primaires (PLC) qui se transforment en grandes cellules intermédiaires non vacuolisées (ILC) puis en petites cellules vacuolisées (SC) (**Figure 6b, CRESPO et al., 1999**).

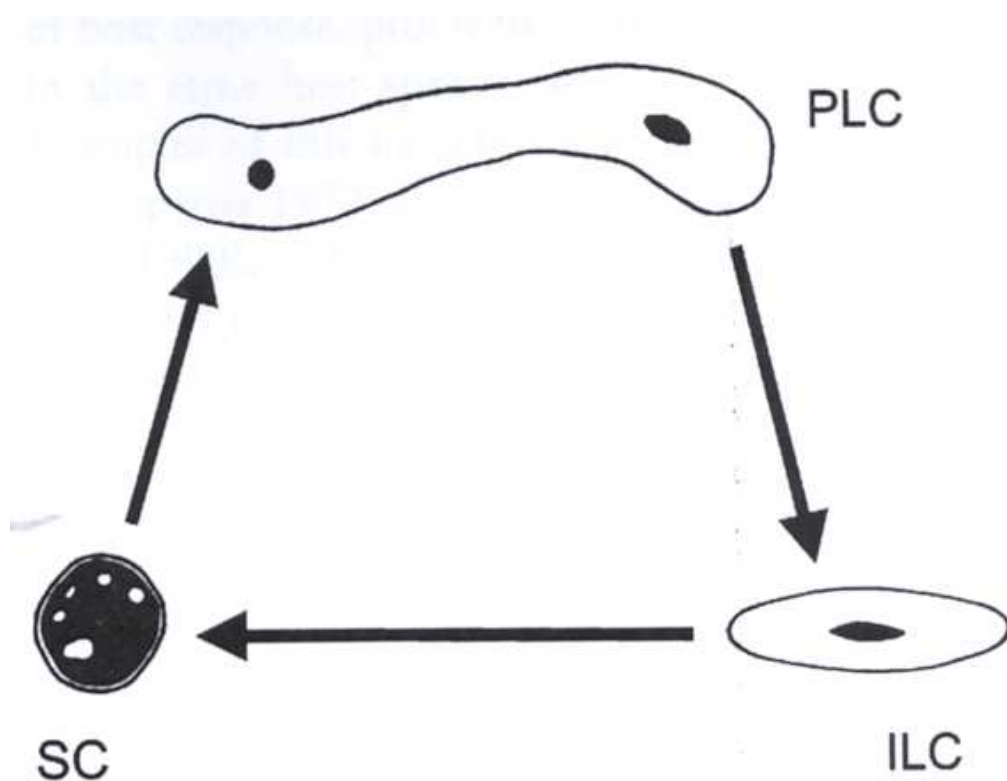


Figure 7 : Cycle de développement II

La commutation entre les deux cycles de développement de l'agent causal de l'épithéliocytose serait influencée par l'âge, le stress, les conditions du milieu (CRESPO *et al.*, 1999) et par le type de cellule infectée (PAPERNA et ALVES DE MATOS, 1984).

CRESPO *et al.*, (1999) ont rapporté que les cellules caractéristiques les deux cycles de développement peuvent se retrouver dans la même espèce de poisson ce qui suggère que le cycle de développement n'est pas spécifique à l'espèce hôte ou de la bactérie pathogène.

III.2.3. Identification des agents pathogènes

Malgré les nombreuses tentatives, jusqu'à ce jour, l'agent pathogène de l'épithéliocytose n'a pu être cultivé *in vitro*. Cependant, récemment de grands progrès dans le cadre de l'identification de l'agent causal de l'épithéliocytose dans certaines espèces de poissons ont été réalisés. C'est ainsi que la présence d'antigène de *Chlamydia* a été mise en évidence dans les inclusions cytoplasmiques de l'esturgeon blanc (*Acipenser transmontanus*, Richardson) par la technique immunohistochimique grâce à un anticorps spécifique des Chlamydies de (GROFF *et al.*, 1996). Malheureusement, les anticorps anti-Chlamydies ne réagissent pas chez la plupart des espèces de poissons atteints d'épithéliocytose (NOWAK et LaPATRA, 2006).

Le **tableau II** montre l'existence d'une grande variation du point de vue taxonomique entre les agents pathogènes responsables de l'épithéliocytose. De plus, les infections dans une même espèce de poissons peuvent donner des résultats différents. Par exemple, l'épithéliocytose chez la truite arc-en-ciel provenant de l'Idaho réagit positivement alors qu'elle est négative avec le poisson de la même espèce provenant de Washington et du Montana.

Tout cela confirme toute la difficulté de l'identification de l'agent pathogène dans les différentes espèces de poissons.

Tableau XIV : Marquage immunohistochimique d'échantillons d'épithéliocytose selon la méthode de GROFF *et al.* (1996)

Espèces	Localisation	Résultat de l'immunohisto-chimie à Chlamydia
Truite arc-en-ciel, <i>Oncorhynchus mykiss</i> (Walbaum)	Idaho	+
(Larve) Sériole de Lalande, <i>Seriola lalandi</i> (Valenciennes)	Ecuador	+
(Adulte) Sériole de Lalande, <i>S. lalandi</i> (Valenciennes)	Australie	-
Sériole d'élevage japonais, <i>Seriola quinqueradiata</i> (Temminck & Schelgel)	Japon	-
Requin léopard, <i>Triakis semifasciata</i> (Girard)	Californie	-
Ombre chevalier, <i>Salvelinus alpinus</i> (L.)	Virginie Ouest	-
Perche argentée, <i>Bidyanus bidyanus</i> (Mitchell)	Australie	-
Rock cale, <i>Crinodus lophodon</i> (Günther)	Australie	-
Hareng du Pacifique, <i>Clupea pallasii</i> (Valenciennes)	Alaska	-
Dorade royale, <i>Sparus aurata</i> L.	Espagne	-
Sériole couronnée, <i>Seriola dumerili</i> (Risso)	Espagne	-
Barbotte brune, <i>Ameirus nebulosus</i> (Leseur)	New York	-
Machoïron, <i>Arius sp.</i> (Valenciennes)	Ecuador	-
Truite steelhead, <i>O. mykiss</i> (Walbaum)	Washington	-
Saumon chinook (Saumon royal), <i>Oncorhynchus</i>	Washington	-
Truite arc-en-ciel, <i>O. mykiss</i> (Walbaum)	Washington	-
Truite grise (l'ombre du Canada, Touladi), <i>Salvelinus namaycush</i> (Walbaum)	Wisconsin	-
Truite arc-en-ciel, <i>O. mykiss</i> (Walbaum)	Montana	-
Doré jaune, <i>Sander vitreus</i> (Mitchill)	Montana	-

Les agents pathogènes dans les différentes espèces de poissons montrent des caractéristiques ultra structurales différentes (**PAPERNA 1977; PAPERNA et al. 1981**). En outre, ces variations ont été confirmées par des techniques de biologie moléculaire comme l'Hybridation *in situ* et la PCR en temps réel (real-time Polymerase Chain Reaction) (**Tableau III**).

A ce jour, 4 cas d'épithéliocytose associées à des bactéries ont été identifiées en utilisant la PCR de la région de l'ADNr 16S hautement conservée.

Les analyses moléculaires ont confirmé que ces 4 agents de l'épithéliocytose appartiennent à l'ordre des Chlamydiales, dans une lignée distincte de la famille des Chlamydiaceae (**Figure 8; DRAGHI et al. 2004; MEIJER et al. 2006**).

Sur la base de leurs séquences partielles, chacun des agents de l'épithéliocytose présentaient une homologie de structure assez proche avec des bactéries apparentées aux Chlamydies isolées sur des hommes, des porcs ou dans des eaux stagnantes (**MEIJER et al. 2006**). Les résultats actuels confirment la grande diversité et la spécificité de l'espèce hôte avec l'agent responsable de l'épithéliocytose.

Le diagnostic par la PCR en temps réel a été développé pour *Candidatus Piscichlamydia salmonis*, ce qui devrait améliorer les connaissances sur l'identification de l'agent pathogène et la pathogénie de cette affection au moins chez le saumon de l'Atlantique.

Les 4 agents responsables de l'épithéliocytose sont différents dans chaque espèce, mais ils appartiennent tous à l'ordre des Chlamydiales, malgré les cycles de développement différents des bactéries dans différentes espèces de poissons.

**Tableau XV : Identification moléculaire de l'agent de l'épithéliocytose
(d'après NOWAK et LaPATRA, 2006)**

Organisme de responsable de l'épithéliocytose	ISH	Espèces de poissons	Origine	Milieu	Référence
Candidatus <i>Piscichlamydia salmonis</i> (AY462244)	+ ve	Saumon atlantique, <i>Salmonis salar</i> L.	Elevé en Norvège	Mer	DRAGHI et al. (2004)
CRG 18 (AY013394)	+ ve	Perche argentée, <i>Bidyanus bidyanus</i> (Mitchell)	Elevé en Australie	Eau douce	MEIJER et al. (2006)
CRG 98 (AY0113474)	+ ve	Barramundi, Lates calcarifer (Bloch)	Elevé en Australie	Eau douce	MEIJER et al. (2006)
CRG 20 (AY0113396)	-ve	Dragon des mers feuillus, <i>Phycodurus eques</i> (Günther)	Aquarium en Australie	mer	MEIJER et al. (2006)

La séquence presque complète de l'ADNr a été séquencée pour *Candidatus Pi Piscichlamydia salmonis*, 210-231 paires de base de la région de l'ARNr 16S de la signature de séquence Chlamydiale a été utilisée pour CRG 18, CRG 20 et CRG 98. L'épithéliocytose a été diagnostiquée histologiquement dans les sections des mêmes blocs (**LANGDON et al** 1991; **DRAGHI et al** 2004; **MEIJER et al** 2006). **ISH**, hybridation in situ; **CRG**, groupe de recherche chlamydia.

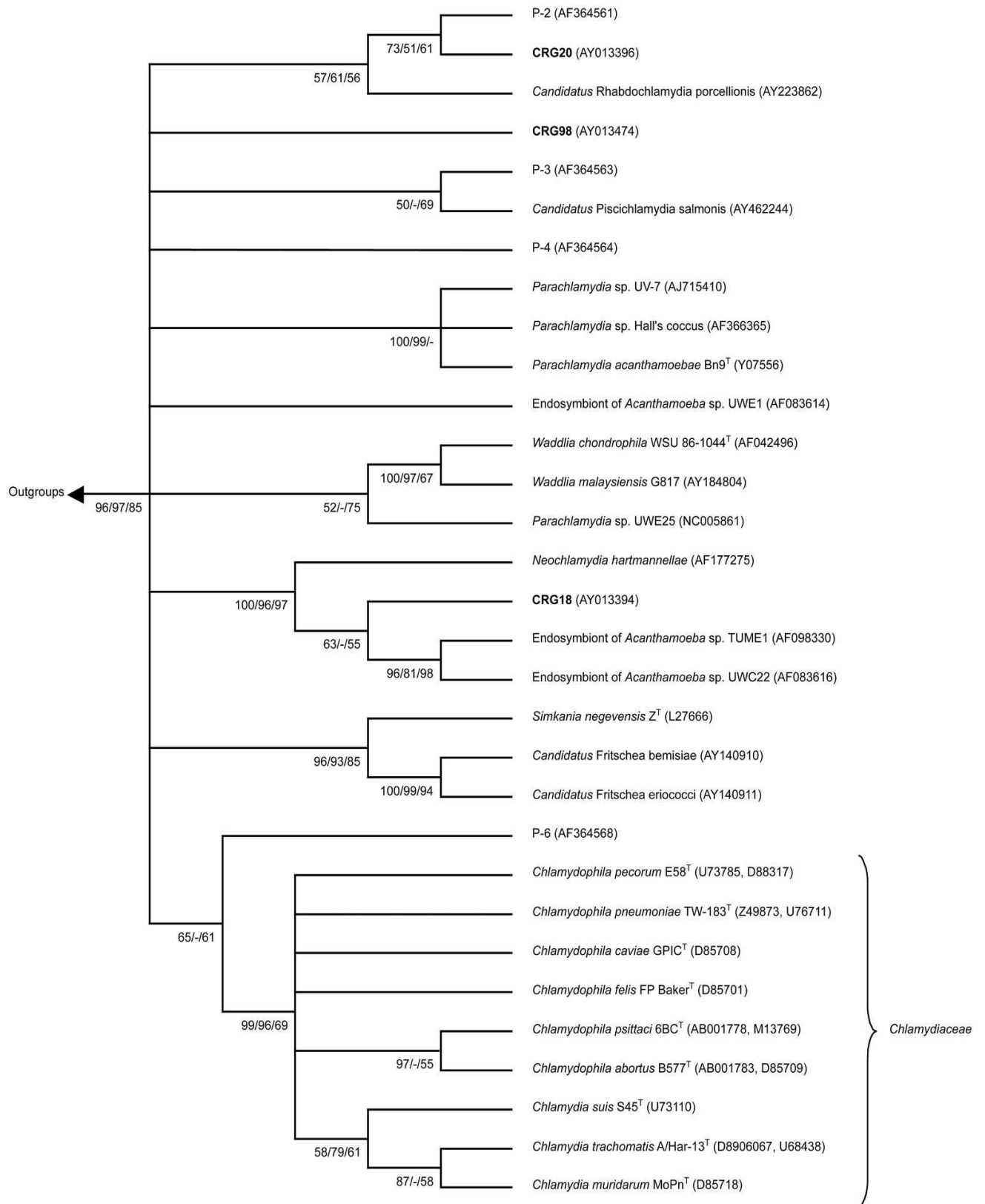


Figure 8: Relation phylogénétique entre les *Chlamydiales*
(MEIJER *et al.* 2006)

III.3. Epidémiologie de l'épithéliocytose

III.3.1. Répartition géographique et espèces affectées

L'épithéliocytose est une maladie cosmopolite signalée chez plus de 50 espèces de poissons de mer, d'eau douce et d'élevages. En effet, elle a été décrite sur tous les continents (pour une revue voir **NOWAK et al 2006**).

Par exemple, une infection aiguë a été observée sur *Tilapia mossambica* dans le lac de barrage de Port Elizabeth, en Afrique du Sud. Une infection de *Tilapia spp* et de la carpe commune *Cyprinus carpio* a été rapportée aussi dans un élevage piscicole en eau douce et saumâtre, en Israël. Chez les Cichlidés on peut citer comme espèce affectée *Tilapia aurea* et ses hybrides tel que *Tilapia nilotica*.

Une infection sur des mullets a été observée dans une population sauvage (alevins et juvéniles) des côtes de la méditerranée orientale et des lagunes salées de l'intérieur, aussi bien qu'en mer rouge. **Source : FAO Epithéliocytose**

Une étude récente, réalisée au Sénégal, dans l'estuaire du SINE-SALOUM, sur le mullet *Mugil cephalus* a montré la présence de cette infection chez cette espèce de poisson (**BYUKUSENGE, 2008**).

III.3.2. Réceptivité et sensibilité des espèces hôtes

III.3.2.1. Facteurs intrinsèques

III.3.2.1.1. Espèces

Confère chapitre III-3.1.

III.3.2.1.2. Age

La plupart des mortalités surviennent aux toutes premières étapes de la vie, à l'exception de quelques espèces. Chez les jeunes poissons l'infection n'entraîne pas une réaction proliférative des cellules de l'hôte, tandis que chez les poissons plus âgés l'infection entraîne une prolifération des cellules de l'espèce infectée (**Tableau VI**).

Chez les mulets, des infections sporadiques apparaissent en mer et dans les estuaires, touchant aussi bien les alevins que les juvéniles utilisés pour le repeuplement. Des infections aiguës et des mortalités consécutives peuvent se développer chez les jeunes poissons d'élevage mesurant moins de 60 mm ou pesant moins de 2g, dans les quatre à six semaines après la contamination initiale. **Source : FAO Epithéliocytose.**

III.3.2.2. Facteurs extrinsèques

Les poissons d'élevages semblent présenter une grande prévalence à l'épithéliocytose par rapport aux poissons sauvages (**NOWAK et al 2006**); (**tableau IV**). En outre, l'hyperinfection de type proliférative a été signalée jusqu'ici que dans les poissons d'élevage (**PAPERNA 1997, GRAU & CRESPO 1991**). Cela suggère que les conditions d'élevages soit favorable à l'apparition de l'épithéliocytose, peut-être dû à l'augmentation de la densité des poissons, la présence de nutriment et/ou de stress.

La prévalence maximale était de 28% pour les espèces sauvages (étendu de 1 à 91%) et de 73% pour les espèces en élevage (étendu de 20 à 100%).

Le Saumon atlantique d'élevage en Tasmanie est la seule espèce d'élevage montrant une faible prévalence de l'infection. Le Saumon kéta, *Oncorhynchus keta* Walbaum, a présenté la fréquence la plus grande d'infection à l'épithéliocytose de tous les poissons examinés.

Les poissons sauvages montrant une grande prévalence à l'épithéliocytose

sont généralement des espèces maritimes démersales. Cette assertion doit être relativisée par le fait que de nombreuses enquêtes sur les poissons portent sur les espèces maritimes démersales.

Il y a certaines espèces de poissons qui ont été signalées comme non infectées par l'épithéliocytose.

La confiance en ces résultats est souvent faible. En effet lorsque la prévalence apparente (ou observée) de l'épithéliocytose est de 0, la prévalence réelle (à la confiance de 95% en supposant que la sensibilité du test est de 90% et la spécificité 95%) peut s'étendre de 3 à 29%. (**Tableau V**)

En outre, dans la plupart des cas, les résultats négatifs se fondent sur l'examen d'un nombre limité de préparations microscopiques comprenant une seule section d'un arc brachial.

Contrairement à l'affirmation selon laquelle aucune donnée n'existe sur l'infection chez les poissons non téléostéens (**CORSARO et al.** 2004), l'épithéliocytose a été signalée chez l'esturgeon blanc (**GROFF et al.** 1996) et le Requin léopard, *Triakis semifasciata* Girard.

