

Aquaculture et ichtyoparasitologie: action in vitro du Nitroxinil© (Antihelminthique) sur Diplectanum aequans , ectoparasite branchial du bar Dicentrarchus labrax

Patrick Silan, Emile Birgi, Christophe Louis, Frédéric Clota, André Mathieu, Louis Giral

▶ **To cite this version:**

Patrick Silan, Emile Birgi, Christophe Louis, Frédéric Clota, André Mathieu, et al.. Aquaculture et ichtyoparasitologie: action in vitro du Nitroxinil© (Antihelminthique) sur Diplectanum aequans , ectoparasite branchial du bar Dicentrarchus labrax. Recueil de Médecine Vétérinaire, 1996, 172 (7/8), pp.401-407. hal-01230144

HAL Id: hal-01230144
https://hal.science/hal-01230144

Submitted on 26 Nov 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

RECHERCHE

Aquaculture et Ichtyoparasitologie : Action *in vitro* du nitroxinil (anthelminthique) sur *Diplectanum aequans*, Monogène ectoparasite branchial du Bar *Dicentrarchus labrax* (1)

par P. Silan, E. Birgi*, C. Louis*, F. Clota*, A. Mathieu** et L. Giral***

RÉSUMÉ. — Le Bar ou Loup *Dicentrarchus labrax* est un poisson téléostéen faisant l'objet d'un élevage intensif. Il est notamment l'hôte d'ectoparasites branchiaux de la classe des Monogènes, et à cycle biologique direct. Quand le confinement et les densités de l'hôte augmentent, les populations de ces Plathelminthes peuvent s'accroître et induire alors des mortalités importantes. C'est en particulier le cas de *Diplectanum aequans*, un Monopisthocotylea contre lequel aucun traitement efficace n'est connu. Les effets d'un anthelminthique, le nitroxinil (ou nitroxynil), ont été testés *in vitro* sur ce Monogène. Les parasites ont été soumis à 4 heures de traitement et à des concentrations variant de 50 à 2 000 $mg.l^{-1}$. Les *Diplectanum* réagissent à cette molécule par trois principaux types de comportements : perte de la mobilité spontanée, perte de l'excitabilité et/ou décrochage. Cette variabilité comportementale et l'efficacité de la molécule ont été analysées en fonction des différentes concentrations et du temps.

Mots clés : Aquaculture. Ichtyoparasitologie. Anthelminthique. Nitroxinil. Téléostéen. Monogenea. *Diplectanum aequans*. *Dicentrarchus labrax*.

Rec. Méd. Vét., *1996, 172 (7/8), 401-407.*

INTRODUCTION

Le Bar ou Loup *Dicentrarchus labrax* (Téléostéen, Moronidae) fait l'objet d'un élevage intensif en Europe et dans certaines régions tropicales (Caraïbes). Il est sujet à plusieurs parasitoses, dont celles occasionnées par ses ectoparasites branchiaux de la classe des Monogènes (Plathelminthes) (1). Ce poisson est parasité par trois espèces de Monogènes qui lui sont spécifiques (sténoxénie) : *Serranicotyle labracis* (Van Beneden et Hesse, 1863), *Diplectanum aequans* (Wagener 1857) Diesing 1858, et *Diplectanum laubieri* Lambert et Maillard 1974. *Serranicotyle labracis* est un Polyopisthocotylea (5) ; les deux *Diplectanum* sont des Monopisthocotylea (21). Différents aspects de la biologie de ces populations ont été étudiés (18, 20, 21, 22, 23). En élevage industriel ou expérimental, *Diplectanum aequans* est à l'origine des épizooties les plus sévères, dont les mécanismes ont été analysés (4, 20, 23). Malgré la connaissance que l'on a sur cet organisme, sa présence dans les élevages est difficile à éviter, les mesures prophylactiques connues étant rarement appliquées (20). Les mesures curatives sont quant à elles quasi inexistantes ; aucun traitement réellement efficace n'étant défini actuellement.

Diverses tentatives visant à étudier l'action antiparasitaire de certaines molécules sur de tels Plathelminthes ont été entreprises au cours de ces dernières décennies. Dans la majorité des cas, les traitements utilisés mettent en oeuvre la balnéation (11, 12). Les molécules concernées appartiennent à différentes familles chimiques déjà utilisées contre d'autres parasitoses. Ces médicaments sont :

— des substances chimiques d'activité peu spécifique comme l'ammoniaque et surtout le formaldéhyde, ainsi que des colorants (vert de malachite) qui ont largement été utilisés (11) ;

— des organophosphorés : le dichlorvos (Nuvan®), et surtout le trichlorfon (Masoten®, Neguvon®) (2, 3, 12) ou metrifonate (Bilarcil®) (14, 16), dont l'activité sur des Monogènes a fait l'objet de publications depuis plus de 29 ans (7). Ils présentent une toxicité non négligeable vis à vis de l'hôte et du personnel de l'aquaculture (12, 9) ;

— divers antiparasitaires qui ont fait preuve d'une certaine activité sur : a) des Monogènes : le levamisole (Solaskil®) (14, 15) et le toltrazuril (15) ; b) des Monogènes et des Cestodes : le mebendazole (Vermox®) (6, 17, 25) et d'autres benzimidazoles, le praziquantel (Droncit®) (10, 13), aussi actif contre certains Digènes (17), et le niclosamide (Yomesan®, Tredemine®) (8, 14, 16) ; c) des Cestodes (6, 17) : l'oxfendazole (Systamex®) (8, 27) et des dérivés de l'étain (oxyde de dibutylétain...) (6).