Tableau XVI : Prévalence maximale de l'épithéliocytose signalée dans différentes espèces de poissons (NOWAK et LaPATRA, 2006)

Espèces de poisson	Prévalence, % (n)	Milieu	Référence
Barbotte brune, <i>Ictalurus nebulosus</i> (Lesueur)	6(56)	Eau douce	DESSER et al. (1988)
Plie canadienne, <i>Hippoglossoides platessoides</i> (Fabricius)	20(11)	Milieu marin	MORRISON & SHUM (1983)
Morue de l'Atlantique, <i>Gadus morhua</i> L.	34(215)	Milieu marin	LEWIS et al. (1992)
Cardeau à quatre ocelles, <i>Paralichthys oblongus</i> (Mitchill)	27(20)	Milieu marin	LEWIS et al. (1992)
Loquette d'Amérique, <i>Macrozoarces americanus</i> (Bloch & Scheider)	47(15)	Milieu marin	LEWIS et al. (1992)
Merluche à longue nageoires, <i>Urophycis regia</i> (Walbaum)	15(75)	Milieu marin	LEWIS et al. (1992)
Cardeau d'été, <i>Paralichthys dentatus</i>	25(209)	Milieu marin	LEWIS et al. (1992)
Acoupa royal, <i>Cynoscion regalis</i> (Bloch & Scheider)	39(59)	Milieu marin	LEWIS et al. (1992)
Turbot de sable, <i>Scophthalmus aquasus</i> (Mitchill)	40(144)	Milieu marin	LEWIS et al. (1992)
Plie rouge, <i>Pleuronectes americanus</i> (Walbaum)	31(950)	Milieu marin	LEWIS et al. (1992)
Limande à queue jaune, <i>Pleuronectes ferruginus</i> (Storer)	9(44)	Milieu marin	LEWIS et al. (1992)
Morwong rouge, <i>Cheilodactylus fuscus</i> (Castelnau)	12(60)	Milieu marin	NOWAK (1996)
Rock cale, <i>Crinodus lophodon</i> (Günther)	48(60)	Milieu marin	NOWAK (1996)
Parma microlepis, <i>Parma microlepis</i> (Günther)	7,5(120)	Milieu marin	TRICKLEBANK (1997)
Chinchard dos vert, <i>Trachurus declivis</i> (Jenyns)	21(81)	Milieu marin	NOWAK et al. (2004)
Saumon chinook, <i>Oncorhynchus tshawytscha</i> (Walbaum)	15(82)	Milieu marin	KENT et al. (1998)
Saumon kéta, <i>Oncorhynchus keta</i> (Walbaum)	91(32)	Milieu marin	KENT et al. (1998)
Saumon coho, <i>Oncorhynchus kisutch</i> (Walbaum)	23(48)	Milieu marin	KENT et al. (1998)
Saumon rose, <i>Oncorhynchus gorbuscha</i> (Walbaum)	8(12)	Milieu marin	KENT et al. (1998)
Hareng du pacifique, <i>Clupea pallasii</i> (Valenciennes)	21(38)	Milieu marin	KENT et al. (1998)
Perche méné, <i>Cymatogaster aggregata</i> (Gibbons)	41(32)	Milieu marin	KENT et al. (1998)
Morue du Pacifique, <i>Gadus macrocephalus</i> (Tilesius)	1(98)	Milieu marin	KENT et al. (1998)
Merlu du pacifique, <i>Merluccius productus</i> (Ayers)	12(25)	Milieu marin	KENT et al. (1998)
Goberge de l'Alaska, <i>Theragra chalcogramma</i> (Pallas)	5(20)	Milieu marin	KENT et al. (1998)
Poulamon du Pacifique, <i>Microgadus proximus</i> (Girard)	2,5(40)	Milieu marin	KENT et al. (1998)
Morue linge, <i>Ophiodon elongatus</i> (Girard)	14(111)	Milieu marin	KENT et al. (1998)

Morue charbonnière, <i>Anoplopoma fimbria</i> (Pallas)	12(33)	Milieu marin	KENT et al. (1998)
Sébaste canari, <i>Sebastes pinniger</i> (Gill)	67(12)	Milieu marin	KENT et al. (1998)
Sébaste tacheté, <i>Sebastes crameri</i> (Jordan)	30(10)	Milieu marin	KENT et al. (1998)
Sébaste à tache rouge, <i>Sebastes babcocki</i> (Thompson)	40(10)	Milieu marin	KENT et al. (1998)
Sébaste à raie rouge, <i>Sebastes proriger</i> (Jordan & Gilbert)	55(31)	Milieu marin	KENT et al. (1998)
Sébaste à œil épineux, <i>Sebastes aleutianus</i> (Jordan & Evermann)	61(13)	Milieu marin	KENT et al. (1998)
Sébaste argenté, <i>Sebastes brevispinis</i> (Bean)	25(11)	Milieu marin	KENT et al. (1998)
Yellowtail rockfish, <i>Sebastes fladivus</i> (Ayers)	33(21)	Milieu marin	KENT et al. (1998)
Arrowtooth flounder, <i>Astheresthes stomia</i> (Jordan & Gilbert)	27(15)	Milieu marin	KENT et al. (1998)
Syngathe aiguilles, <i>Syngnathus acus</i> L.	23(30)	Milieu marin	LONGSHAW et al. (2004)
Sardine du pacifique, <i>Sardinops sagax</i> (Jenyns)	30(25)	Milieu marin	WHITTINGTON et al. (1997)
Sériole couronnée, <i>Seriola dumerili</i> (Risso)	46(15)	Milieu marin	GRAU & CRESPO (1991)
Dorade royale, <i>Sparus aurata</i> L.	70(13)	Elevage marin	PAPERNA (1997)
Dorade japonaise, <i>Pagrus major</i> (Temmick & Schlegel)	100(100)	Elevage marin	SYASINA et al. (2004)
Dorade japonaise, <i>P. major</i> × Brème nodre, <i>Acanthopagrus schlegeli</i> hybrid	10(50)	Elevage marin	SYASINA et al. (2004)
Saumon de l'Atlantique, <i>Salmo salar</i> L.	20(20)	Elevage marin	NOWAK & CLARK (1999)
Dentex, <i>Dentex dentex</i> (L.)	88(19)	Elevage marin	COMPANY et al. (1999)
Sériole de Lalande, <i>Seriola lalandi</i> (Valenciennes)	86(82)	Elevage marin	B.F. NOWAK , date non publié
Sériole d'élevage Japonais, <i>Seriola quinqueradiata</i> (Temminck & Schlegel)	100(10)	Elevage marin	B.F. NOWAK , date non publié
Barbue de rivière, <i>Ictalurus punctatus</i> (Rafinesque)	46(46)	Elevage eau douce	ZIMMER, EWING & KOCAM (1984)
Perche argentée, <i>Bidyanus bidyanus</i> (Mitchell)	75(105)	Elevage eau douce	FRANCES et al. (1997)

Seules les espèces ayant au minimum 10 individus ont été examinées et incluses

Tableau XVII : Espèces de poisson où l'épithéliocytose a été signalée comme indétectable c'est-à-dire négatif (prévalence 0%) pour l'épithéliocytose (quand 10 ou plus de 10 individus ont été examinés).

Espèces de poissons	Nombre de poisson examiné	Prévalence réelle(à la confiance 95%)	Référence
Aiguillat commun, <i>Squalus acanthias</i> L.	10	29	KENT et al. (1998)
Chimère d'Amérique, <i>Hydrolagus colliei</i> (Lay & Bennett)	16	19	KENT et al. (1998)
Raie abyssale, <i>Bathyraja abyssicola</i> (Gilbert)	12	25	KENT et al. (1998)
Saumon rose, <i>Oncorhynchus gorbuscha</i> (Walbaum)	15	20	KENT et al. (1998)
Epinoche, <i>Gasterosteus aculeatus</i> L.	12	25	KENT et al. (1998)
Rex sole, <i>Glyptocephalus zachinus</i> (Lockington)	11	27	KENT et al. (1998)
Plie de Californie, <i>Eopsetta jordani</i> (Lockington)	10	29	KENT et al. (1998)
Flétan du pacifique, <i>Hippoglossus stenolepis</i> (Schmidt)	11	27	KENT et al. (1998)
Eelpont de bigfin, <i>Lycodes cortezianus</i> (Gilbert)	11	27	KENT et al. (1998)
Platycéphale, <i>Platycephalus bassensis</i> (Cuvier)	122	3	NOWAK et al. (2004)
Morue rouge, <i>Pseudophycis bachus</i> (Forster)	84	4	NOWAK et al. (2004)
Flet frangé, <i>Etropus microstomus</i> (Gill)	41	8	LEWIS et al. (1992)

Les estimations des prévalences fournies par l'étude (observé et apparente) peuvent être trompeuses du fait des petits échantillons et des tests diagnostiques utilisés. La prévalence réelle est calculée en prenant en compte la taille de l'échantillon, de même que les faux positifs et négatifs. La prévalence réelle fut calculée à 95% de confiance en considérant que la spécificité du test est de 90% et la spécificité 100% en utilisant le calculateur de prévalence de groupe (<http://www.ausvet.com.au>)

III.3.2.2.1. Fortes densités d'élevage et présence de nutriment

Chez les poissons maintenus en densité optimale dans les étangs et en bonnes conditions de croissance, l'infection demeure bénigne et n'entraîne pas de réaction proliférative des cellules de l'hôte.

Par contre la forte densité dans les élevages et une faible croissance accélèrent le développement de l'infection **Source : FAO Epithéliocytose.**

L'aquaculture peut avoir une incidence sur la prévalence de l'épithéliocytose chez les poissons sauvages. En effet, la prévalence moyenne de l'épithéliocytose est plus grande chez le maquereau collecté dans les fermes de Saumon (de cages de saumon ou à proximité des cages) que chez le maquereau issu d'autre endroit, même si la différence observée n'est pas significative (**NOWAK et al.**, 2004). Cela peut-être lié à une augmentation de substances nutritives dans certaines zones d'aquaculture.

En plus, des fortes densités d'élevage et de la présence de nutriment dans ceux-ci, la saison et la température ont été signalées comme facteurs de risques de l'épithéliocytose.

III.3.2.2.2. La saison et la température

La saison est présentée comme un facteur de risque dans l'épithéliocytose. En effet, pour le saumon de l'Atlantique en Tasmanie, la saison a eu un effet statistiquement significatif sur la prévalence de l'épithéliocytose (**NOWAK & CLARK** 1999). De plus, la prévalence de l'épithéliocytose semble plus grande au cours des mois d'été, ce qui peut-être le résultat de l'augmentation de la température de l'eau.

III.3.3. Mode de transmission

L'infection est apparemment transmise de poisson à poisson, se développe très rapidement parmi les poissons stockés dans un même réservoir. La dissémination à partir des réservoirs de stockage peut visiblement être le fait d'équipements infectés.

II.4. Etude clinique

II.4.1 Symptômes

NOWAK *et al.* (2004) affirment que l'épithéliocytose est une maladie sans grande importance clinique. Ils confirment leurs dires en affirmant que même chez les poissons d'élevage, la pathologie ne provoque pas de réaction de prolifération des tissus de l'hôte. Elle est bénigne sans effet apparent sur l'hôte (**NOWAK** *et al.* 2006).

Cependant selon **KINKELIN** *et al.* (1985), la maladie peut devenir plus grave surtout chez les plus jeunes sujets (alevins et juvéniles) et provoquer une détresse respiratoire pouvant entraîner la mort.

Comme autres symptômes mentionnés, **MIYAZAKI** *et al.* (1986), dans une de leur étude sur la dorade japonaise, le tigre puffer et la carpe commune, ont noté que les carpes nageaient lentement sans aucuns signes externes et internes visibles.

III.4.2. Lésions

III.4.2.1. Lésions macroscopiques

L'épithéliocytose est une pathologie sans effet apparent sur l'hôte (**NOWAK** *et al.* 2004).

MIYAZAKI *et al.* (1986), ont observé chez les poissons malades affectés par l'épithéliocytose des branchies pâles et des lésions nécrotiques en raison de la co-infection par *Flexibacter marinus* et les foies de ces poissons étaient pâles.

III.4.2.2. Lésions microscopiques

Cette infection se caractérise sur le plan microscopique par la formation de kystes, qui sont limités par une capsule eosinophile apparemment composée de vestige de la membrane et du cytoplasme de la cellule hôte (**MOLNAR & BOROS** 1981).

L'épithéliocytose affecte surtout les branchies et la peau de poissons. Elle

est caractérisée par la présence de cellules hypertrophiées contenant des inclusions granulaires basophiles (**PAPERNA** 1997). Les cellules infectées sont essentiellement les cellules épithéliales (**figure 4 et 5**) comme c'était le cas du saumon de l'atlantique (**NOWAK & CLARK** 1999 ; **DRAGHI et al.** 2004), le dragon des mers feuillus (**LANGDON et al.** 1991).

Les bactéries sont présentes dans une grande inclusion délimitée par une membrane bistratifiée et déplaçant le cytoplasme de la cellule hôte (**PAPERNA et al.** 1981). **MIYAZAKI et al.** (1986) décrivent une seule couche de cellule épithéliale autour des kystes.

Chez d'autres espèces de poissons, d'autre type de cellules sont infectées, notamment les cellules à chlorure (**figure 4 et 5**) dans la sérieole couronnée *Seriola dumerili* (Risso) et chez le saumon de l'atlantique (**NYLUND et al.** 1998), les cellules de la muqueuse des carpes (**PAPERNA et al.** 1984), les macrophages de la Barbotte brune (**DESSER et al.** 1988) et les cellules pilastres (**figure 4 et 5**) chez la dorade Japonaise et le tigre puffer (**MIYAZAKI et al.** 1986).

Les kystes chez la dorade Japonaise sont localisés sur les capillaires sous l'épithélium respiratoire des lamelles branchiales dans le stade précoce de l'infection (**MIYAZAKI et al.** 1986).

Il a été suggéré que la cellule épithéliale peut s'adapter à l'infection en augmentant le nombre de mitochondries, qui peut alors aboutir à une identification incorrecte de cette cellule comme une cellule de chlorure (**MORRISON & SHUM.** 1983).

En effet, les Chlamydiae n'ayant pas la capacité de synthétiser des composés de haute énergie nécessaire pour le métabolisme et la respiration, ils leurs sont fourni par la cellule hôte. C'est ce qui pourrait expliquer l'infection préférentielle des cellules à chlorure ou l'adaptation des cellules épithéliales à l'infection par augmentation du nombre de leurs mitochondries.

L'intensité de l'infection peut varier d'une espèce à l'autre et d'un poisson

à l'autre. C'est ainsi que seul un filament de l'arc branchial a été affecté et dans la plupart des cas, seulement un kyste était présent dans le saumon de l'atlantique de Tasmanie (**NOWAK et al** 1999). Par contre, un pourcentage beaucoup plus grand de filaments affectés a été signalés pour le saumon de l'Atlantique en Norvège (**NYLUND et al.**1998 ; **DRAGHI et al.** 2004), le dragon des mers feuillus (**LANGDON et al.** 1991) et la perche argentée (**FRANCES et al.** 1997).

L'hyperinfection du poisson Bar *Dicentrarchus labrax*, n'entraîne pas de réaction proliférative de l'hôte. Par contre, chez la dorade royale ou la sérieole couronnée cette même hyperinfection par l'agent causal de l'épithéliocytose aboutit à des réponses prolifératives de l'hôte assez significatives (**GRAU et al.** 1991; **CRESPO et al** 1999; **CRESPO et al.**2001) (**tableau VI**).

Dans les élevages de dorade royale, les kystes sont présents dans la majorité des espaces interlamellaires et sont associés à une prolifération épithéliale formant des couches concentriques autour des kystes (**PAPERNA** 1977).

En revanche, la dorade royale sauvage a développé l'épithéliocytose en captivité, mais cette infection n'a jamais été associée à une réponse proliférative de l'hôte à part l'encerclement de la surface des kystes par une ou plusieurs couches d'épithélium (**PAPERNA** 1977).

En Tasmanie, le saumon de l'Atlantique affecté par l'épithéliocytose présentait environ 1/3 des kystes associés à une prolifération cellulaire et une réponse inflammatoire (**NOWAK & CLARK** 1999).

Les précédentes observations d'épithéliocytose chez les Salmonidés ont suggéré que peu ou pas de réaction dans les cellules (**TURNBULL** 1993).

Tous les échantillons du saumon de l'atlantique en élevage originaire de Norvège en 2000 et Irlande en 1999 ont montré des lésions prolifératives associées à l'épithéliocytose touchant 60-80% des lamelles (**DRAGHI et al.** 2004).

Tableau XVIII : Exemple de pathologie et réponse de l'hôte à l'épithéliocytose.

Espèces de poisson	Intensité de l'infection	Taille des kystes (µm)	Réaction de l'hôte	références
Plie canadienne, <i>Hippoglossoides platessoides</i> (Fabricius)	Très variable	25	Kystes entourés par l'épithélium des cellules hôtes	MORRISON & SHUM (1983)
Esturgeon blanc, <i>Acipenser transmontanus</i> (Richardson)	Très variable	11-20 × 15-28	Absent ou limité à une légère hyperplasie épithéliale	GROFF et al. (1996)
Dragon des mers feuillus, <i>Phycodurus eques</i> (Günther)	ND	20-90	Pas de réaction	LANGDON et al. (1991)
Saumon Atlantique de Tasmanie, <i>Salmo salar</i> L	Bas-maximum 3 kystes/arc branchial	18-71	Variable, y compris fusion lamellaire, inflammation	NOWAK & CLARK (1999)
Saumon Atlantique en Norvège, <i>Salmo salar</i> L.	2000 échantillons. 60-80% de lamelles affectées. 1996 échantillons. < 20% des lamelles se sont fusionnées.	ND	lésions proliférative, multifocales voire hyperplasique, nécrose focale de cellules épithéliales, macrophages infiltrés	NYLUND et al. (1998) DRAGHI et al. (2004)

Saumon Atlantique d'Ireland, <i>Salmo salar</i> L.	1995 échantillons- peu de kystes 1999 échantillons. 60-80% de lamelle.	ND	1995 échantillons aucune prolifération 1999 échantillons lésions proliférative, multifocales voire hyperplasique, nécrose focale de cellules épithéliales, macrophages infiltrés	DRAGHI et al. (2004)
Perche argentée, <i>Bidyanus bidyanus</i> (Mitchell)	2-96% des filaments	10-87	Hyperplasie épithéliale	FRANCES et al. (1997)
Dorade japonaise, <i>Sparus aurata</i> L.	100% des filaments	100 × 55	Cellules épithéliales hyperplastiques agrégées en lames concentriques autour des kystes, infiltration avec macrophages et éosinophiles	PAPERNA (1977)
Sériole couronnée, <i>Seriola dumerili</i> (Risso)	ND	250 × 210 maximum	Réaction proliférative	CRESPO et al. (1990)
Carpe commune, <i>Cyprinus carpio</i> L.	ND	1-10 × 3-5	Non proliférative et proliférative	PAPERNA & ALVES DE MATOS (1984)
Pacū, <i>Piaractus mesopotamicus</i> (Holmberg)	Majorité des filaments	10-20 (contenu homogène) 30-40 (contenu granulaire)	Prolifération bien délimitée autour de la paroi des kystes, épithélium hyperplasique, hyperémie et œdème mais pas d'inflammation exceptée autour des larges kystes	SZKOLCZAI et al. (1999)
Barbue de rivière, <i>Ictalurus punctatus</i> (Rafinesque)	ND	9-19 × 16-22	Non proliférative, Pas de réaction de l'hôte, couche réfractile rose	ZIMMER et al. (1984)

En revanche tous les échantillons de branchies de Saumon de l'atlantique en Irlande en 1995 n'avaient pas de modifications prolifératives (**DRAGHI et al.** 2004).

Cela suggère que la réponse proliférative n'est pas liée à l'espèce hôte ou à la situation géographique.

La morphologie des organismes au sein des kystes et leur propriété de coloration (en particulier avec la coloration de Azan et Machiavello), ainsi que la morphologie de leur capsule et leur localisation dans les tissus étaient différentes (**CRESPO et al.** 1999).

Cela a été lié aux deux cycles de développement de l'agent pathogène. Les kystes dans certaines espèces de poissons ont été signalés être entourés par une couche de cellules malpighiennes (**MORRISON & SHUM** 1983; **CRESPO et al.** 1990). La réponse cellulaire à l'infection est variable dans la même espèce hôte **Tableau VI.**

Par exemple, dans le saumon Atlantique élevé en Tasmanie, 56% des kystes ne présentaient presque aucune réaction, à part l'encapsulation des kystes d'une fine couche de cellule épithéliale malpighienne lamellaire et de la fusion lamellaire en raison de la taille des kystes.

Environ 53% des kystes ont leur lamelles branchiales fusionnées. L'inflammation a été associée à 36% des kystes, l'hyperplasie épithéliale avec 34% et la prolifération des cellules (l'hyperthrophie) avec 21%.

Dans le saumon de l'atlantique, les kystes sont présents surtout dans le milieu du filament (44%), suivi par la base du filament (32%) et l'extrémité du filament (24%) (**NOWAK & CLARK** 1999).

La position des kystes ne semble pas avoir une incidence sur la réponse cellulaire (**NOWAK & CLARK** 1999).

Chez le saumon Atlantique le diamètre des kystes allait de 18 à 73,5 μm . (**NOWAK & CLARK** 1999).

III.5. Diagnostic

Le diagnostic de l'épithéliocytose n'est pas réalisable par les méthodes de routine en microbiologie parce que les bactéries ne sont pas cultivables. En conséquence, l'histologie est la seule méthode actuelle capable d'en faire le diagnostic. Par exemple, l'épithéliocytose n'avait pas été incluse dans les deux premières listes publiées des maladies de la sériole d'élevage au japon *Seriola quinqueradiata* Temminck & Schelgel (EGUSA 1983; KUSUDA & KAWAI 1998), cependant, après utilisation de l'histologie, elle a été constatée dans 100% des échantillons de branchies provenant de la sériole d'élevage au japon (NOWAK et LaPATRA, 2006).

Parfois, les lésions de l'épithéliocytose peuvent s'observer grossièrement dans les préparations à l'état frais. Cependant l'histopathologie est utilisée pour fournir le diagnostic de confirmation.

Les kystes d'épithéliocytose doivent être différenciés des kystes de la peau et des branchies dus au virus de l'herpès, des microsporidies, des myxsporidies et des trématodes métacercaires vivants ou dégénérés.

III.6. Traitement

L'oxytétracycline (25 ppm de principe actif, 2×/J/3J) a été utilisé avec succès pour traiter l'épithéliocytose chez l'achigan à grande bouche *Micropterus samoides* (Lacepède), aboutissant à une baisse rapide de la mortalité de 0 à 3 jours après le traitement et aucune lésions histologiques dues à l'épithéliocytose détectée après 2 semaines (GOODWIN *et al.* 2005).

Dans le passé le chloramphénicol (1%) mélangé au foie de volaille et mélangé à l'aliment à la dose de 100g/J/3J a été signalé comme traitement efficace de l'épithéliocytose chez la dorade royale en élevage (PAPERNA 1977) avec un arrêt des mortalités après une semaine. Cet antibiotique n'est plus utilisé maintenant chez les poissons destinés à la consommation humaine car

ayant des conséquences sur la santé humaine.

La stérilisation de l'eau des bassins d'élevage en utilisant la lumière ultraviolette a été signalée au contrôle des éruptions de l'épithéliocytose chez le sériole couronné *Seriola dumerili* (Risso) et *Plectropomus leopardus* (Lacepède) (MIYAKI *et al.* 1998).

DEUXIEME PARTIE :

ETUDE EXPERIMENTALE

Chapitre I :
MATERIEL ET METHODES

I.1 Lieux d'étude

Les poissons de notre étude ont été prélevés en Côte d'Ivoire et au Sénégal. Nous présenterons de manière brève et succincte les différentes stations ou sites de prélèvement.

I.1.1 Village de Badoudou (Sénégal)

La zone de notre étude se trouve dans le village de Badoudou, à huit kilomètres de la petite ville de Sokone, sur la route de Karang, près de la frontière Sénégal-Gambie.



Figure 9 : Photo satellite d'étude de la zone d'étude : Village de Badoudou

Source : Google earth.

I.1.2 La Station Expérimentale d'Aquaculture de Layo de Dabou (Côte d'Ivoire)

La Station Expérimentale d'Aquaculture de Layo a été créée en 1979. Elle est située sur la rive Nord de la lagune Ebrié, à environ 40 km à l'ouest d'Abidjan (4° de longitude Ouest, 5° de latitude Nord) sur l'axe Abidjan-Dabou (**Figure 10**) Elle se trouve dans une zone marécageuse où l'hydro-climat est fortement influencé par la lagune et par sa proximité au débouché en lagune d'une rivière forestière l'Agneby (**ALBARET et LEGENDRE, 1983**).

La topographie de ce milieu et la localisation des entrées d'eau douce entraînent une variabilité temporaire des paramètres physico-chimiques tels que : la salinité, la température, le pH et l'oxygène dissous de l'eau (**TREBAOL, 1991**).

Cette station est spécialisée dans la reproduction et la conduite d'élevage des espèces de poissons telles que les tilapias (*O. niloticus* et *S. melanotheron*); le mâchoiron (*C. nigrodigitatus*) et le silure (*H. longifilis*) etc. Elle dispose d'une vingtaine d'enclos lagunaires et des cages flottantes servant au pré-grossissement et au grossissement des poissons puis au stockage des géniteurs. On y trouve aussi des étangs de pré-grossissement et de grossissement qui sont alimentés par la nappe phréatique. Ces étangs ont une surface variant de 400 à 800 m². La Station dispose également d'unités de reproduction et d'élevage larvaire, constituées de 48 bacs circulaires, de 30 bacs en béton et d'une écloserie. La capacité d'alevinage est estimée à 200.000 larves pour le mâchoiron. Deux laboratoires, pour les différentes manipulations, complètent l'équipement de la station qui abrite en plus une unité de fabrication d'aliments.

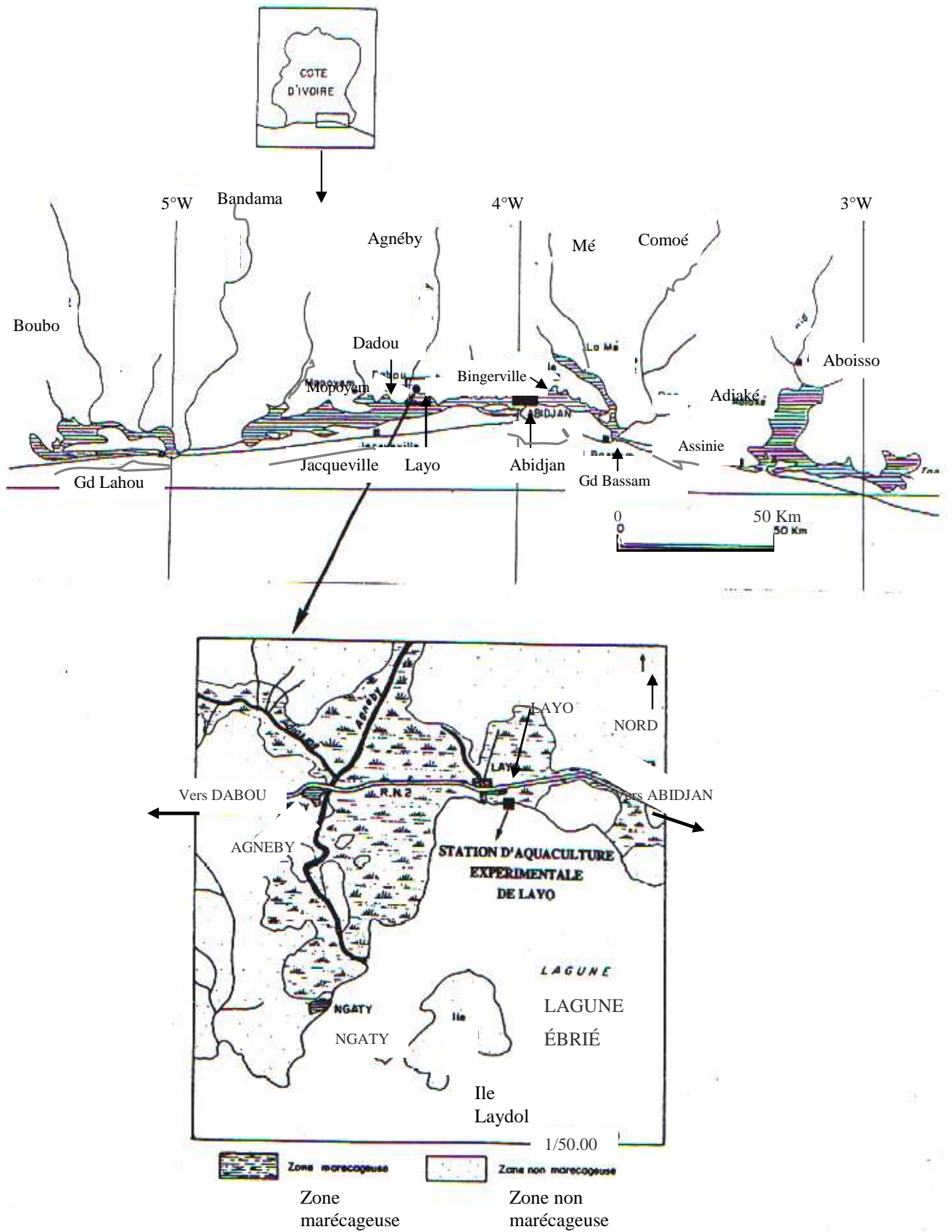


Figure 10. Situation géographique de la Station Expérimentale d'Aquaculture de Layo (ALBARET et LEGENDRE, 1983)

I.1.3 Station piscicole de Azaguié

Azaguié est une ville de la Région des savanes située au sud de la Côte d'Ivoire, à 50 km au nord d'Abidjan, dans le département d'Agboville dont elle est l'une des sous-préfectures, avec Grand-Morié, Céchi, Oress-Krobou, Rubino.

Nous avons eu à prélever des poissons dans une station piscicole de cette ville dans le cadre de notre expérimentation.

I.2 Matériel

I.2.1 Matériel animal

Nous avons prélevés au mois d'octobre 2008, un échantillon de 103 poissons osseux (Ostéichthyens) de la sous-classe des Actinoptérygiens appartenant à :

- *Oreochromis niloticus* de la famille des Cichlidae (38 poissons)
- *Sarotherodon melanotheron* de la famille des Cichlidae (6 poissons)
- *Chrysichthys nigrodigitatus* de la famille Bagridae (6 poissons)

Ces trois premières espèces ont été prélevées en Côte d'Ivoire

- *Oreochromis niloticus* de la famille des Cichlidae (12 branchies)
- Genre *Tilapia* de la famille des Cichlidae (31 branchies)
- Genre *Mugil* de la famille des Mugilidae (10 branchies)

Cette espèce et ces deux derniers genres ont été prélevés au Sénégal.

Il est à noter que pour les poissons provenant du Sénégal, nous n'avons disposé que des branchies et non des poissons entiers.

En plus de ces poissons prélevés au Sénégal, il nous a été remis un lot de vingt-neuf (29) branchies de *Mugil cephalus* de la famille des Mugilidae déjà montées en blocs de paraffine, pour une étude rétrospective de l'épithéliocytose.

L'étude histologique a été réalisée sur un total de 110 branchies réparti comme suit :

- 50 branchies prélevées dans les élevages en Côte d'Ivoire ;
- 31 branchies du genre *Tilapia* prélevés au Sénégal ;
- 29 branchies montées en blocs de paraffine.



Figure 11 : *Oreochromis niloticus*
(Photo KOUAKOU)



Figure 12: *Sarotherodon melanotheron*
(Photo KOUAKOU)



Figure 13: *Chrysichthys nigrodigitatus*
(Photo KOUAKOU)

I.2.2. Matériel technique

I.2.2.1. Matériel de prélèvement et de transport

- Matériel de pêche ;
- Glacières et glaçons.

I.2.2.2. Matériel de mesure et de pesée

- Un mètre-ruban ;
- Une balance électronique de type Nikon et d'une précision de 0,01g.

I.2.2.3. Matériel d'extraction des branchies

- Blouse et gants ;
- Scalpel et bistouris ;
- Ciseaux ;
- Pincettes ;
- Flacons de 50 ml ;
- Produit de décalcification : Acide nitrique à 38% + formol à 10% + eau distillée ;
- Liquide de fixation : formol à 10% ;
- Marqueurs.

I.2.2.4. Produits pour la confection des coupes histologiques

- Eau courante ;
- Paraffine ;
- Ovo-albumine ;
- Toluène ;
- Hémalum ;
- Acide chlorhydrique ;
- Alcools (à 85°, 95° et 100°) ;
- Eau alcaline (solution alcaline saturée de carbonate de lithium) ;
- Eosine ;

- T.B.S ;
- DAKO PEN ;
- Serum normal de chèvre ;
- Anticorps primaire monoclonal de souris (M0879) ;
- Anticorps anti-Ig biotinylé [anti-Ig de souris (Dako E.0433)] ;
- Streptavidine/PER (Dako D.397) ;
- Substrat de la peroxydase ;
- Eau distillée ;
- Réactif de Schiff ;
- Milieu de montage (Eukitt^R).

1.2.2.5. Matériel pour la confection des coupes

- Scalpel et bistouris ;
- Pincés;
- Pinceaux ;
- Cassettes ;
- Appareil à inclusion (SHANDON CITADEL 1000) ;
- Moules métalliques ;
- Microtome de type rotatif (LEICA RM 2255) ;
- Etuve de type Meyer ;
- Pipettes de 5 ml ;
- Lames et lamelles ;
- Plateaux de bois ;
- Un crayon (pour numérotation des lames).

I.3. Méthodes

Notre travail a commencé sur le terrain avec le prélèvement des poissons. Les éleveurs des centres piscicoles nous ont aidés à capturer les poissons à l'aide de filet de pêche. Aussitôt après la capture, les poissons pris à la Station Expérimentale d'Aquaculture de Layo de Dabou ont été conduit au laboratoire dudit centre pour la mensuration, la pesée et le prélèvement des branchies et de la peau. Les poissons capturés à la station piscicole de Azaguié ont été entreposés dans des glacières et couverts de glaces puis transportés jusqu'au laboratoire du Département d'Aquaculture du CRO à Abidjan où se sont réalisés les différentes mensurations et le prélèvement des branchies et de la peau. Pour les poissons capturés au Sénégal, les branchies et la peau nous sont directement parvenus dans des pots de prélèvement et fixés au formol à 10%, après avoir subit une décalcification de 48 heures.

Les coupes histologiques ont été réalisées au laboratoire d'histopathologie animale de l'EISMV et enfin la lecture des lames a été faite au laboratoire d'imagerie microscopique de l'EISMV.

En ce qui concerne les branchies déjà montées en blocs de paraffine, nous les avons directement envoyé au laboratoire d'Histopathologie de l'EISMV pour la réalisation des coupes histologiques.

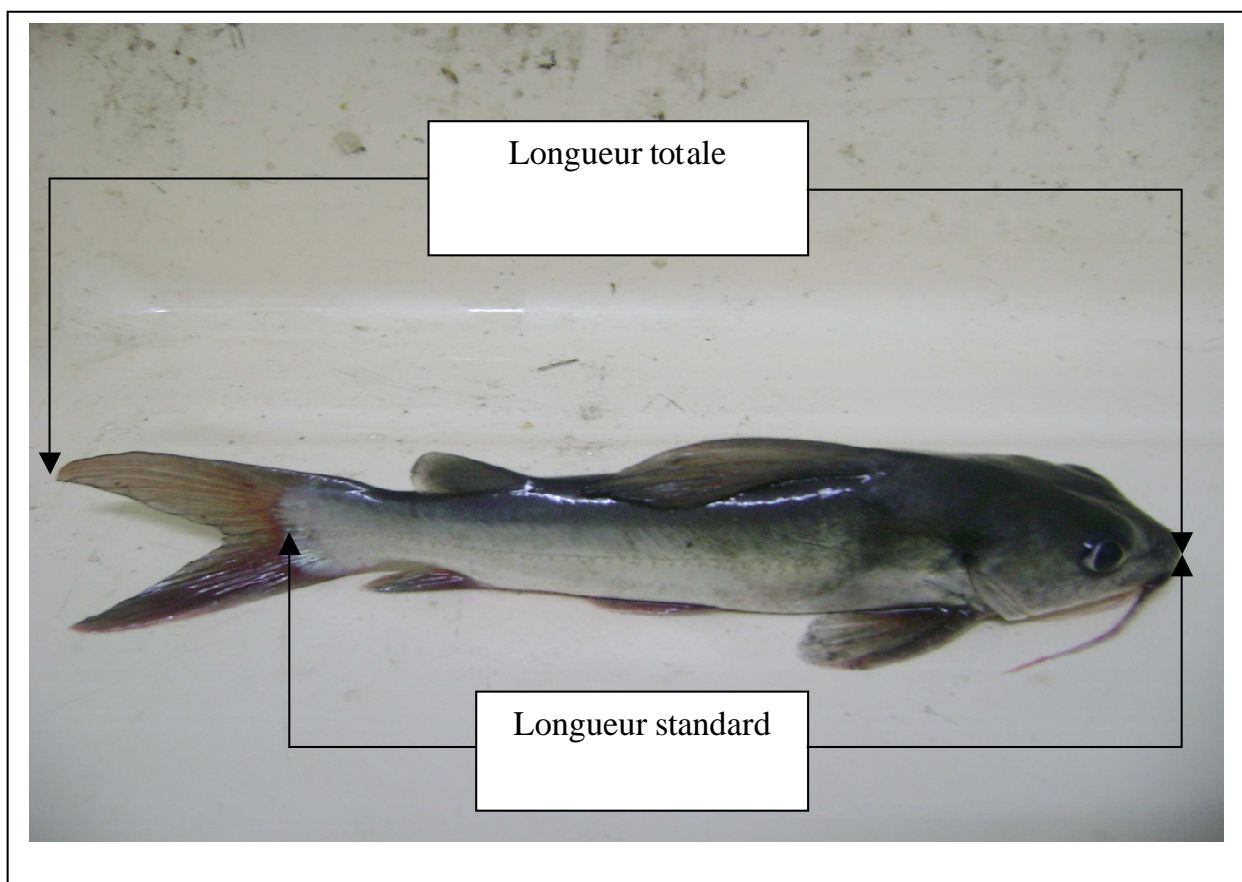
I.3.1. Mensurations et pesées

Avant l'extraction des branchies, les poissons pris individuellement, ont été mesurés et pesés. Ainsi, à l'aide d'un mètre-ruban, la longueur totale, la longueur standard de chaque poisson ont été mesurées (**Figure 14**).