* *UMR CNRS 5555 « Biologie des Populations d'Helminthes Parasites », Station Méditerranéenne de l'Environnement Littoral, Université Montpellier II, 1 Quai de la Daurade, 34200 Sète, France. Courrier électronique : silan@*univ-montp2.fr.
** Laboratoire de Chimie Organique et Structurale, Université Montpellier II, Place Eugène Bataillon, 34095 Montpellier cedex 5, France.
(1) Manuscrit reçu le 9 décembre 1995, accepté le 25 janvier 1996.

En eau de mer, le problème n'a que rarement été abordé, alors que les enjeux sont considérables. Des résultats positifs auraient des implications autant fondamentales (étude des mécanismes démographiques en situation expérimentale...) qu'appliquées (aquaculture marine). Rappelons que sous toutes les latitudes, toutes les espèces de Poisson ont des Plathelminthes nombreux et variés, dont de nombreux Monogènes pour la plupart spécifiques. Dans ce milieu particulier et complexe qu'est l'eau de mer, la plupart des antiparasitaires posent de nombreux problèmes tels que leur absence de solubilité, leur instabilité, la formation de précipités liée à la présence de divers sels, etc. L'absence de résultats probants en environnement marin tient autant à ces complications sur le plan chimique, qu'à l'absence de recherches structurées et interdisciplinaires sur ce thème.

En conséquence, la diplectanose du bar est actuellement traitée par balnéation au formaldéhyde, à des concentrations pouvant atteindre 600 à 800 ppm, avec une efficacité très relative et sans aucune connaissance des effets secondaires possibles. Face à ce constat, les premiers résultats concernant l'action *in vitro* du nitroxinil (Dovenix®) sur *Diplectanum aequans* sont exposés dans le présent article. Cette molécule est utilisée par voie parentérale dans le traitement des fascioloses bovines et ovines. Ses propriétés, à l'origine de son choix, ont fait l'objet de plus de 200 publications (26). Aucune de ces dernières ne concerne son action sur des parasites de vertébrés aquatiques.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le **poisson hôte** est le Bar ou Loup *Dicentrarchus labrax*. Ce poisson marin est élevé au laboratoire dans des bacs de 400 litres dont l'eau est filtrée, aérée, et maintenue à une salinité de 20 p. mille. L'éclairage de l'élevage est assuré artificiellement (lumière du jour) avec une photopériode 12/12.

Le **parasite** est *Diplectanum aequans*, dont le cycle holoxène (direct) est maîtrisé au laboratoire (18, 20, 21). Les tests portent sur des individus adultes ou subadultes.

La **molécule** utilisée est le nitroxinil (hydroxy-4 iodo-3 nitro-5 benzonitrile). Le soluté aqueux injectable commercial de N-éthylglucaminate de nitroxinil, dosé à 25,73 g de nitroxinil-base pour 100 ml (Dovenix®, Laboratoire Rhône-Mérieux), a été utilisé. Les concentrations testées sont les suivantes : 50, 100, 200, 300, 400, 500, 700, 900, 1 100, 1 500 et 2 000 $mg.l^{-1}$. Les solutions ont été obtenues par dilution du soluté commercial dans de l'eau de mer (salinité 20 p. mille) filtrée sur membrane Millipore® (0,22 μm).

Procédure des tests : L'ensemble des expériences se déroule dans une animalerie thermorégulée à 18 °C. 48 h avant chaque test, chaque poisson hôte utilisé est placé dans un bac de 50 litres à la température de l'expérimentation. En début d'expérience, le Bar est sacrifié ; ses branchies sont prélevées et placées dans une coupelle d'eau de mer. Les hémibranchies sont observées à la loupe binoculaire et éclairées par une lumière froide (fibres optiques). Chaque Monogène est prélevé avec un fragment du filament branchial sur lequel il est fixé, puis déposé individuellement dans une cupule contenant 2 ml de solution à tester (Temps To). Le comportement de chaque *Diplectanum* est noté toutes les 10 mn pendant les deux premières heures de traitement, puis toutes les 30 mn les deux heures suivantes. A l'issue des 4 h de test (To + 240 mn), et toujours à raison d'un individu par cupule de 2 ml, les *Diplectanum* sont replacés dans de l'eau de mer afin de tester leur éventuelle capacité de récupération. Leur comportement est alors noté (To + 240 mn), puis après 1 heure (To + 300 mn) et enfin 24 heures (To + 1 680 mn). Chaque concentration est testée sur 30 *Diplectanum*. Lors de chaque expérience, un lot témoin de 5 *Diplectanum* placés isolément dans des cupules d'eau de mer pure est observé.

RÉSULTATS

Lors des traitements *in vitro*, les parasites adoptent différents comportements associés aux catégories types suivantes : a) **mobile :** le *Diplectanum* présente des mouvements spontanés ; cet état est le même que celui observé sans traitement ; b) **excitable :** il n'a plus de mouvement spontané, mais réagit à un stimulus (contact avec une aiguille montée) ; cet état permet de caractériser les individus apparemment immobilisés mais vivants ; c) **immobile :** il n'a plus aucun mouvement, ni spontané ni stimulé ; ces individus ne récupèrent quasiment jamais et durablement leur mobilité. Les Monogènes appartiennent de manière exclusive à l'une des trois catégories précédentes. Les individus mobiles, excitables et immobiles représentent donc 100 p.cent des individus soumis à une concentration donnée (figures 1 à 6) ; d) **décroché :** le *Diplectanum* est détaché de son support branchial. Cet état est indépendant des trois premiers ; le parasite peut en effet être mobile, excitable ou immobile, tout en étant décroché (figures 7 et 8).

A 18 °C, des *Diplectanum* non traités peuvent vivre plusieurs jours dans une cupule d'eau de mer (18, 21) ; leur comportement n'est jamais modifié après 4 heures de situation *in vitro*, aussi n'y a-t-il aucun intérêt à matérialiser le changement de comportement des témoins, par des variations de pourcentage, dans les figures qui suivent.

Suivi des individus mobiles

Les figures 1 et 2 représentent, pour chaque concentration testée et en fonction du temps, la variation du pourcentage d'individus (par rapport au nombre total d'individus considéré dans chaque

expérience) restant mobiles. La figure 1 concerne les concentrations comprises entre 50 et 500 mg.l^{-1}, la figure 2 celles entre 700 et 2 000 mg.l^{-1}.

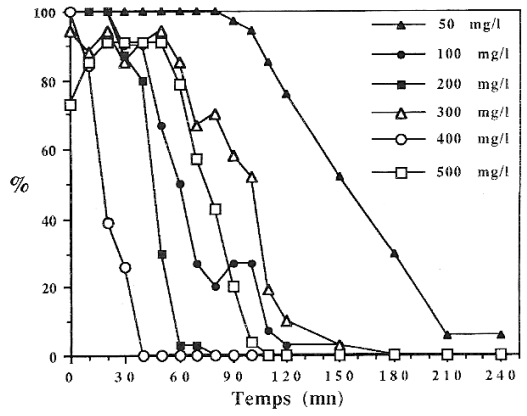


FIG. 1 — *Variations du pourcentage d'individus mobiles en fonction du temps (en minutes). Concentrations comprises entre 50 et 500 mg.l^{-1}.*

a) **50 mg.l^{-1}** : tous les individus gardent leur mobilité pendant les 80 premières minutes. Le pourcentage chute ensuite quasi-linéairement pour atteindre 6 p.cent à To + 210 mn, puis se stabilise jusqu'à la fin du test.

b) **100 et 200 mg.l^{-1}** : la perte de mobilité spontanée est nettement plus rapide. A 200 mg.l^{-1}, plus aucun individu n'est mobile au bout d'1 h 20 (80 mn).

c) **300 mg.l^{-1}** : le rallongement des temps de réaction semble indiquer que cette concentration est moins efficace, sur ce critère, que les deux précédentes.

d) **400 mg.l^{-1}** : cette concentration est particulièrement efficace, puisque le pourcentage d'individus naturellement mobiles diminue rapidement à partir de 10 mn (84 p.cent), et s'annule à partir de 40 mn.

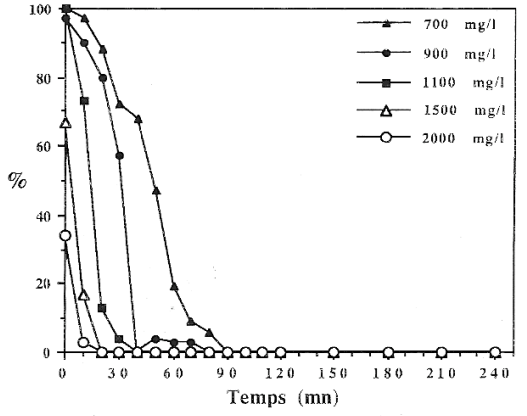


FIG. 2 — *Variations du pourcentage d'individus mobiles en fonction du temps (en minutes). Concentrations comprises entre 700 et 2 000 mg.l^{-1}.*

e) **500 mg.l^{-1}** : on peut noter à nouveau un rallongement global du temps nécessaire à la perte de mobilité, les résultats étant voisins de ceux obtenus à 100 mg.l^{-1}.

f) **700 mg.l^{-1}** : les résultats ne sont pas très différents de ceux obtenus à 200 mg.l^{-1}.

g) **900 mg.l^{-1}, 1 100 mg.l^{-1}, 1 500 mg.l^{-1} et 2 000 mg.l^{-1}** : la perte de mobilité est de plus en plus rapidement atteinte, au fur et à mesure de l'élévation des concentrations. Aucune permutation de courbe n'est désormais notée.

Suivi des individus excitables

Les figures 3 et 4 représentent, pour chaque concentration testée et en fonction du temps, la variation du pourcentage d'individus immobilisés mais restant excitables. La figure 3 concerne les concentrations comprises entre 50 et 500 mg.l^{-1}, la figure 4 celles entre 700 et 2 00 mg.l^{-1}.