La longueur totale est la distance mesurée à partir de l'extrémité antérieure de la lèvre supérieure jusqu'à la pointe postérieure du plus long rayon de la nageoire caudale.

La longueur standard est la distance mesurée à partir de l'extrémité antérieure de la lèvre supérieure jusqu'à la pointe du pédoncule caudale.

Le poids a été pris à l'aide d'une balance électronique.



**Figure 14 : Principales mensurations du Poisson
(Photo KOUAKOU)**

I.3.2. Extraction et conservation des branchies

A l'aide des ciseaux à dissection nous avons enlevé l'opercule pour mettre à découvert les branchies. Après examen visuel, les branchies de l'un des deux côtés ont été enlevées et placés dans un flacon contenant un décalcifiant (Mélange d'acide nitrique 38%, formol à 10% et eau distillée). Après 48 heures environ, les branchies ont été retirées des flacons contenant le décalcifiant pour être mises dans ceux contenant le liquide fixateur (formol à 10%). Les branchies de chaque poisson ont été ainsi mises dans un flacon individuel dont le numéro nous a permis de suivre chaque poisson.

II.3.3. Réalisation des coupes histologiques.

L'une des étapes clé de la préparation microscopique est la réalisation des coupes tissulaires. Dans cette étude, nous avons utilisé la technique de microtomie en paraffine sur des prélèvements de branchies préalablement fixés dans du formol à 10% pendant 24 heures.

Ainsi, les branchies (une paire de lames branchiales sur un arc branchial) sont mises dans des cassettes numérotées. Ces dernières ont été ensuite mises dans du formol à 10% pendant 24 heures pour une meilleure fixation.

Après fixation, les prélèvements ont été soumis à une déshydratation suivie d'une inclusion dans la paraffine ; cette étape se fait grâce à un automate d'inclusion (SHANDON CITADEL 1000).

Après cette étape, les pièces sont passées au poste d'enrobage où elles ont été coulées en blocs de paraffine.

Sur ces blocs de paraffine contenant les prélèvements de branchies, des coupes minces de 4 à 5 μ m d'épaisseur ont été réalisées à l'aide d'un microtome de type rotatif (LEICA RM 2255). Les rubans obtenus ont été étalés dans un bain marie dont la température était réglée à 40°C et contenant de l'eau mélangée à l'ovo-albumine pour permettre le collage des coupes sur les lames porte-objet. Après séchage, les lames ont été placées à l'étuve pour les préparer à la coloration.

I.3.4 Colorations et réactions histologique

Dans notre étude, nous avons utilisé une coloration topographique : l'Hémalun-éosine (HE) et une réaction immunohistochimique : le PCNA/Cyclin (antigène nucléaire de prolifération cellulaire).

I.3.4.1. Coloration à l'Hémalun - Eosine (HE)

Elle constitue la coloration topographique de référence en histologie. C'est une coloration qui permet une étude des caractéristiques morphologiques des tissus et des organes.

Son principe consiste à faire agir successivement sur les tissus un colorant nucléaire basique, l'hémalun et un colorant cytoplasmique acide, l'éosine – érythrosine (**Annexe 1**).

Cette coloration permet de révéler les noyaux des cellules en bleu et les cytoplasmes des cellules en rose à rouge. Cependant, cette coloration ne permet pas de bien caractériser le tissu conjonctif qui est plutôt mis en évidence par le safran.

I.3.4.2. Réaction immunohistochimique

Mise en évidence du PCNA/ Cyclin (antigène nucléaire de prolifération cellulaire) (Annexe 2)

Le PCNA/Cyclin est une cycline, protéine nucléaire acide hautement conservée au cours de l'évolution. C'est une protéine auxiliaire de l'ADN polymérase δ (**MATHEWS et al.** 1984 ; **BRAVO et al.** 1987 ; **PRELICH et al** 1987). Elle est synthétisée à la fin de la phase G_1 et durant la phase **S** du cycle cellulaire (**BRAVO et CELIS** 1980 ; **BRAVO et al** 1981 ; **BRAVO et al** 1987 ; **PRELICH et al** 1987).

Différentes études ont montré que le PCNA/Cyclin est un bon marqueur de l'état de prolifération cellulaire (**BRAVO et MACDONALD-BRAVO** 1985 ; **KURKI et al** 1986). **GALAND et DEGRAEF** (1989) ont montré, par ailleurs que le PCNA/Cyclin est une méthode de marquage des noyaux durant la phase **S** du cycle cellulaire, capable de se substituer à la technique usuelle de marquage

par autoradiographie à la thymidine tritiée (pour une revue voir **HALL et WOODS** 1990).

Dans cette étude nous utiliserons le PCNA/Cyclin pour marquer les cellules épithéliales des lamelles branchiales entrées dans le cycle cellulaire, afin de juger de l'activité proliférative de ces cellules suite à l'infection par les organismes épithéliocytiques.

La technique immunoenzymatique indirecte streptavidine-biotine sur coupe à la paraffine a été utilisée dans cette étude pour détecter le PCNA/Cyclin. Les fixations non spécifiques sont supprimées avec l'apport du sérum de chèvre dilué dans 1% de TBS sur les coupes de branchies. Elles sont ensuite incubées dans l'anticorps primaire monoclonal anti-souris PCNA-PC10 (DAKO) dilué au 1/50 pendant 1 heure à 37°C. L'incubation avec l'anticorps de liaison anti-souris (IgG biotinylée) dilué au 1/200 pendant 30 minutes à température ambiante est suivi avec l'adjonction d'une solution de streptavidine marquée par la peroxydase (kit K1016-LSAB (R)-DAKO) diluée au 1/200 dans du TBS.

Trente minute, l'activité enzymatique de la peroxydase est révélée par adjonction du mélange DAB - Substra-chromogène (kit K3468, DAKO). Suite à cette réaction, les noyaux activés (phase G₁ et S) apparaissent bruns alors que la chromatine des noyaux au repos est bleue.

I.4. Montage des lamelles

Après coloration, les lames sont couvertes de lamelles couvre-objet à l'aide d'une goutte de milieu de montage (EukittND), et sont ensuite laissées à sécher pendant au moins une heure de temps. Elles sont alors prêtes pour être observées au microscope.

I.5. Observation des lames

Elle a pour but l'examen microscopique des coupes et permet éventuellement, de mettre en évidence les kystes d'épithéliocytose au niveau des

lamelles branchies et de l'épiderme. L'observation des lames a été faite à l'aide d'un microscope de type « Olympus BH-2 ».

I.6. Etude histomorphométrique

L'étude histomorphométrique réalisée dans notre étude correspond à la mesure de la taille (plus grand diamètre) des kystes d'épithéliocytose. Elle est réalisée par des méthodes semi-automatiques utilisant un analyseur d'image à haute résolution (MVC2000 et VEDn-2, Motic China Group Co, Ltd, version 2001-2206).

Ce système d'analyse d'image est composé par un ordinateur de marque FUJITSHI équipé des logiciels MVC2000 et VEDn-2, respectivement pour l'acquisition de l'image et son traitement, d'une caméra vidéo numérique montée sur un microscope de type « Olympus BH-2 ».

La taille (plus grand diamètre) de 100 kystes a été mesuré à partir des préparations microscopiques colorés à l'hémalum - éosine.

Le coefficient de variation des mesures est de 3,5% pour les mesures de la taille des kystes.

Chapitre II :

RESULTATS

II.1. Mensurations

Les longueurs standards des poissons, pour chaque espèce prélevée en Côte d'Ivoire, sont représentées dans les **tableaux VII, VIII, IX, X et XI**.

La croissance des poissons semble être homogène chez trois espèces de poissons étudiés, à savoir *Oreochromis niloticus* (Aboisso), *Sarotherondon melanotheron* (Dabou) et *Chrysichthys nigrodigitatus* (Dabou). En effet, chez ces espèces, la moyenne des longueurs standards est quasi similaire pour tous les individus (**tableau XII**).

Oreochromys niloticus (Dabou), est l'espèce la plus représentée et présentant le moins d'homogénéité. En effet, l'écart-type des longueurs standards chez cette espèce est le plus élevé.

Oreochromis niloticus (Azaguié) présente également moins d'homogénéité en entre les individus par rapport à la longueur standard (**tableau XII**)

Tableau XIX: Poids et longueurs standard chez *Oreochromis niloticus* (Dabou)

Numéro de l'échantillon	Poids (g)	Longueur standard (cm)
1	280,87	19,13
2	214,38	19,2
3	233,05	20,2
4	64,74	11,9
5	67,75	11,7
6	7,1	6,7
7	10,62	6,5
8	186	19,5
9	194	19,5
10	194	19,5
11	195	18,8
12	150	16,3
13	253	20
14	200	18,5
15	215	19,5
16	176	18,8
17	173	18,4
18	54	11,5
19	49	12
20	29	9,5

Tableau XX : : Poids et longueurs standard chez *Oreochromis niloticus* (Azaguié)

Numéro de l'échantillon	Poids (g)	Longueur standard (cm)
1	189	16,7
2	165	16
3	174	16,5
4	141	16
5	154	15,5
6	31	10
7	29	9
8	37	9,2
9	25	9
10	20	8,5

Tableau XXI: Poids et longueurs standard chez *Oreochromis niloticus* (Aboisso)

Numéro de l'échantillon	Poids (g)	Longueur standard (cm)
1	368	21,8
2	292	18
3	155	16
4	140	15
5	120	14,8
6	120	13,9
7	109	14
8	46	12,4

Tableau XXII: Poids et longueurs standard chez *Sarotherodon melanotheron* (Dabou)

Numéro de l'échantillon	Poids (g)	Longueur standard (cm)
1	19,01	16,5
2	20,07	16,6
3	13,77	14,5
4	11	13,4
5	8,35	12,5
6	5,78	10,8

Tableau XXIII: Poids et longueurs standard chez *Chrysichthys nigrodigitatus* (Dabou)

Numéro de l'échantillon	Poids (g)	Longueur standard (cm)
1	12,51	19,5
2	13,03	19
3	7,72	16
4	7,37	15,7
5	6,45	15,5
6	7,04	15

Tableau XXIV: longueurs standards (Moyennes et écart-types) des 3 espèces de poissons

Espèces	Origine	Moyenne L.S (cm)	Ecart-type
<i>Oreochromis niloticus</i>	Dabou	15,85	4,7
<i>Oreochromis niloticus</i>	Azaguié	12,64	3,7
<i>Oreochromis niloticus</i>	Aboisso	15,73	2,9
<i>Sarotherondon melanotheron</i>	Dabou	14,05	2,3
<i>Chrysichthys nigrodigitatus</i>	Dabou	16,78	1,9

II.2. Résultats

II.2.1. Lésions macroscopiques

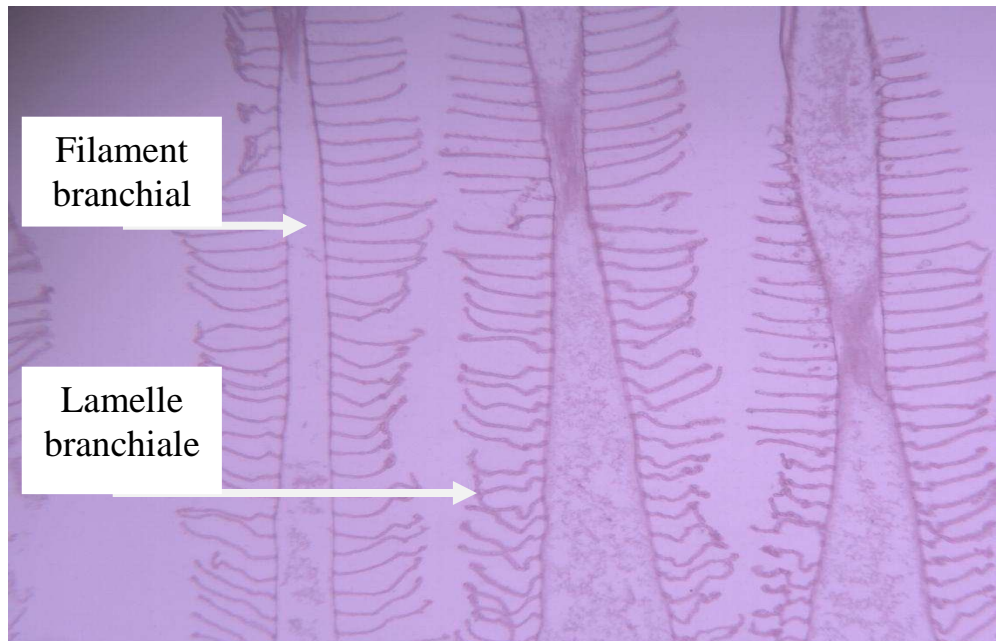
L'observation macroscopique des branchies et de la peau des poissons de notre étude n'a révélé aucune lésion.

II.2.2. Lésions microscopiques

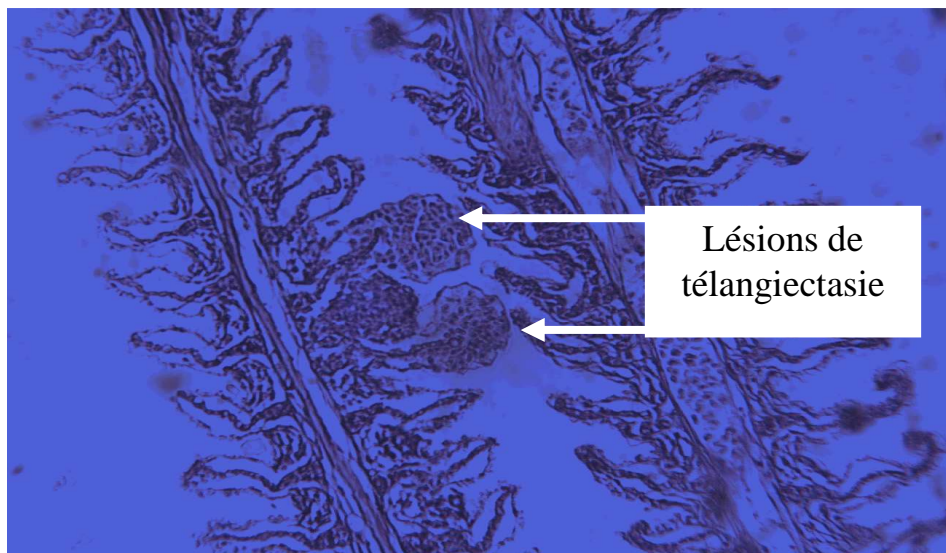
II.2.2.1. Poissons d'élevage

Dans notre étude aucun poisson provenant des élevages de la Côte d'Ivoire n'a présenté de lésions typiques d'épithéliocytose. Cependant, nous avons observé sur les préparations microscopiques des branchies de ces derniers d'autres types d'anomalies tels que :

- des télangiectasies à divers stades (dilatation des vaisseaux)(**Figure16**)
- des décollements des cellules pilastres (**Figure17**)
- des œdèmes au niveau des lamelles branchiales primaires(**Figure18**)
- des fusions des lamelles secondaires (**figure 19**).