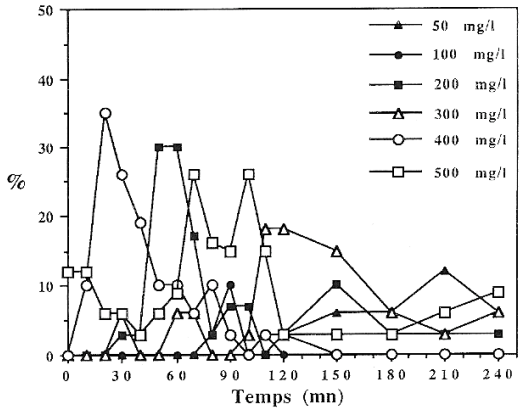


FIG. 3 — *Variations du pourcentage d'individus excitables sous stimulation en fonction du temps (en minutes). Concentrations comprises entre 50 et 500 mg.l^{-1}*

a) **50 mg.l^{-1}** : aucun individu n'est immobile et donc excitable avant le temps To + 115 mn. Peu d'individus perdant leur mobilité spontanée (figure 1), il est donc normal que ces pourcentages restent faibles.

b) **100 mg.l^{-1}** : à une concentration ou la quasi-totalité des individus perdent leur mobilité au cours des deux premières heures (figure 1), on notera qu'ils sont difficilement excitables après ce temps.

c) **200 mg.l^{-1}** : un petit pic d'excitabilité (30 p.cent) est visible au moment où la plupart des individus ont perdu leur mobilité (figure 1). Au-delà, ces individus sont peu excitables, témoignant sous une autre forme de l'efficacité de cette concentration.

d) **300 mg.l^{-1}** : au rallongement des temps noté dans la figure 1 s'ajoute un plus fort taux d'individus excitables. Les deux associés semblent indiquer une efficacité moindre que pour les deux concentrations précédentes.

e) **400 mg.l^{-1}** : non seulement les Monogènes perdent rapidement leur mobilité à cette concentration (figure 1), mais de plus aucun n'est excitable après 2 h 30 (150 mn).

f) **500 mg.l^{-1}** : le retour à des temps de réaction plus lents (figure 1) s'accompagne d'un nombre non nul (valeurs inférieures à 10 p.cent) d'individus excitables, et ce jusqu'au terme du test.

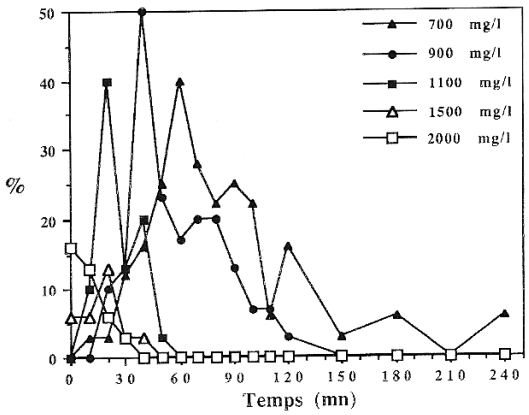


FIG. 4 — *Variations du pourcentage excitables sous stimulation en fonction du temps (en minutes). Concentrations comprises entre 700 et 2 000 mg.l^{-1}*

g) **700 mg.l^{-1}, 900 mg.l^{-1}, 1 100 mg.l^{-1}, 1 500 mg.l^{-1} et 2 000 mg.l^{-1}** : bien que perdant assez rapidement leur mobilité à ces concentrations (figure 2), quelques Monogènes gardent la capacité, parfois durable, à rester excitables. Cette excitabilité diminue néanmoins d'autant plus vite que les concentrations s'élèvent.

Suivi des individus immobiles

Les figures 5 et 6 représentent, pour chaque concentration testée et en fonction du temps, la variation du pourcentage d'individus restant immobiles. La figure 5 concerne les concentrations comprises entre 50 et 500 mg.l^{-1}, la figure 6 celles entre 700 et 2 000 mg.l^{-1}.

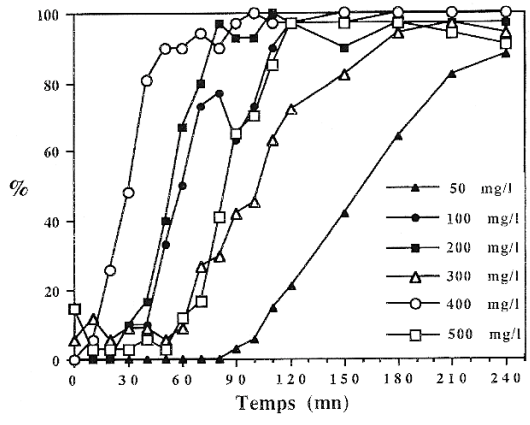


FIG. 5 — *Variations du pourcentage ~~excitables sous stimulation~~ d'individus immobiles en fonction du temps (en minutes). Concentrations comprises entre 50 et 500 mg.l^{-1}.*

a) **50 mg.l^{-1}** : cette courbe montre que cette concentration ne fait pas rapidement perdre toute mobilité, mais que cette perte de mobilité est progressivement définitive.

b) **100 mg.l^{-1}** : on savait cette concentration assez rapidement efficace (figure 1). On peut noter désormais que dans les 90 premières minutes, l'immobilisation est comparable à celle obtenue avec 200 mg.l^{-1}. Néanmoins, certains individus récupèrent temporairement leur mobilité durant la deuxième heure.

c) **200 mg.l^{-1}** : les résultats sont voisins de ceux obtenues avec la précédente concentration, à la différence que la proportion d'individus immobilisés atteint 97 p.cent après 80 mn.

d) **300 mg.l^{-1}** : les tendances des figures 1 et 3 sont confirmées.

e) **400 mg.l^{-1}** : le pourcentage de Monogènes immobilisés augmente très rapidement puisqu'il atteint 90 p.cent en moins de 50 mn. Les valeurs se stabilisent et dépassent 97 p.cent après 1 h 30 (To +90 mn) ; cette concentration est rapidement paralysante.

f) **500 mg.l^{-1}** : les observations des figures 1 et 3, témoignant d'une moindre activité de cette concentration, sont confirmées. Une information supplémentaire réside dans le léger fléchissement du taux en fin du test, montrant une récupération de certains individus malgré l'importance de cette concentration et la durée du traitement.

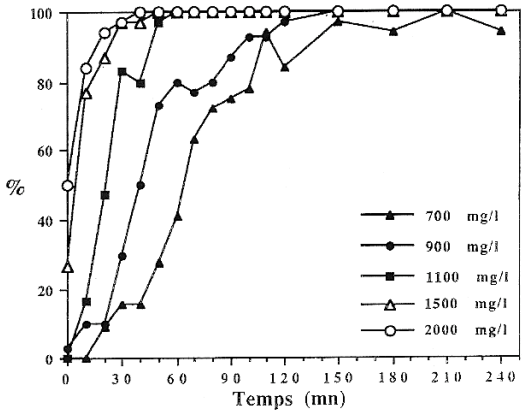


FIG. 6 — *Variation du pourcentage d'individus ~~se décrochant~~ immobiles en fonction du temps (en minutes). Concentrations comprises entre 700 et 2 000 mg.l^{-1}.*

g) **700 mg.l^{-1}, 900 mg.l^{-1}, 1 100 mg.l^{-1}, 1 500 mg.l^{-1}, 2 000 mg.l^{-1}** : les résultats sont conformes avec ceux des figures 2 et 4. On notera une nouvelle fois les changements progressifs de courbure au fur et à mesure que les concentrations augmentent. Les réponses comportementales sont plus en phase avec les concentrations, et surtout beaucoup plus typées.

Suivi des individus se décrochant

Les figures 7 et 8 représentent, pour chaque concentration testée et en fonction du temps, la variation du pourcentage d'individus se décrochant de leur support branchial. La figure 7 concerne les concentrations comprises entre 50 et 500 mg.l^{-1}, la figure 8 celles entre 700 et 2000 mg.l^{-1}.

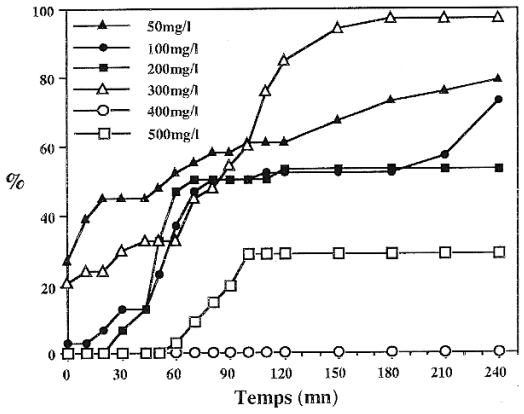


FIG. 7 — *Variation du pourcentage d'individus se décrochant en fonction du temps (en minutes). Concentrations comprises entre 50 et 500 mg.l^{-1}.*

a) **50 mg.l^{-1}** : 27 p.cent des Monogènes se décrochent dès le début du test. Durant les 90 premières minutes, nous pouvons observer là un des plus fort taux de décrochage. Ce pourcentage croît assez lentement mais régulièrement pour atteindre 79 p.cent en fin d'expérience.

b) **100 mg.l^{-1}** : seuls 3 p.cent des individus se décrochent dès le début du test. Le nombre de décrochés augmente lentement entre 10 et 40 mn. Le pourcentage croît plus rapidement ensuite pour atteindre 47 p.cent en 70 mn ; il se stabilise ensuite autour de 50 p.cent pendant près de deux heures, puis augmente à nouveau pour atteindre 73 p.cent au bout de 4 heures.

c) **200mg.l^{-1}** : les résultats sont, une nouvelle fois, assez voisins de ceux obtenus avec 100mg.l^{-1}.

d) **300mg.l^{-1}** : 21 p.cent des individus se décrochent dès le début de l'expérimentation. Ce pourcentage croît assez fortement après la première heure pour dépasser 80 p.cent vers 120 mn. Alors que cette concentration paraît une des moins efficaces sur la base des trois premiers critères (figures 1, 3 et 6), nous voyons désormais qu'elle est, sur toute la durée de ce test, une des plus efficaces de ce point de vue.

e) **400mg.l^{-1}** : aucun parasite ne s'est décroché durant l'expérience, témoignant une nouvelle fois de la particularité de ce test.

f) **500mg.l^{-1}** : aucun parasite ne se décroche pendant les 50 premières minutes. Le pourcentage de décrochés se stabilise après 1 h 40 à 29 p.cent.