**Figure 15 : Coupe de filaments branchiaux normaux (HE)
 .Photo (KOUAKOU)**



**Figure 16: Coupe de filaments branchiaux présentant des lésions de
 télangiectasies (HE)
 Photo KOUAKOU**

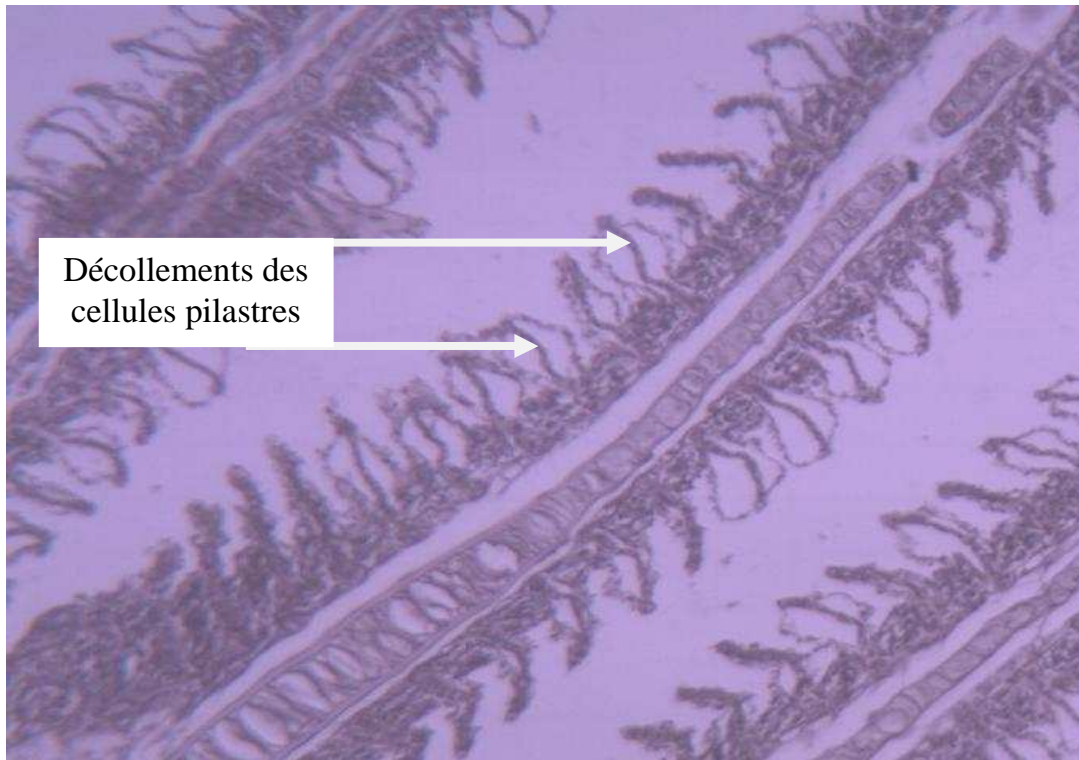


Figure 17: Coupe de filaments branchiaux présentant des décollements des cellules pilastres (HE) Photo (KOUAKOU)

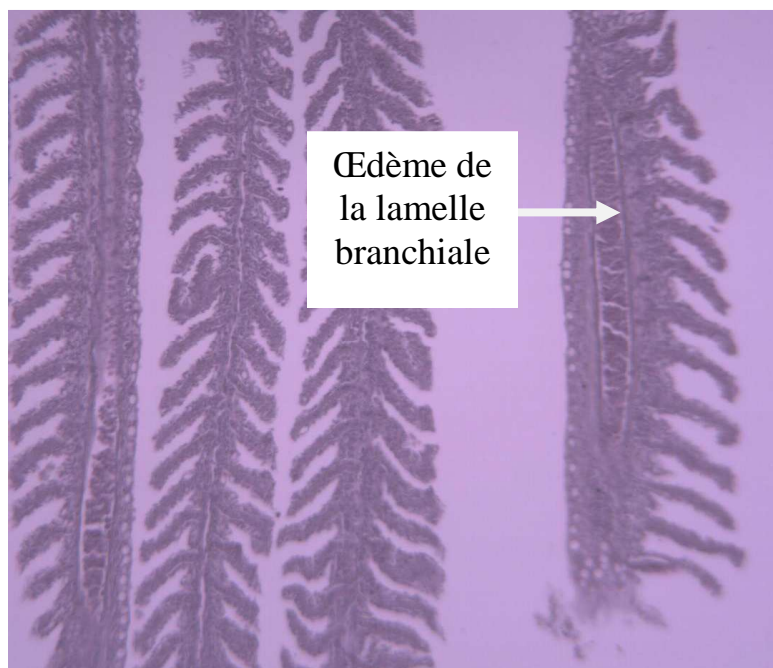
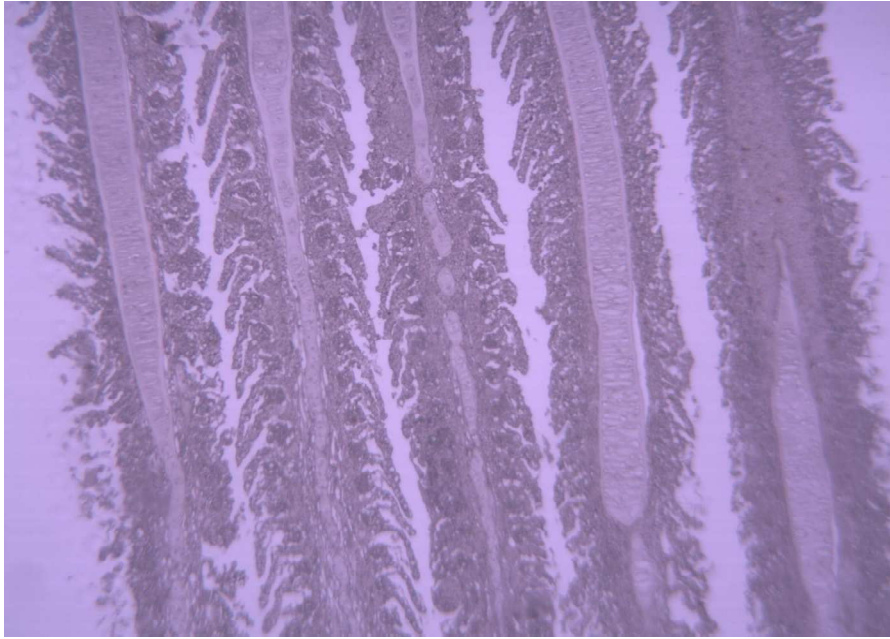
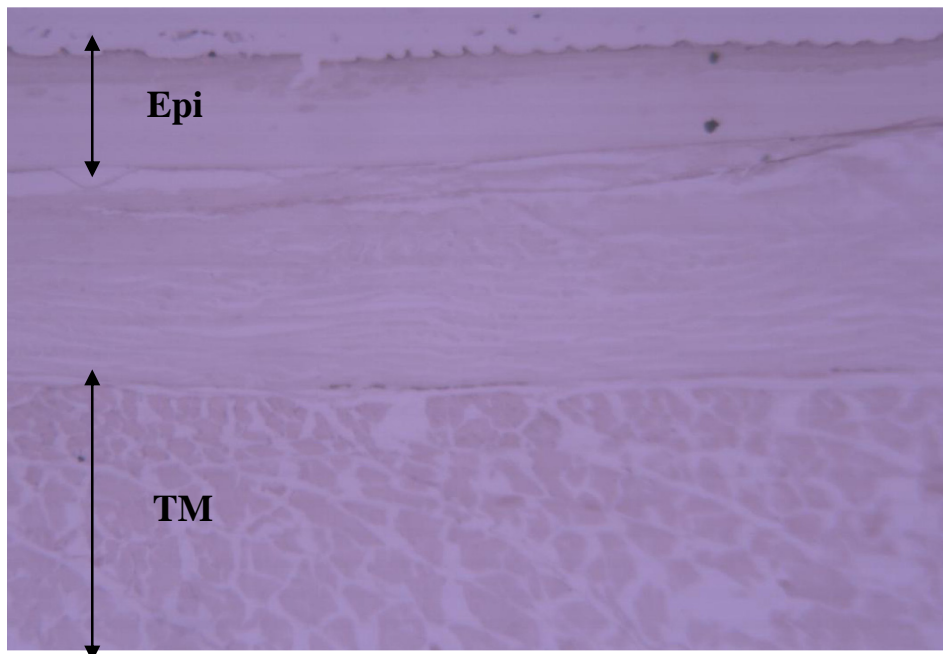


Figure 18: Coupe de filaments branchiaux présentant un œdème au niveau des lamelles branchiales primaires (HE) Photo (KOUAKOU)



**Figure 19 : Coupe de filaments branchiaux avec fusion des lamelles (HE)
Photo (KOUAKOU)**

Les préparations histologiques de peau ne présentaient aucunes lésions
(Figure 20)



**Figure 20 : Coupe histologique de peau de poisson (HE)
Epi= épiderme ; TM= Tissu musculaire Photo (KOUAKOU)**

II.2.2.2. Poissons de l'estuaire du Sine – Saloum

II.2.2.2.1. Description des lésions

Certains poissons capturés dans l'estuaire du Sine-Saloum présentent des lésions caractéristiques de l'épithéliocytose uniquement au niveau des branchies. En effet, ces lésions sont absentes au niveau de la peau des poissons infectés.

Les lésions d'épithéliocytose sont caractérisées par des kystes sphériques à ovale d'un diamètre moyen de $20,6 \pm 6,3\mu\text{m}$. La taille des kystes est comprise entre $11,9\mu\text{m}$ et $41,6\mu\text{m}$ (**figure 22a**) et leur contenu est polymorphe.

Sur le plan structural, deux types de kystes ont été observés sur les branchies atteintes. Le premier type correspond à des kystes à contenu homogène et basophile. Le deuxième type de kyste est de taille plus importante que le précédent et présente un contenu granuleux basophile (**Figure 22a**).

Les kystes d'épithéliocytose sont délimités par une membrane simple et fine (**Figure 22b**). Ils adhèrent à l'épithélium primaire des filaments branchiaux dans les espaces séparant deux lamelles branchiales (**Figure 22a et 22b**). Rarement, on observe des kystes de petite taille situés au sommet des lamelles secondaires (**Figure 23**).

Les lésions d'épithéliocytose observées dans notre étude ne semblent pas être associées à une réaction de type proliférative importante de l'hôte.

Le marquage par le PCNA/Cyclin montre que les structures à l'intérieur du kyste sont en état de prolifération cellulaire (**Figure 24**).

Les cellules atteintes par les lésions d'épithéliocytose dans notre étude semblent être principalement représentées par les cellules épithéliales (**Figure 25**).

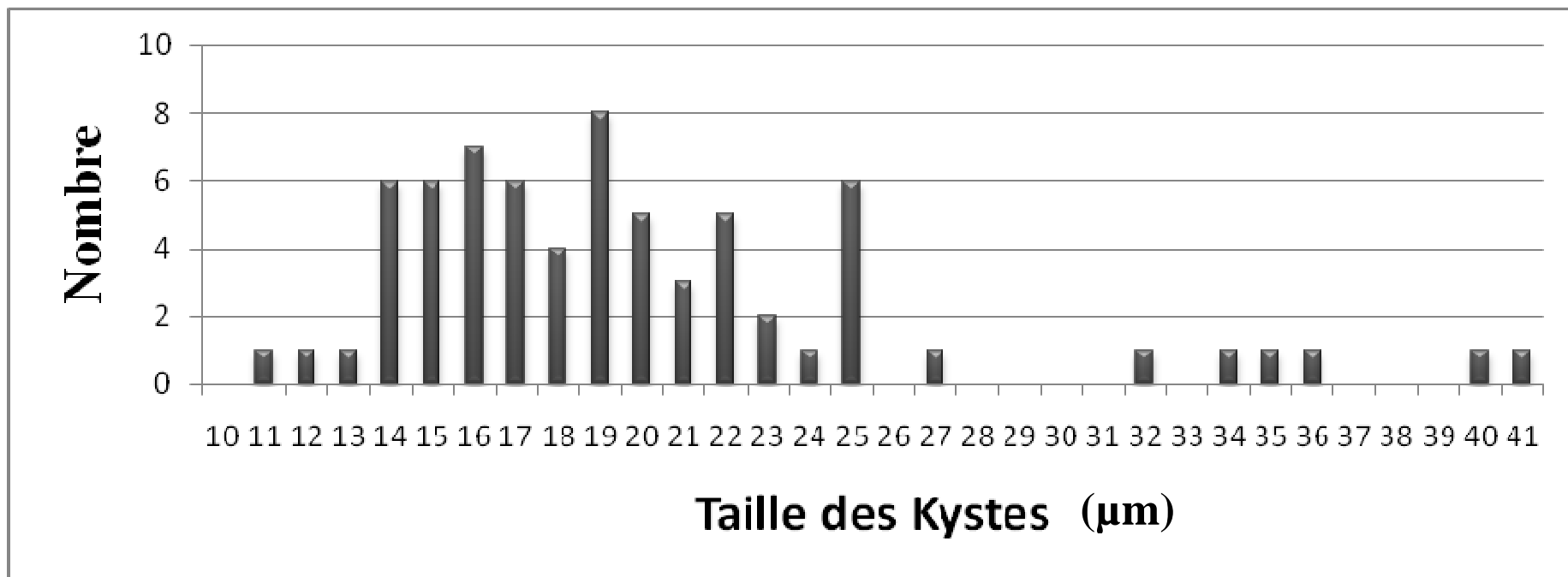


Figure 21: Répartition des kystes d'épithéliocytose en fonction de leur diamètre

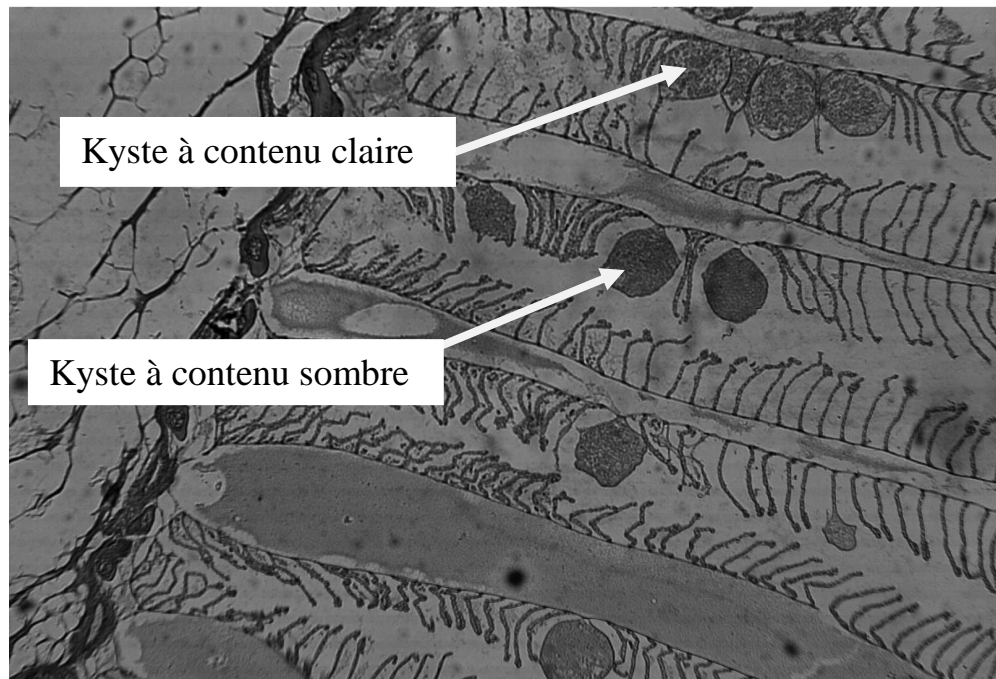
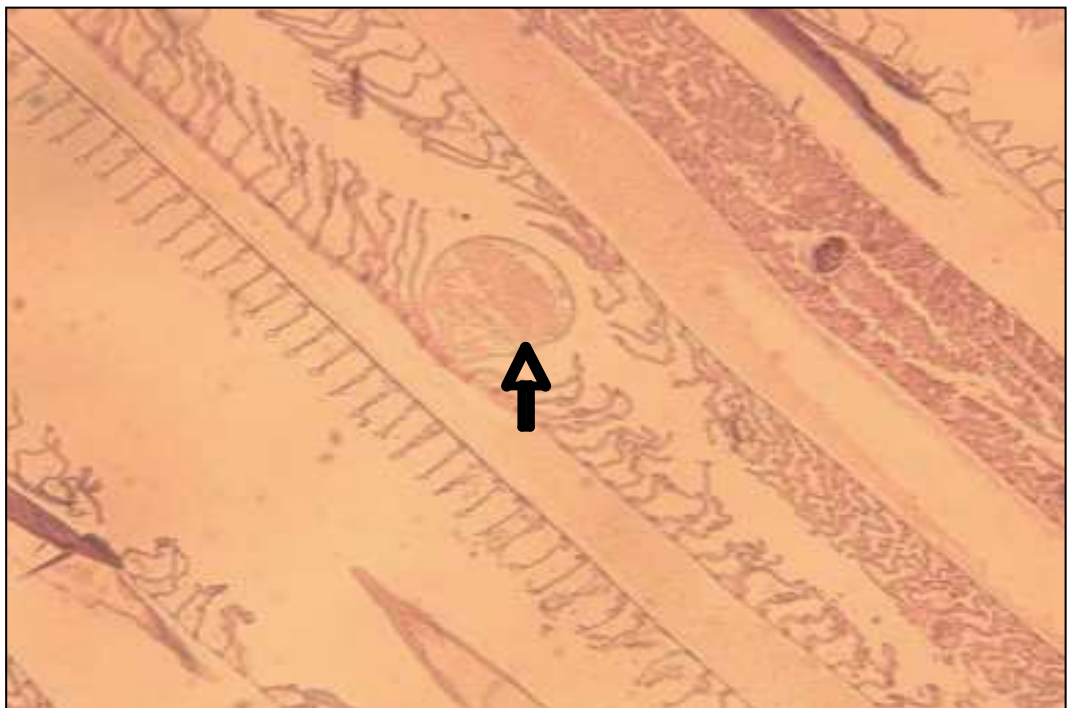
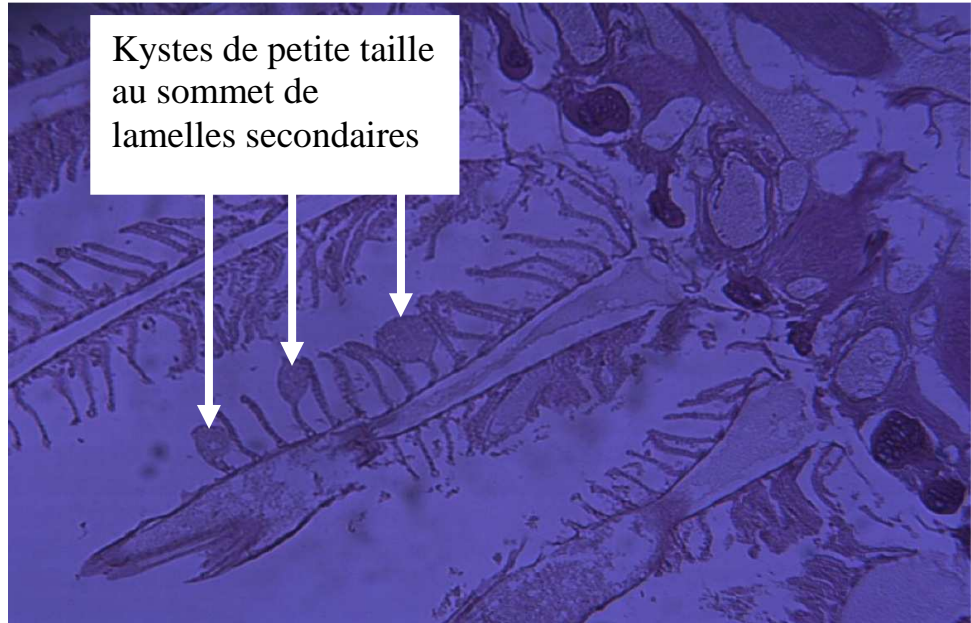


Figure 22a: Coupe de filaments branchiaux montrant deux populations de kystes (flèches) (HE) Photo (KOUAKOU)



**Figure 22b: Coupe de filaments branchiaux mettant en évidence la paroi du kyste (flèche) (HE).
Photo (KOUAKOU)**



**Figure 23 : Kystes fixés au sommet des lamelles branchiales (HE)
Photo (KOUAKOU)**

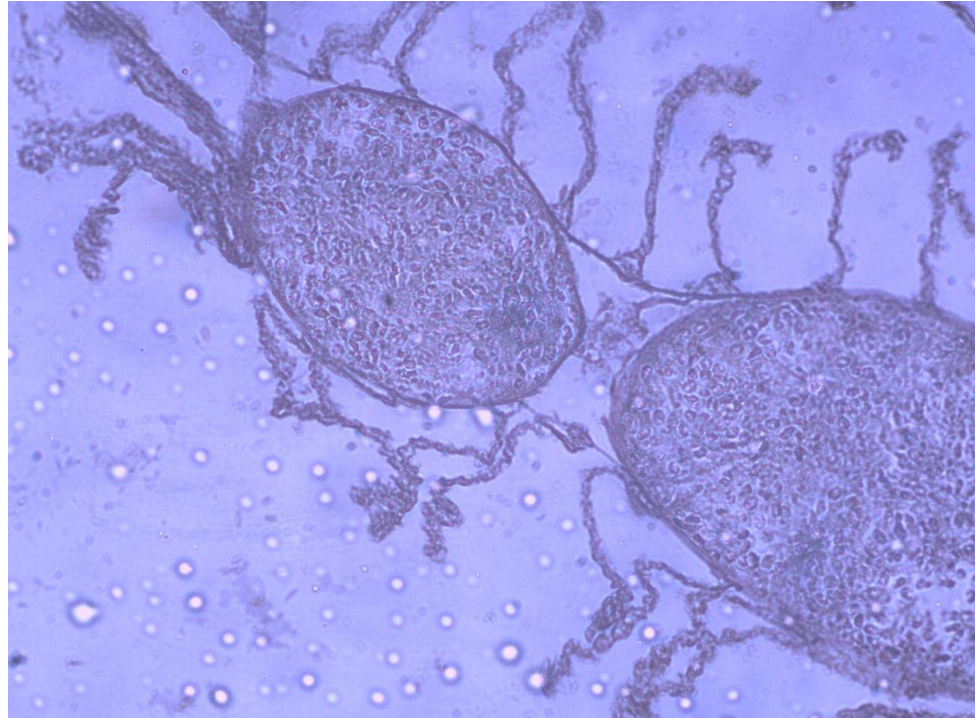
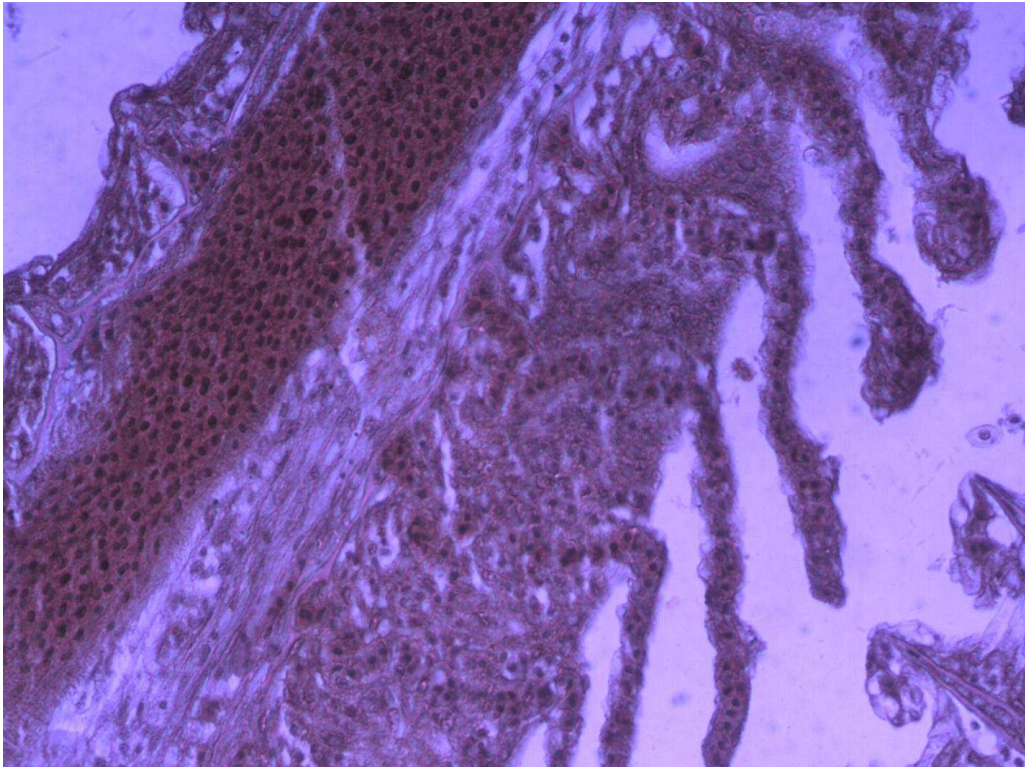


Figure 24: Coupe de filaments branchiaux montrant des kystes en prolifération (PCNA/Cyclin) Photo (KOUAKOU)



**Figure 25: Coupe de filaments branchiaux montrant les cellules épithéliales non marquées par le PCNA/Cyclin
Photo (KOUAKOU)**

II.2.2.2.2. Nombre de poissons atteints

Les kystes typique des la lésion d'épithéliocytose n'ont été observés dans aucune des branchies de poissons d'élevage prélevés en Côte d'Ivoire. 1 poisson sur 31 présentait des kystes parmi les poissons prélevés au Sénégal.

Les kystes ont été observés dans 12 des 29 branchies de poissons (*Mugil cephalus*) déjà montés en blocs de paraffine, soit un pourcentage de 41,37%.

Chapitre III :

DISCUSSION

Une critique de la méthodologie employée et une analyse des résultats obtenus seront envisagées dans ce chapitre. Les résultats feront l'objet d'une comparaison avec ceux décrits dans la bibliographie.

III.1 Conduite de l'étude expérimentale

La limite des moyens mis à notre disposition ne nous a pas permis d'utiliser un plus grand échantillon avec plus d'espèces.

La congélation de certains poissons pris en Côte d'Ivoire n'a eu aucun effet néfaste sur la qualité des coupes histologiques car elle a été bien contrôlée pour éviter la putréfaction.

Le choix de la longueur à mesurer est arbitraire. La plupart des biologistes s'occupant des pêches mesurent soit la longueur jusqu'à la fourche caudale soit la longueur totale mais aucune de ces méthodes n'offre un avantage net par rapport à l'autre qui permette de recommander son adoption comme norme universelle.

Nous avons choisi de mesurer les longueurs totale et standard car ce sont celles qui sont le plus souvent utilisées par les biologistes pour l'identification des Poissons.

III. 2 Analyse des résultats

III.2.1 Mensurations et poids

Le choix de la longueur à mesurer est arbitraire. La plupart des biologistes s'occupant des pêches mesurent soit la longueur jusqu'à la fourche caudale soit la longueur totale mais aucune de ces méthodes n'offre un avantage net par rapport à l'autre qui permette de recommander son adoption comme norme universelle.

Nous avons choisi de mesurer la longueur standard car c'est elle qui est le plus souvent utilisée par les biologistes pour l'identification des poissons.

On sait par exemple que chez *Tilapia nilotica* les individus atteignent l'âge de maturité (1 à 3 ans selon le sexe et le milieu), les individus mâles présentent une croissance nettement plus rapide que les femelles et atteignent une taille nettement supérieure. Ainsi dans le lac Itasy, les mâles vivent plus vieux et atteignent une taille maximale de 38 cm soit 2000 g alors que les femelles ne dépassent pas 28 cm soit 950 g. Toutefois, d'après **LOWE-McCONNEL** (1982), dans les grands lacs où la croissance est bonne, mâles et femelles atteignent des tailles identiques. **Source : Les Méthodes de Production d'alevin de *Tilapia nilotica***

Les poissons que nous avons utilisés étaient donc des juvéniles qui n'avaient encore atteint leur maturité sexuelle. D'après **KINKELIN et al.** (1985) et **DORSON et TORCHY** (1981), Ce sont ces jeunes qui sont les plus sensible à la plupart des maladies, les adultes ayant acquis avec l'âge, la plénitude de leurs défenses immunitaires spécifiques et non spécifiques.

III.2.2 Lésions histologiques

Les lésions que nous avons observé dans les branchies des mullets (*Mugil cephalus*) correspondent à celles observées par d'autres études sur la maladie de l'épithéliocytose (**NOWAK et al.**, 2006 ; **PAPERNA**, 1982).

L'épithéliocytose a été identifiée chez plus de 50 espèces de poissons partout dans le monde (**LEWIS et al.**, 1992). Sa présence en Afrique a été signalée Afrique du Sud par **PAPERNA** (1982).

On la trouve aussi bien chez les espèces marines que celles d'eau douce, dans les élevages mais aussi chez les poissons sauvages, même si la prévalence semble plus élevée chez les poissons en élevage (**NOWAK et al.**, 1999).

Dans notre étude, aucun poisson prélevé dans les élevages piscicoles de la Côte d'Ivoire n'a présenté des lésions d'épithéliocytose. Nos résultats sont différents de ceux qui sont rapportés dans la littérature. En effet, dans une revue

bibliographique sur l'épithéliocytose, **NOWAK et LaPATRA** (2006) rapportent une prévalence plus grande à l'épithéliocytose chez les poissons d'élevages par rapport aux poissons sauvages. L'échantillonnage de notre étude pourrait être à l'origine de ces différences de résultats. Aussi, des études plus approfondies devront être menées sur les poissons d'élevage en Côte d'Ivoire afin de juger convenablement de leur statut par rapport à cette maladie.

Le *Tilapia* est la deuxième espèce de poisson de l'estuaire du Sine-Saloum qui est atteinte par des lésions d'épithéliocytose après *Mugil cephalus* (**BYUKUSENGE**, 2008). La prévalence de l'infection dans cette espèce est très faible (1 poisson atteint sur 31).

L'aspect externe des poissons dont les branchies étaient pourvues de kystes n'avait rien de particulier par rapport aux autres poissons faisant partie de l'étude. Ceci concorde avec les travaux de **NOWAK et al.** (2004) qui affirment que l'épithéliocytose est une maladie sans grande importance clinique. Cependant, selon **KINKELIN et al.** (1985) la maladie peut devenir plus grave surtout chez les plus jeunes sujets (juvéniles et alevins) et provoquer une détresse respiratoire pouvant entraîner la mort. En effet, **NOWAK et LaPATRA** (2006) rapportent que les mortalités associées à l'épithéliocytose peuvent varier de 4% à 100% en élevage.

La morphologie des kystes observés dans notre étude nous révèle la présence de 2 types de kystes au niveau des branchies des poissons infectés. Un type présentant un contenu homogène et basophile de petite taille localisé principalement au sommet des lamelles secondaires et un second type de kystes de taille plus grande présentant un contenu d'aspect granuleux et localisé principalement entre les lamelles secondaires. Nos résultats sont en accord avec ceux qui sont rapportés par **SZAKOLCZAI et al.** (1999) et qui décrivent deux types de kystes dans l'épithéliocytose du Pacu (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg). En effet, ces auteurs ont observé des kystes à contenu homogène de taille comprise entre 10 et 20µm d'une part et des kystes à contenu granuleux

ayant une taille comprise entre 30 et 40 μ m. Ces deux types de kystes pourraient être associés aux deux types de cycle de développement supposé de l'agent pathogène comme le soutiennent **CRESPO et al.** (1999).

Par ailleurs, nos observations morphologiques sont étayées par notre étude histomorphométrique qui révèle une distribution presque binomiale de la taille des kystes, suggérant la présence de deux populations de kystes.

La taille moyenne ($20,6 \pm 6,3\mu$ m) des kystes observés dans notre étude se trouve comprise dans la fourchette des valeurs rapportées par la plupart des auteurs. Par exemple, **GROFF et al.** (1996) rapportent des tailles de kystes comprises entre 11 μ m et 28 μ m chez l'esturgeon blanc (*Acipenser transmontanus*, Richardson). Selon **ZIMMER et al.** (1984), la taille des kystes dans l'infection du poisson chat (*Ictalurus punctatus*, Rafinesque) est comprise entre 9 μ m et 22 μ m. Par contre, **PAPERNA et ALVES DE MATOS** (1984) rapportent des tailles de kystes très inférieures à celles qui sont obtenues dans notre étude à savoir 1 à 10 μ m. Quant à **CRESPO et al.** (1990), les tailles des kystes qu'ils décrivent dans l'infection de la sériole (*Seriola dumerili*, Risso) sont comprises entre 210 et 250 μ m et sont très supérieures à celles que nous avons obtenues dans notre étude. Ces différences observées pourraient être liées à des sensibilités d'espèces et/ou à des variations des conditions environnementales.

D'après la littérature, la réaction de l'hôte suite à l'infection par l'agent pathogène de l'épithéliocytose est soit proliférative [**PAPERNA**, (1977); **PAPERNA et ALVES DE MATOS** (1984); **FRANCES et al.** (1997); **NYLUND et al.** (1998); **CRESPO et al.**, (1999); **SZAKOLCZAI et al.** (1999); **DRAGHI et al.** (2004)], soit non proliférative (**PAPERNA et ALVES DE MATOS** (1984); **ZIMMER et al.** (1984); **DRAGHI et al.** (2004)]. Par contre dans notre étude, les lésions d'épithéliocytose sont peu ou pas associées à des réactions cellulaires de l'hôte. Nos résultats sont en accord avec ceux qui

sont rapportés par **LANGDON** *et al.* (1991) chez le Dragon des mers (*Phycodurus eques*, Gunther).

PAPERNA (1977) avait décrit la maladie chez les Mugilidae et les Sparidae. **BYUKUSENGE** (2008) a observé les lésions d'épithéliocytose uniquement chez les Mugilidae (*Mugil cephalus*). Nous avons observé un poisson infecté dans le même milieu d'étude que **BYUKUSENGE** (2008) au cours de notre étude. Ce qui pourrait faire étude semble être en accord avec les constatations de **NOWAK et LaPATRA** (2006). En Effet, ils ont constaté que, chez les poissons sauvages, la prévalence de l'épithéliocytose était généralement plus élevées chez les poissons « démersaux » c'est-à-dire des poissons qui, comme les mullets, peuvent vivre près du fond sans pour autant y vivre de façon permanente. Les mêmes auteurs expliquent que cette différence de prévalence de la maladie chez les poissons capturés dans les mêmes conditions pourrait être liée aux différences dans la biologie et la physiologie des espèces de Poissons. Cependant, comme le suggèrent les auteurs eux-mêmes, ces différences dans la prévalence de la maladie pourraient être tout simplement liées aux problèmes de biais d'échantillonnage.

Ces résultats confirment encore notre choix d'avoir utilisé l'histopathologie pour étudier les pathologies des branchies. En effet, la maladie ne s'accompagne généralement pas de signes cliniques (**NOWAK** *et al.*, 2004) et les kystes sont invisibles à l'œil nu (**KINKELIN** *et al.*, 1985). Par ailleurs, l'agent pathogène que **PAPERNA** (1977) ou encore **DESSER** *et al.* (1988) décrivent comme une Chlamydie ou une Rickettsie n'est pas identifiable par des techniques de Microbiologie de routine car il ne peut pas être mis en culture (**NOWAK** *et al.*, 2006). L'histopathologie reste donc le seul moyen de diagnostic de cette maladie sinon elle pourrait passer inaperçue comme par exemple au Japon où la maladie ne figurait en aucune des deux listes de maladies d'une espèce de Poissons, *Seriola quinqueradiata*, publiées par **EGUSA** (1983) et **KUSUDA** *et al.* (1998).

Plus tard, les études histopathologiques ont montré la présence de la maladie chez cette espèce.

Cependant, des études ultérieures à l'aide de marquages immunohistochimiques à l'antigène anti-Chlamydia devront être réalisées pour préciser l'identité de l'agent pathogène à l'origine des lésions d'épithéliocytose chez les poissons de l'estuaire du Sine-Saloum.

NOWAK *et al.*, (1999) ont constaté que la prévalence de la maladie était liée à la saison, la plus élevée a été observée entre Novembre et Février (Australie). Cela nous laisse penser qu'une étude menée dans une période différente que celle dans laquelle nous avons fait notre étude pourrait donner des résultats différents des nôtres et peut-être aussi la présence de la maladie chez d'autres espèces que les mulets (*Mugil cephalus*).

Selon **NOWAK et LaPATRA** (2006), la peau est un l'autre organe atteint par l'épithéliocytose. Cependant, dans notre étude, la peau des poissons infectés par l'épithéliocytose ne montrent aucune lésion.

Des études ultérieures doivent être entreprises pour poursuivre ce travail afin de mieux préciser les lésions de cette maladie aussi bien en élevage qu'en milieu naturel.

CONCLUSION

La pisciculture en Côte d'Ivoire a débuté dans les années 1975. Elle a permis de maîtriser le cycle de reproduction de plusieurs espèces de poissons dans le but de maintenir la production nationale de poissons presque exclusivement assuré par la pêche. En vue de maîtriser, les facteurs pouvant limiter la croissance et la reproduction de ces derniers, plusieurs études ont été réalisées, notamment sur les pathologies les affectant.

Comme les poissons d'élevage, les poissons vivants dans les milieux naturels tels que le Delta du Sine-Saloum au Sénégal sont également soumis à des contraintes pathologiques.

En effet le Delta du Sine-Saloum au Sénégal est l'un des milieux estuariens tropicaux avec des écosystèmes de mangrove très riches. Ces écosystèmes jouent un rôle important en fournissant des habitats productifs et diversifiés et des apports nutritifs pour la croissance et le développement de beaucoup de populations animales telles que les espèces marines de poissons et de crustacés.