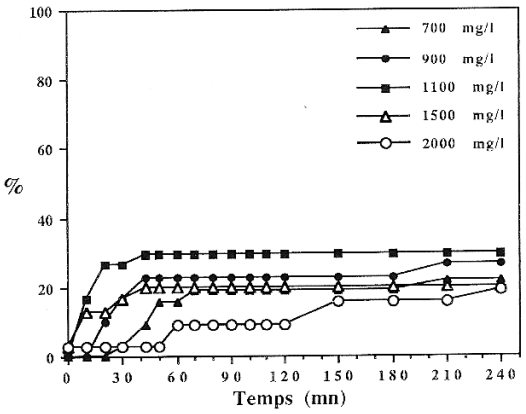


FIG. 8 — *Variation du pourcentage d'individus se décrochant en fonction du temps (en minutes). Concentrations comprises entre 700 et 2 000 mg.l^{-1}.*

g) **700 mg.l^{-1}, 900 mg.l^{-1}, 1 100 mg.l^{-1}, 1 500mg.l^{-1}, 2 000 mg.l^{-1}** : moins de 30 p.cent des parasites se détachent généralement dans la première heure, avec de légères variations selon les cas. Toutes les courbes atteignent rapidement un plateau. Le pourcentage de décrochés ne diminue plus nécessairement en relation directe avec la concentration.

DISCUSSION

Mobilité

Dans la majorité des cas, l'action du nitroxinil sur la mobilité est d'autant plus rapide et précoce que les concentrations sont élevées. Deux d'entre elles s'écartent néanmoins de la tendance générale : 300 et 500 mg.l^{-1}. La première (300) est globalement plus efficace que 50 mg.l^{-1} mais moins que 100 mg.l^{-1}. La courbe de la seconde (500) s'intercale entre celles de 100 et 300, avec de surcroît une différence notable en début d'expérience : tout se passe comme si les Monogènes étaient initialement choqués, mais ils récupèrent une meilleure mobilité qu'à 100, 200 et 400 mg.l^{-1}. Cette variabilité inter-échantillons vient s'ajouter à la variabilité inter-individuelle. Toutes deux témoignent de l'existence de variables dites cachées, que des protocoles plus sophistiqués devraient permettre d'identifier. La nature des populations parasitaires est certainement partiellement en cause. Sur ce critère, 400 mg.l^{-1} est une concentration très rapidement efficace ; les temps de réponse du parasite sont compatibles avec le temps de traitement habituel de poissons en gros volume.

Excitabilité

Ce comportement permet d'estimer la fraction d'individus n'ayant plus de mobilité apparente, mais néanmoins vivants. Le parasite est visiblement affecté par la molécule, mais récupère parfois assez bien quand il est replacé assez tôt dans l'eau de mer.

Pour les concentrations inférieures à 500 mg.l^{-1}, et des durées de moins de deux heures, le pourcentage de ces individus n'est parfois pas négligeable. Cet état apparaît surtout comme une transition entre la mobilité normale et l'immobilité totale ; peu d'individus de cette dernière catégorie redevenant excitables.

Immobilité

Si l'immobilité ne signifie pas la mort pour le parasite, cet état témoigne néanmoins correctement du degré d'atteinte du parasite. Il est d'autant plus significatif qu'il est atteint rapidement. Un individu immobile peut parfois récupérer temporairement une partie de sa motricité ; ce cas assez rare a été observé à 200 et 400 mg.l^{-1}. Cela laisse à penser qu'un parasite immobilisé rapidement, mais soumis à un traitement de trop courte durée, pourrait ne pas être éliminé.

Décrochage

Au terme des deux premières heures de traitement, le pourcentage d'individus se décrochant avoisine les 50 p.cent pour les concentrations inférieures à 400 mg.l^{-1}. Les résultats sont particulièrement probants à 50 et 300 mg.l^{-1} durant la première heure ; on remarquera que c'est précisément à ces concentrations que les individus restent mobiles ou excitables le plus longtemps. Inversement, le fait que les décrochages s'arrêtent assez rapidement aux concentrations supérieures à 500 mg.l^{-1} est lié à la perte de mobilité concomitante des parasites. Ces derniers tendent à être paralysés sans même pouvoir se détacher de la branchie, et pas plus de 20 à 30 p.cent sont détachés en fin d'expérience.

L'ensemble des résultats à 400 mg.l^{-1} sont atypiques : perte très rapide de la mobilité et de l'excitabilité, individus incapables de se décrocher durant tout le test. La répétition de cette expérience en marge de ce travail a conduit à des résultats similaires. Aucune explication ne peut dans l'immédiat être avancée.

Le nitroxinil est connu pour son influence sur le système reproducteur des Plathelminthes, notamment dans le cas de la fasciolose (26). Cette action a également été observée au cours de ces expériences. Tous les *Diplectanum* traités s'arrêtent de pondre à toutes les concentrations testées, ce qui n'est jamais le cas des témoins.

CONCLUSIONS

Le Nitroxinil a un effet antiparasitaire *in vitro*. Cette action se manifeste dès les plus basses concentrations testées. Les plus fortes concentrations utilisées sont certainement peu compatibles avec la survie de l'hôte. L'approche radicale visant la mort rapide du parasite n'est vraisemblablement pas la meilleure. Sur le plan prophylactique ou curatif, les résultats obtenus ouvrent les perspectives suivantes :

— Détaché, un Monogène ne peut pas se fixer à nouveau sur son hôte. Le décrochage des parasites de la branchie est une mesure d'éradication efficace et définitive. Des traitements répétés à faible concentration pourraient accentuer ces décrochages, mais ils pourraient aussi entraîner une résistance.

— Les tests ont portés sur des individus adultes ou subadultes, or les jeunes *Diplectanum* pourraient réagir plus rapidement. La structure démographique des populations doit donc être prise en compte dans les conditions *in vivo*. Les travaux de modélisation en cours (4, 24) devraient constituer un outil d'aide à la décision précieux dans ce domaine.

— Les résultats surprenants obtenus avec certaines concentrations, comme 400 mg.l^{-1}, illustrent à quel point les variations peuvent être grandes. Nous apportons la démonstration de variations factorielle (concentrations) et résiduelle (individus) importantes. Ce point, insuffisamment pris en compte dans la littérature, devra être considéré dans les futurs protocoles.

— Le nitroxinil a une action sur le comportement de ponte des *Diplectanum*. Il conviendra de préciser si l'arrêt de la ponte est irréversible ou non.

— L'utilisation *per os* de cette molécule est également envisageable. Les branchies sont un organe d'excrétion important chez le poisson et ces parasites se nourrissent sur cet organe (mucus, cellules épithéliales...).

— Ces tests *in vitro* doivent naturellement être développés, mais ils doivent également être accompagnés de tests d'efficacité *in vivo*. Il n'est pas rare d'observer chez ces organismes des différences sensibles de comportement dans ces deux types de situation. La toxicité du produit sur le poisson hôte et sa rémanence dans ses tissus restent également à étudier.

— La meilleure des stratégies pour l'éradication de ce type d'Helminthes consistera vraisemblablement à combiner l'action d'une telle molécule sur sa motricité (paralysie), sur sa reproduction, et sur la capacité qu'a cet ectoparasite à se maintenir accroché dans son biotope branchial (19).

Au-delà des résultats présentés ici, ce travail met l'accent sur le danger qu'il y a à tirer des conclusions un peu hâtives dans ce domaine, sur la base de protocoles ne prenant pas en compte les particularités biologiques de ces populations parasitaires. Une partie de la littérature sur ce sujet n'est pas convaincante, et l'absence de traitements efficaces contre ces parasites de poissons en est peut-être le résultat. Seule une recherche réellement interdisciplinaire, associée au développement d'une politique scientifique sur ce sujet dans l'industrie pharmaceutique, permettront de sortir d'une impasse nécessairement transitoire.

Remerciements

Ce travail a été réalisé notamment grâce au concours financier de la communauté européenne, dans le cadre du programme international FAR « Study of parasitic and infectious (bacterial and viral) diseases in sea bream *(Sparus aurata)* and mediterranean sea bass *(Dicentrarchus labrax)* reared in the mediterranean environment : survey, epidemiology and control » (FAR n° 32-1-278 E.F.I.). Nous tenons à remercier le département santé animale du groupe Rhône-Mérieux (Toulouse et Lyon) pour la mise à disposition du Nitroxinil et pour sa collaboration.