Cependant, ces milieux sont entrain de subir des altérations dues à des pollutions d'origine et d'ampleurs variées, naturelles ou anthropiques. Ces dégradations ont des impacts écologiques au niveau des sources d'énergie et de nourriture, de la qualité de l'eau, des structures des habitats, du régime des cours d'eaux et des interactions biologiques. En effet la pollution des étangs naturels peut avoir un impact sur la pisciculture, car ce sont les eaux des étangs naturels qui sont utilisées pour l'alimentation en eaux des étangs piscicoles.

Ces pollutions peuvent être à l'origine de diverses pathologies chez les poissons. Parmi ces pathologies, la connaissance des affections des branchies, organes multifonctionnels impliqués dans la respiration, dans la régulation osmotique et ionique, dans la régulation acido-basique ainsi que dans l'excrétion des déchets azotés est d'une importance capitale. En effet, elle peut renseigner sur l'état de la pollution des eaux.

BYUKUSENGE (2008) a rapporté des lésions d'épithéliocytose chez *Mugil cephalus* au cours de son étude sur la pathologie des branchies des poissons de l'estuaire du Sine Saloum. Ces lésions étaient caractérisées par des kystes dont le contenu forme une substance granuleuse homogène et basophile. Ces kystes étaient de taille variable (20 à 40 μm de diamètre) et délimités par une membrane simple. Ils adhéraient à l'épithélium primaire des filaments branchiaux, dans les espaces séparant deux lamelles branchiales.

L'objectif général de notre étude est de faire l'étude de l'épithéliocytose chez les poissons d'élevage (Côte d'Ivoire) et vivant à l'état naturel dans l'estuaire du Sine – Saloum (Sénégal). De manière spécifique, il s'agira de réaliser l'étude de l'incidence de la maladie en élevage et en milieu naturel et de préciser les lésions d'épithéliocytose.

Pour atteindre nos objectifs, nous avons mené une étude en parallèle portant sur 81 branchies de poissons de quatre espèces différentes, prélevés au mois d'octobre 2008 dans certains étangs piscicoles en Côte d'Ivoire et dans un des bras de mer du Delta du Saloum. A ces 81 branchies ont été ajoutés 29 branchies d'une quatrième espèce de poisson.

Les espèces étudiées sont : *Oreochromis niloticus*, *Sarotherodon melanotheron*, *Chrysichthys nigrodigitatus*, Genre *Tilapia*, *Mugil cephalus*.

Les mensurations et la pesée ont montré que les Poissons que nous avons utilisés étaient des juvéniles, ce qui offre un avantage car ils sont plus sensibles à la plupart des pathologies que les adultes.

Les branchies des Poissons ont été prélevées, décalcifiées à l'acide nitrique puis fixées au formol à 10% avant d'être soumises aux techniques d'histopathologie.

L'examen des coupes histologiques ainsi réalisées a permis de constater que les branchies de deux des espèces étudiées, *Oreochromis niloticus* pris au Sine-Saloum et *Mugil cephalus* pris également au Sine-Saloum présentaient des lésions caractéristiques de la maladie d'**épithéliocytose**. Cette affection dont l'agent pathogène n'est pas encore totalement identifié est caractérisée par des

kystes dont le contenu est granuleux. Ces kystes sont de tailles variables et adhèrent à l'épithélium primaire des filaments branchiaux dans les espaces séparant deux lamelles branchiales. Dans certains cas l'implantation du kyste est entourée des cellules épithéliales provenant des lamelles branchiales voisines. Dans d'autres cas, on observe une désorganisation complète de la structure lamellaire des branchies avec parfois présence d'un amas d'épithélium hyperplasique.

A part les lésions caractéristiques de l'épithéliocytose, d'autres types de lésions provoquées ont été observées dans les branchies de poissons prélevés en Côte d'Ivoire et à moindre mesure des certains poissons prélevés dans le Sine-Saloum.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **ALBARET J. J. et LEGENDRE M.**, 1983. Les espèces colonisatrices des étangs d'une station de pisciculture lagunaire en Côte d'Ivoire. Description et incidence sur l'élevage. *Document Scientifique Centre de Recherche Océanologiques, Abidjan*, 60 (1) : 1463-1468.
2. **ANDERSON I.G. and PRIOR H.C.**, 1992. Subclinical epitheliocystis in barramundi, *Lates calcarifer*, reared in sea cages. *Australian Veterinary Association*, **69**. 226-227.
3. **ANONYME**, 2000. Ministère de l'Agriculture et des Productions Animales. Direction des Productions Halieutiques, 2000. Annuaire des statistiques de l'Aquaculture et des Pêches-Année 2000. Abidjan : DPH, 110p.
4. **BEAUMONT, A. et CASSIER, P.**, 2000. Biologie animale. Les Cordés : Anatomie comparée des Vertébrés, 8^e édition. Dunod, Paris, 638p.
5. **BNETD**, 2003. Bilan-diagnostic et perspectives pour la relance du secteur pêche et aquaculture en Côte d'Ivoire : rapport provisoire.
6. **BRADLEY T.M., NEWCOMER C.E. and MAXWELL K.O.**, 1988. Epitheliocystis associated with massive mortalities of cultured lake trout *Salvelinus namaycush*. *Diseases of Aquatic Organisms*, **4**. 9-17.
7. **BRAVO R. et CELIS J.E.**, 1980. A search for differential polypeptide synthesis throughout the cell cycle of HeLa cells. *Journal of Cell Biology*, **84**. 795.
8. **BRAVO R., FEY S.J., BELLATIN J., MOSE LARSEN P., AREVALO J., CELIS J.E.**, 1981. Identification of a nuclear and of a cytoplasmic polypeptide whose relative proportion are sensitive to

- exchanges in the rates of cell proliferation. *Experimental Cell Research*, **136**. 331.
9. **BRAVO R., FRANK R., BLUNDELL P.A. and MACDONALD-BRAVO H.**, 1987. Is the auxiliary protein of DNA polymerase S. *Nature*, **326**. 515.
 10. **BRAVO R., MACDONALD-BRAVO H.**, 1985. Changes in the nuclear distribution of cyclin (PCNA) but its synthesis depend on DNA replication. *EMBO Journal*, **4**. 655.
 11. **BRUNO D.W. and POPPE T.T.**, 1996. *A color Atlas of Salmonid Diseases*. Academic Press, London.
 12. **BYUKUNSENGE M.**, 2008. Contribution à l'étude des pathologies des branchies des poissons dans les écosystèmes de mangrove de la reserve de biosphère du delta du Saloum (SENEGAL) Thèse de doctorat vétérinaire, UCAD-EISMV, 98p.
 13. **COMPANY R., SITJA-BOBADILLA A., PUJALTE M.J., GARAY E., ALVAREZ-PELLITERO P. and PEREZ-SANCHEZ J.**, 1999. Bacterial and parasitic pathogens in cultured common dentex, *Dentex dentex* L. *Journal of Fish Diseases*, **22**. 299-309.
 14. **CORSARO D. and VENDITTI D.**, 2004. Emerging chlamydial infection. *Critical Reviews in Microbiology*, **30**. 75-106.
 15. **CRESPO S., GRAU A. and PADROS F.**, 1990. Epitheliocystis disease in the cultured amberjack, *Seriola dumerili* Risso (Carangidae). *Aquaculture*, **90**. 197-207.
 16. **CRESPO S.; ZARZA C. et PADROS F.**, 2001. Epitheliocystis hyperinfection in sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.): light and electron microscope observations. *Journal of Fish Diseases*, **24**. 557 – 560.
 17. **CRESPO S., ZARZA C., PADROS F. and MARIN DE MATEO M.**, 1999. Epitheliocystis agents in sea bream *Sparus aurata*: morphological

- evidence for two distinct Chlamydia-like developmental cycles. *Diseases of Aquatic Organisms*, **37**. 61-72.
- 18.**DESSER S.; PATERSON W.; STEINHAGEN D.**, 1988. Ultrastructural observations on the causative agent of epitheliocystis in the brown bullhead, *Ictalurus nebulosus* Lesueur, from Ontario and a comparison with the chlamydiae of higher vertebrates. *Journal of Fish diseases*, **11**: 453 – 460.
- 19.**DRAGHI A II, POPOV V.L., KAHL M.M., STANTON J.B., BRONW C.C., TSONGALIS G.J., WEST A.B. and FRASCA S.**, 2004. Characterisation of ‘*Candidatus Piscichlamydia salmonis*’ (Order Chlamydiales), a Chlamydia-like bacterium associated with epitheliocystis in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Clinical Microbiology*, **42**. 5286-5297.
- 20.**DU, H.; DAI, W.; HAN, X.; LI, W. ; XU, Y. and XU, Z.**, 2008. Effect of low water temperature on viral replication of white spot syndrome virus in *Procambarus clarkia*. *Aquaculture*, **277** : 149-151.
- 21.**DUNEL, S.; BAILLY, Y. and LAURENT P.**, 1982. Neuroepithelial cells in fish gill primary lamellae. *J Appl Physiol*, **53**: 1342–1353.
- 22.**DUNEL, S.; BAILLY, Y. and LAURENT, P.**, 1989. Neurons controlling the gill vasculature in five species of teleosts. *Cell Tissue Res*, **255**: 567–573.
- 23.**EGUSA, S.**, 1983. Disease problems in Japanese yellowtail, *Seriola quinqueradiata*, culture. Rapports et Procès-verbaux de la Réunion du Conseil International pour l’Exploration de la Mer, **182**. 10–18.
- 24.**EVANS, D. H.; PIERMARINI, P. M. and CHOE, K. P.**, 2003. The Multifunctional Fish Gill: Dominant Site of Gas Exchange, Osmoregulation, Acid-Base Regulation, and Excretion of Nitrogenous Waste. *Physiol Rev*, **85** (1): 97-177.

25. **FOSKETT, J. K.; LOGSDON, C. D.; TURNER, T.; MACHEN, T. E. and BERN, H. A.**, 1981. Differentiation of the chloride extrusion mechanism during sea water adaptation of a teleost fish, the cichlid *Sarotherodon mossambicus*. *J Exp Biol*, **93**: 209–224.
26. **FRANCES J., TENNENT R. and NOWAK B.**, 1997. Epitheliocystis in silver perch. *Journal of Fish Diseases*, **20**. 453-457.
27. **FRYER J. L. and LANNAN C.N.**, 1994. Rickettsial and chlamydial infections of freshwater and marine fishes, bivalves and crustaceans. *Zoological Studies*, **33**: 95-107.
28. **GALAND P. and DEGRAEF C.**, 1989. Cyclin/PCNA immunostaining as an alternative to tritiated thymidine pulse labeling for marking S phase cells in paraffin sections from animal and human tissues. *Cell Tissue Kinetics*, **22**. 383-392.
29. **GHYSEN, A. et DAMBLY-CHAUDIERE C.**, 2003. Le développement du système nerveux : de la mouche au poisson, du poisson à l'homme... *Médecine/Sciences*, **19** : 575-8.
30. **GOODWIN A.E., PARK E. and NOWAK B.F.**, 2005. Successful treatment of largemouth bass, *Micropterus salmoides* (L.), with epitheliocystis hyperinfection. *Journal of Fish Diseases*, **28**. 623-625.
31. **GRASSE, P.-P.**, 1996. Zoologie ; Vertébrés, 3^e édition. Masson, Paris, 187p.
32. **GRAU A. and CRESPO S.**, 1991. Epitheliocytis in wild and cultured amberjack, *Seriola dumerili* Risso: ultrastructural observations. *Aquaculture*, **95**. 1-6.
33. **GROFF J.M., LAPATRA S.E., MUNN R.J., ANDERSON M.L., and OSBURN B.I.**, 1996. Epitheliocystis infection in cultured white sturgeon (*Acipenser transmontanus*): antigenic and ultrastructural similarities of the

- causatives agent to the chlamydiae. *Journal of Veterinary Investigations*, **8**. 172-180.
34. **HALL P.A. and WOODS A.L.**, 1990. Immunohistochemical markers of cellular proliferation: achievement, problems an prospects *Cell Tissue Kinet*, **23**. 505-522.
35. **HOFFMAN G.I., DUNBAR C.E., WOLF K. and ZWILLENBERG L.O.**, 1969. Epitheliocystis, a new infections disease of bluegill (*Lepomis macrochirus*). *Antoine van Leevenhoek Journal of Microbiology and Serology*, **35**. 146-158.
36. **HOOTMAN, S. R. and PHILPOTT, C. W.**, 1980. Accessory cells in teleost branchial epithelium. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, **238**: 199–206.
37. **KARR, J. R.**, 1991. Biological integrity: a long-neglected aspect of water resource management. *Ecological applications*, **1** : 66-84.
38. **KENT M.L., TRAXLER G.S., KIESER D., RICHARD S.C., DAWE R.W., SHAW G., PROSPERI-PORTA G., KETCHESON J. and EVELYN T.P.T.**, 1998. Survey of salmonid pathogens in ocean-caught fishes in British Columbia. *Journal of Aquatic Animal Health*, **10**. 211-219.
39. **KINKELIN, P.; MICHEL, C. and GHITTINO, P.**, 1985. Précis de pathologie des Poissons. INRA-OIE, Paris, 348p.
40. **KOUA, M.**, 2003. Contribution à une amélioration de la productivité du Silure, *Heterobranchus longifilis* en Côte d’Ivoire par induction hormonale de la spermiation. Thèse de doctorat vétérinaire, UCAD-EISMV, 105p.
41. **KURKI P., VANDERLAAN M., DOLBEARE F., GRAY J. and TAN E.M.**, 1986. Expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA/Cyclin) during the cell cycle. *Experimental and Cell Reseach*, **166**. 209.

42. **KUSUDA, R. and KAWAI, K.**, 1998. Bacterial diseases of cultured marine fish in Japan. *Fish Pathology*, **33**. 221–227.
43. **LANGDON J.S., ELLIOTT K. and MACKAY B.**, 1991. Epitheliocystis in leafy sea-dragon. *Australian Veterinary Journal*, **68**. 244
44. **LAURENT, P. and DUNEL, S.**, 1980. Morphology of gill epithelia in fish. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, **238**: 147–159.
45. **LEWIS, E. J.; McLAUGHLIN, S. M.; BODAMMER, J. E. and SAWYER, T. K.**, 1992. Epitheliocystis in ten new host species of marine fish. *Journal of Fish Diseases*, **15**: 267 – 271.
46. **LONGSHAW M., GREEN M.J. and FEIST S.W.**, 2004. Histopathology of parasitic infections in greater pipefish, *Syngnathus acus* L., from an estuary in the UK. *Journal of Fish Disease*, **27**. 245-248.
47. **LOWE-MCCONNELL R.H.**, 1982. Tilapia in fish communities. In: Pullin R.S.V. and Lowe-McConnell R.H. Eds: The biology and culture of tilapias. ICLARM Conference Proceedings, 7, Manila, Philippines, 83-114.
48. **MATHEWS M.B., BERNSTEIN R.M., ROBERT B.F. Jr, and GARRELS J.I.**, 1984. Identify of proliferating cell nuclear antigen and cyclin. *Nature*, **309**. 374-376.
49. **MEIJER A., ROHOLL P.J.M., OSSEWAARDE J.M., JONES B. and NOWAK B.F.**, 2006. Molecular evidence for association of Chlamydiales bacteria with epitheliocystis in leafy sea dragon, *Phycodurus eques* (Gunther), silver perch *Bidyanus bidyanus* (Mitchell) and barramundi, *Lates calcarifer* (Bloch). *Applied and Environmental Microbiology*, **72**. 284-290.
50. **METCALFE, J. D. and BUTLER, P. J.**, 1984. On the nervous regulation of gill blood flow in the dogfish (*Scyliorhinus canicula*). *J Exp Biol*, **113**: 253–268.

51. **MEYER, F. P.**, 1991. Aquaculture disease and health management. *J Anim Sci*, **69**:4201-4208.
52. **MIYAKI K., MIZUTA K., YAMAMOTO N., YOSHIKOSHI K., KANAI K. and TABETA O.**, 1998. Mass mortality of hatchery-reared juveniles of bartail flathead, *Platycephalus* sp. due to epitheliocystis-like disease. *Bulletin of the Nagasaki Prefectural Institute of Fisheries*, **24**. 7-10.
53. **MIYAZAKI T., FUJIMAKI Y. and KATAI**, 1986. A light and electron microscopic study on epitheliocystis disease in cultured fish. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, **52**. 199-202.
54. **MOLNAR K. and BOROS G.**, 1981. A light and electron microscopic study of the agent of carp mucophilis. *Journal of Fish Disease*, **4** : 325-334.
55. **MORRISON C. and SHUM G**, 1983. Epitheliocystis in American plaice, *Hippoglossoides platessoides* (Fabricius). *Journal of Fish Disease*, **6**. 303-308.
56. **NOGA E.J.**, 1996. *Fish Diseases. Diagnosis and Treatment*. Mosby, St Louis, MO.
57. **NOWAK B.F.**, 1996. Health of red morwong, *Cheilodactylus fuscus*, and rock cale, *Crinodus lophodon*, from Sydney cliff-face sewage outfalls. *Marine Pollution Bulletin*, **33**. 281-292.
58. **NOWAK, B. F. and CLARK, A.**, 1999. Prevalence of epitheliocystis in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., farmed in Tasmania, Australia. *Journal of Fish Diseases*, **22**: 73–78.
59. **NOWAK, B. F.; DAWSON, D.; BASSON, L.; DEVENEY, M. and POWELL, M. D.**, 2004. Gill histopathology of wild marine fish in Tasmania: potential interactions with gill health of cultured Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*, **27**: 709–717.

60. **NOWAK B. F. and LAPATRA S. E.**, 2006. Epitheliocystis in fish. *Journal of Fish Diseases*, **29**: 573–588.
61. **NYLUND A., KVENSENTH A.M. and ISDAL E.**, 1998. A morphological study of the epitheliocystis agent in farmed Atlantic salmon. *Journal of Aquatic Animal Health*, **10**. 43-55.
62. **OLSON, K. R.**, 1981. Morphology and Vascular Anatomy of the Gills of a Primitive Air-Breathing Fish, the Bowfin (*Amia calva*). *Cell Tissue Research*, **218**: 499 – 517.
63. **OLSON, K.R.**, 2002. Vascular anatomy of the fish gill. *J Exp Zool*, **293**: 214 – 231.
64. **OTEME, Z. J.; HEM, S. et LEGENDRE, M.**, 1996. Nouvelles espèces de poissons- chats pour le développement de la pisciculture africaine. *Aquat. Living Resour.*, **9** (Numéro Hors série) : 207-217.
65. **OTEME, Z. J.; MUÑEZ RODRIGUEZ, J.; KOUASSI, C. K.; HEM, S. et AGNESE, J-F.**, 1996. Testicular structure, spermatogenesis and sperm cryoconservation in the African Clariid catfish *Heterobranchus longifilis* (Valenciennes, 1840). *Aquaculture research*, **27**: 805-813.
66. **OTOTAKE M. and MATSUSATO T.**, 1987. Epitheliocystis found in juvenile red sea bream imported from Hong Kong. *Bulletin of the National Research Institute Of Aquaculture*, **11**. 51-59.
67. **PAPERNA, I.**, 1977. Epitheliocystis infection in wild and sea bream (*Sparus auratus*, sparidae) and grey mullets (*Liza ramada*, Mugilidae). *Aquaculture*, **10**: 169 – 176.
68. **PAPERNA I. and ALVES DE MATOS**, 1984. The developmental cycle of epitheliocystis in carp, *Cyprinus carpio* L. *Journal of Fish Diseases*, **7**. 137-147.
69. **PAPERNA I. and SABNAI**, 1980. Epitheliocystis disease in fishes. In: *Fish Disease* (ed. by W.Ahne), 228-234. Springer-Verlag, Heidelberg.

70. **PAPERNA I, SABNAI I. and ZAKARY A.**, 1981. Ultrastructural studies in piscine epitheliocystis: evidence for a pleomorphic developmental cycle. *Journal of Fish Disease*, **4**. 459-472.
71. **PHILPOTT, C.W.**, 1980. Tubular system membranes of teleost chloride cells: osmotic response and transport sites. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, **238**: 171–184.
72. **PLEHN M**, 1920. Praktikum der fishkrankheiten. In: *Handbuch der Binnenfischeri Mitteleuropas* (ed. by R. Demoll and H. Maier), 301-429. E. Schweyerbart, Stuttgart.
73. **PRELICH G., CHENG-KEAT T., KOTSURA M., MATHEWS M.B., SO A.G., DOWNEY K.M. and STILLMAN B.**, 1987. Functional identify of proliferating cell nuclear antigen and a DNA polymerase- δ auxiliary protein. *Journal of Neurological Sciences*, **41**. 207-221.
74. **SARDET, C.; PISAM, M. and MAETZ J.**, 1979. The surface epithelium of teleostean fish gills. Cellular and junctional adaptations of the chloride cell in relation to salt adaptation. *J Cell Biol*, **80**: 96–117.
75. **SCHOLZ, T.**, 1999. Parasites in cultured and feral fish. *Veterinary Parasitology*, **84**: 317 – 335.
76. **SYASINA I., PARK I.S. and KIM J.M.**, 2004. Epitheliocystis disease in red sea bream *Pragrus major* and induced hybrid, red sea bream *Pagrus major* (female) and black sea bream *Acanthopagrus schlegeli* (male), cultured in Korea. *Bulletin of Association of fish Pathologists*, **24**. 260-267.
77. **SZAKOLCZAI J., VETESI F. and PITZ S.R.**, 1999. Epitheliocytis disease in cultured pacu (*Piaractus mesopotamicus*) in Brazil. *Acta Veterinaria Hungarica*, **47**. 311-318.
78. **TREBAOL L.**, 1991. Biologie et potentialité aquacole du Carangidae *Trachinotus teraia* (Cuvier et Valenciennes, 1832) en milieu lagunaire

- ivoirien. *Thèse de Doctorat (ès sciences)*. Collection Etude et Thèse. Edition ORSTOM, Paris 314 p.
79. **TRICKLEBANK K.A.**, 1997. *Organochlorine Pesticides Residues and Histopathology in the Damselfish *Parma microlepis*, from Reefs in New South Wales*. PhD thesis, University of Sydney, Sydney.
80. **TURNBULL J.F.**, 1993. Epitheliocystis and salmonid rickettsial septicaemia. In: *Bacterial Diseases of Fish* (ed. by V. Inglis, R. J. Roberts and N.R. Bromage), 237-254. Blackwell Scientific, Oxford, UK.
81. **VARSAMOS, S.; DIAZ, J. P.; CHARMANTIER, G.; BLASCO, R.; CONNES, R. and FLIK G.**, 2002. Location and morphology of chloride cells during the post-embryonic development of the european sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Anat Embryol*, **205**: 203 – 213.
82. **VENIZELOS A., and BENETTI D.D.**, 1996. Epitheliocystis disease in cultured yellowtail *Seriola mazatlanica* in Ecuador. *Journal of the World Aquaculture Society*, **27**. 223-227.
83. **WARD M.E.**, 1998. The chlamydial developmental cycle. In: *Microbiology of Chlamydia* (ed. by A.L. Barron), pp. 71-95. CRC Press, Boca Raton, FL.
84. **WHITTINGTON R.J., JONES J.B., HINE P.M. and HYATT A.D.**, 1997. Epizootic mortality in the pilchard *Sardinops sagax neopilchardus* in Australia and New Zealand in 1995. I. Pathology and epizootiology. *Diseases* (ed. by K. Wolf), pp. 435-444. Comstock, Ithaca, NY.
85. **WOLF K.**, 1988. Epitheliocystis. In: *Fish Viruses and Fish Viral Diseases* (ed. By K. Wolf), 435-444. Comstock, Ithaca, NY.
86. **WRIGHT, D. E.**, 1973. The structure of the Gills of the Elasmobranch, *Scyliorhinus canicula* (L.). *Z. Zellforsch*, **144**: 489 – 509.
87. **ZACHARY A. and PAPERNA I.**, 1977. Epitheliocystis disease in the striped bass *Morone saxatilis* from the Chesapeake Bay. *Canadian Journal of Microbiology*, **23**. 1404-1414.

88. **ZIMMER M.A., EWING M.S. and KOCAN K.M., 1984.**
Epitheliocystis disease in the channel catfish, *Ictalurus punctatus*
(Rafinesque). *Journal of fish disease*, **7**. 407-410.

WEBOGRAPHIE

1. Cycle de developement des Chlamydia
<http://anne.decoستر.free.fr/chlamyri/chlam.htm>

2. Archives de documents de la FAO
Produit par le département des pêches
Titre : Parasite, infection et maladies du poisson en Afrique
<http://www.fao.org/docrep/008/ad792f/AD792F05.htm>

3. **ECOTOUR**, Présentation de la réserve de biosphère du delta du Saloum.
[En ligne] Accès Internet : http://www.ecotour-voyage-nature.com/FR/info_reserve_biosphere_delta_saloum.html (Page consulté le 16 juillet 2008).

4. Les méthodes de production d'alevin de *Tilapia nilotica* (1989)
Biologie de *Tilapia nilotica*
<http://nzdl.sadl.uleth.ca/cgi-bin/library?e=d-00000-00---off-0aginfo--00-0--0-10-0--0-0---0prompt-10---4-----4-0-11--11-en-50-0--20-about--100-0-1-00-0-0-11-1-0utfZz-8-00-0-1-00-0-0-11-1-0utfZz-8-00&a=d&c=aginfo&cl=CL2.6&d=HASHbfa6e6d9d1f84b339e0bb8.11>

ANNEXES

ANNEXE 1

HEMALUM EOSINE SUR COUPES EN PARAFFINE

➤ TECHNIQUE

- Réalisation des coupes de 4 µm
- Déparaffiner et amener les coupes à l'eau
- Colorer les noyaux à l'hémalum **3 à 10 mn**
- Différencier dans l'acide chlorhydrique **Quelques secondes**
- Laver à l'eau courante
- Bleuir avec une solution aqueuse de carbonate de lithium saturée **Quelques secondes**
- Laver à l'eau courante
- Colorer les cytoplasmes dans l'éosine-érythrosine **5 min**
- Laver à l'eau courante
- Déshydrater dans les alcools à 95°, 100°
- Passer très rapidement dans l'alcool à 100°
- Eclaircir au toluène et monter à l'Eukitt ND.

➤ RESULTATS

- Noyaux : **Bleu à noir**
- Cytoplasmes : **Rose**
- Hématies : **Rouge vif**
- Collagène : **Jaune orangé**

ANNEXE 2



Avidine/StreptAvidine-Peroxydase

PROTOCOLE DE MARQUAGE sur coupes tissulaires par un anticorps primaire monoclonal de Souris ou un anticorps primaire polyclonal de Lapin

► PREPARATION DES COUPES

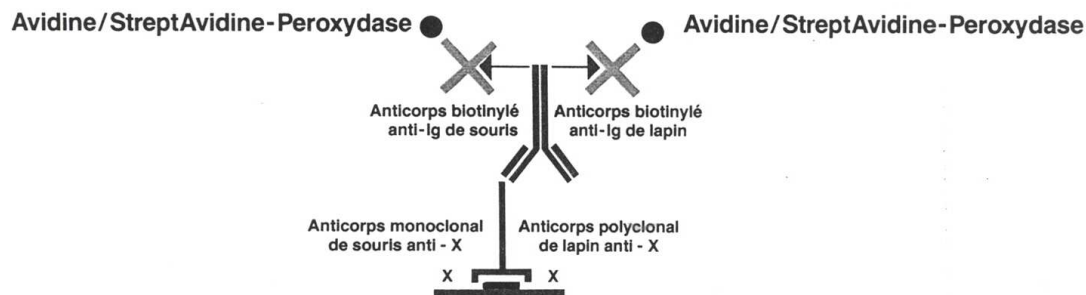
Coupes en paraffine

- 1 - Placer les coupes de tissus sur lames comme lors d'un examen classique.
- 2 - Déparaffiner et réhydrater la coupe tissulaire.
- 3 - Incuber la lame 5 minutes dans de l'eau distillée contenant 3 % de peroxyde d'hydrogène.

Coupes en congélation

- 1 - Placer les coupes de tissus sur lames comme lors d'un examen classique.
- 2 - Fixer à l'acétone pendant 10 minutes à température ambiante. Sécher à l'air libre.
- 3 - Incuber la lame 20 minutes dans du méthanol contenant 0,6 % de peroxyde d'hydrogène.

Le peroxyde d'hydrogène bloquera les activités peroxydases endogènes, qui pourraient être présentes dans les tissus. Ce blocage peut éventuellement être à l'origine d'une diminution de l'intensité de marquage, due à une destruction partielle des antigènes. Cette difficulté est notamment rencontrée lors de l'utilisation de coupes cryostatées. Aussi peut-il s'avérer nécessaire, soit d'éliminer totalement l'étape de blocage des peroxydases endogènes, soit d'opter pour une technique de marquage à la phosphatase alcaline.



► MARQUAGE DES COUPES

- 4 - Rincer la coupe de tissus avec de l'eau distillée puis dans un bain de tampon Tris (TBS) pendant 5 minutes.
- 5 - Incuber 20 minutes en présence de sérum normal de l'espèce productrice de l'anticorps biotinylé (DAKO-X901, X902, X907 pour, respectivement, les anticorps de porc, lapin, chèvre) dilué 5 fois en TBS, afin de bloquer le bruit de fond non-spécifique.
- 6 - Secouer la lame et utiliser un papier absorbant pour éliminer l'excès de réactif.
- 7 - Incuber 20 à 30 minutes avec l'anticorps monoclonal de **Souris**, dilué de façon appropriée dans du TBS.
- 7 - Incuber 20 à 30 minutes avec l'anticorps polyclonal de **Lapin**, dilué de façon appropriée dans du TBS.
- 8 - Secouer la lame pour en éliminer l'excès d'anticorps primaire, et la placer 5 minutes dans un bain de TBS.
- 9 - Incuber 20 à 30 minutes en présence d'anticorps **Anti-Ig de Souris** biotinylé (DAKO-E354, E413, E433, E489), dilué 200 à 600 fois en TBS.
- 9 - Incuber 20 à 30 minutes en présence d'anticorps **Anti-Ig de Lapin** biotinylé (DAKO-E353, E431, E432, E491), dilué 300 à 800 fois en TBS.
- 10 - Secouer la lame pour en éliminer l'excès d'anticorps biotinylé, et la placer 5 minutes dans un bain de TBS.
- 11 - Incuber 20 à 30 minutes avec de l'Avidine/StreptAvidine-Peroxydase (DAKO-P364, P397), diluée 400 à 600 fois en TBS.
- 12 - Secouer la lame pour en éliminer l'excès de conjugué, et la placer 5 minutes dans un bain de TBS.
- 13 - Incuber **5 à 15 minutes** avec le substrat de la peroxydase.
- 14 - Rincer à l'eau distillée.
- 15 - Contre-colorer, et monter avec une lamelle.

PROCEDURE:

Following incubation with an alkaline phosphatase-labelled reagent, place specimens in buffer bath. Tap off excess buffer and carefully wipe slide around specimen.

1. Cover specimens with prepared New Fuchsin solution. Incubate 5 to 30 minutes. Optimal incubation time may vary with specimen and should therefore be determined by the individual laboratory. Rinse gently with distilled water.
2. Counterstain, if desired, with aqueous-based counterstain, such as Mayer's or Gill's hematoxylin. Incubate for 2-5 minutes, depending on the strength of the hematoxylin. Rinse gently with distilled water. Dip 10 times into a wash bath filled with 37mM ammonia water. Place in distilled water for two minutes.
3. Coverslip with an aqueous mounting media. Permanent mounting medium may be used but some signal intensity may be lost.

RESULTS:

Use of the New Fuchsin chromogen yields a fuchsia-colored reaction product at the site of the target antigen or nucleic acid.

For proper interpretation, positive and negative controls should be run alongside unknown specimens. Positive controls serve as indicators that specimen processing and handling were carried out correctly. Negative controls are useful for assessing nonspecific staining.

LIMITATIONS:

New Fuchsin forms an end-product which is partially soluble in organic compounds. Therefore it is recommended to use a nonalcoholic counterstain, such as Mayer's or Gill's hematoxylin, and an aqueous based mounting medium, such as DAKO Glycergel® Mounting Medium, Code No. C563. The intensity of the end-product may fade after prolonged storage, especially if exposed to light.

Endogenous alkaline phosphatase activity in some tissues may yield false-positive results. This endogenous activity may be inhibited by adding 0.1-1mM Levamisole to the substrate-chromogen. Levamisole does not inhibit the intestinal or placental form of alkaline phosphatase and may not be useful for staining of specimens containing these isoenzymes.

{ - Pesor 2,4g/10ml
- Aliquoten
- metlic 2pl/2ml de New Fuchine

SERMENT DES VETERINAIRES DIPLOMÉS DE DAKAR

« Fidèlement attaché aux directives de **Claude BOURGELAT**,
fondateur de l'Enseignement Vétérinaire dans le monde, je
promets et je jure devant mes Maîtres et mes Aînés :

- ✎ d'avoir en tous moments et en tous lieux le souci de la
dignité et de l'honneur de la profession vétérinaire ;
- ✎ d'observer en toutes circonstances les principes de
correction et de droiture fixés par le code de
déontologie de mon pays ;
- ✎ de prouver par ma droiture, ma conviction, que la
fortune consiste moins dans le bien que l'on a, que
dans celui que l'on peut faire ;
- ✎ de ne point mettre à trop haut prix le savoir que je dois
à la générosité de ma patrie et à la sollicitude de tous
ceux qui m'ont permis de réaliser ma vocation.

**Que toute confiance me soit retirée s'il advient que je
me parjure ».**

LE (LA) CANDIDAT (E)

**VU
LE DIRECTEUR
DE L'ECOLE INTER-ETATS
DES SCIENCES ET MEDECINE
VETERINAIRES DE DAKAR**

**VU
LE PROFESSEUR RESPONSABLE
DE L'ECOLE INTER-ETATS DES
SCIENCES ET MEDECINE
VETERINAIRES DE DAKAR**

**VU
LE DOYEN
DE LA FACULTE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE
DE L'UNIVERSITE CHEICKH
ANTA DIOP DE DAKAR**

**LE PRESIDENT
DU JURY**

VU ET PERMIS D'IMPRIMER _____

DAKAR, LE _____

**LE RECTEUR, PRESIDENT DE L'ASSEMBLEE
DE L'UNIVERSITE CHEICKH ANTA DIOP
DE DAKAR**

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'EPITHELIOCYTOSE DES POISSONS EN MILIEU NATUREL ET EN ELEVAGE

RESUME

Les étangs piscicoles de Côte d'Ivoire et les écosystèmes de mangrove du Delta du Saloum sont en voie de dégradation suite à des pollutions d'origine et d'ampleur variées, naturelles ou anthropiques. Cette dégradation a un impact négatif sur la santé des espèces animales aquatiques vivantes dans cet environnement. Les études ont montré que beaucoup de pathologies des Poissons sont liées à de telles pollutions.

Ce travail avait pour objectif l'étude des pathologies des branchies des Poissons vivant dans cet environnement, élevage et en milieu naturel, en vue de connaître leur état de santé et donc de participer à l'établissement des mesures de préservation en ce qui concerne la santé des Poissons.

L'étude a porté sur cinq espèces de Poissons qui ont été pêchés dans les étangs piscicoles en Côte d'Ivoire et dans l'un des bras de mer du Saloum en Octobre 2008. Ces espèces sont *Oreochromis niloticus*, *Sarotherodon melanotheron*, *Chrysichthys nigrodigitatus*, Genre *Tilapia* . et *Mugil cephalus*.

L'étude histopathologique des branchies a été réalisée et les résultats ont montré que les branchies de deux des espèces, à savoir *Mugil cephalus* et *Oreochromis niloticus*, présentaient des lésions correspondantes à la maladie d'épithéliocytose.

Par contre, l'étude ne peut statuer sur des lésions branchiales liées aux facteurs environnementaux.

Les études ultérieures non seulement sur les pathologies des branchies mais aussi celles d'autres associées à une étude physico-chimique de l'eau devraient permettre d'affiner les présentes observations afin de tirer des conclusions adéquates sur l'état de santé des Poissons des étangs piscicoles en Côte d'Ivoire et dans le Sine-Saloum.

Mots clés : Poisson, Branchie, Kyste, Lésions, Epithéliocytose.

Adresse de l'auteur : 01 BP 10584 Abidjan 01 – Côte d'Ivoire

Tel : (00225) 22 48 78 14

E-mail : bernardagre@yahoo.fr, bernardagre@gmail.com