Bibliographie

1. BAER (J.), EUZET (L.) — Classe des Monogènes. *In* GRASSET (P.P.). Traité de zoologie, **4** (1), 243-325, Masson Editeur, Paris, 1961.
2. BUCHMANN (K.) — Épidémiologie et contrôle des infections à *Pseudodactylogyrus* dans les élevages intensifs d'anguilles : données actuelles. *Bull. Fr. Pêche Piscic.*, 1993, **328**, 66-73.
3. BUCHMANN (K.), MELLERGAARD (S.) — Histochemical Demonstration of the Effect of Nuvan® and Neguvon® on Cholinesterase Activity *in Pseudodactylogyrus anguillae* (Monogenea). *Acta vet. scand.*, 1988, **29** (1), 51-55.
4. LANGLAIS (M.), SILAN (P.) — Theoretical and mathematical approach of some regulation mechanisms in a marine Host-Parasite system. *J. Biol. Syst.* , 1995, **3** (2), 559-568.
5. MAILLARD (C.), EUZET (L.), SILAN (P.) — Création du genre *Serranicotyle* (Monogena, Microcotylidae) : *Serranicotyle labracis* (Van Beneden et Hesse, 1863) n. comb., ectoparasite de *Dicentrarchus labrax* (Teleostei). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1988, **63** (1), 33-36.
6. MITCHELL (A.J.), HOFFMAN (L.) — Important tapeworms of north american freshwater fishes. Fish disease leaflet number 59, 18p. United States Department of the Interior, Fish and Wildlife Service Division of Fishery Ecology Research (Editor), Washington D.C., 1980.
7. PROST (M.), STUDNICKA (M.) — Investigations sur l'emploi d'esters organiques de l'acide phosphorique dans la lutte contre les parasites extérieurs des poissons d'élevage. II. La lutte contre l'invasion par les parasites du genre *Dactylogyrus* et *Gyrodactylus* (en polonais) *Patz. Medycyna Wet.*, 1966, **22** (11), 644-650.
8. SANMARTIN DURÁN (M.L.), CAAMANO-GARCIA (F.), FERNANDEZ CASAL (J.), LEIRO (J.), UBEIRA (F.M.) — Anthelminthic activity of praziquantel, Niclosamide, Netobimin and mebendazole against *Botriocephalus scorpii* naturally infecting turbot *(Scophtalmus maximus)*. *Aquaculture*, 1989, **76**, 199-201.
9. SCHLOTFELDT (H.J.) — Current practices of chemotherapy in fish culture. *In* MICHEL (C.) and ALDERMAN (D.J.). Chemotherapy in aquaculture : from theory to reality, 25-37, Office international des Epizooties (Editeur), 1992.
10. SCHLOTFELDT (H.J.) ALVARO (V.), PFORTMULLER (K.) KOOPS (V.), SCHMAHL (G.) — Praziquantel as an effective alternative treatment against gillworms *(Dactylogyrus)* in Warm Water aquaculture (of cat fish). *Tierärz Omscharo*, 1988, **43** (12), 782-785.
11. SCHMAHL (G.) — The chemotherapy of monogeneans which parasitise fish : a review. *Folia Parasitologica*, 1991, **38**, 97-106.
12. SCHMAHL (G.) — Récapitulation des techniques de lutte chimiothérapiques contre les Monogènes. *Bull. Fr. Pêche Piscic.*, 1993, **328**, 74-81.
13. SCHMALL (G.), MEHLHORN (H.) — Treatment of fish parasites. 1. Praziquantel effective against Monogenea *(Dactylogyrus vastator, Dactylogyrus extensus, Diplozoon paradoxum)*. *Z. Parasitenkd*, 1985, **71**, 727-737.
14. SCHMALL (G.), MEHLHORN (H.) — Treatment of fish parasites. 3. Effects of Praziquantel, Niclosamide, Levamisole-HCl, and Metrifonate on Monogenea *(Gyrodactylus aculeati, Diplozoon paradoxum)*. *Parasitol. Res.*, 1988, **7**, 341-351.
15. SCHMALL (G.), MEHLHORN (H.) — Treatment of fish parasites. 4. Effects of sym. triazinone (toltrazuril) on monogenea. *Parasitol. Res.*, 1988, **75**, 132-143.
16. SCHMAHL (G.), TARASCHEWSKI (H.) — Treatment of fish parasites. 2. Effects of Praziquantel, Niclosamide, Levamisole-HCL, and Metrifonate on Monogenea *(Gyrodactylus aculeati, Diplozoon paradoxum)*. *Parasitol. Res.*, 1987, **73**, (4) 341-351.
17. SCHMALL (G.), TARASCHEWSKI (H.), MEHLHORN (H.) — Chemotherapy of fish parasites. *Parasitol. Res.*, 1989, **75**, 503-511.
18. SILAN (P.) — Biologie comparée des populations de *Diplectanum aequans* et *Diplectanum laubieri*, Monogènes branchiaux de *Dicentrarchus labrax*. Thèse de Doctorat de 3e cycle, Université Montpellier II, 275 pp, 1984.
19. SILAN (P.), EUZET (L.), MAILLARD (C.), CABRAL (P.) — Le biotope des ectoparasites branchiaux de Poissons : Facteurs de variations dans le modèle Bar-Monogènes. *Bull. Ecol.*, 1987, **18** (4), 383-391.
20. SILAN (P.), MAILLARD (C.) — Modalités de l'infestation par *Diplectanum aequans*, Monogène ectoparasite de *Dicentrarchus labrax*, en aquiculture. Eléments d'épidémiologie et de prophylaxie. *In* VIVARES (C.P.), BONAMI (J.-R.) and JASPERS (E.) (Eds). *Pathology in marine aquaculture*. Special Publication n° 9. European Aquaculture Society (Editeur), Bredene, Belgium, 139-152, 1986.
21. SILAN (P.), MAILLARD (C.) — Biologie comparée du développement et discrimination des Diplectanidae ectoparasites du Bar (Teleostei). *Ann. Scien. Nat.*, Zoologie, Paris, 13e série, 1989, **10**, 31-45.
22. SILAN (P.), MAILLARD (C.) — Biology of *Serranicotyle labracis*, ectoparasite of *Dicentrarchus labrax* (Teleostei) : contribution to the study of its populations. *Marine Biology*, 1989, 103, 481-487.
23. SILAN (P.), MAILLARD (C.) — Comparative structures and dynamics of some populations of helminths, parasites of fishes : the sea bass-*Diplectanum* model. *Acta oecologica*, 1990, **11** (6), 857-874.
24. SILAN, P., LANGLAIS, M., BOULOUX C., 1992 — Dynamique des Populations et Modélisation : Application aux Systèmes Hôtes-Macroparasites et à l'Épidémiologie en Environnement Marin. *In* Actes des Journées du Programme Environnement, Vie et Sociétés : « Tendances nouvelles en modélisation pour l'environnement : Modélisation des systèmes complexes, nouveaux modèles, validation de modèles », C.N.R.S. Eds., sous presse.
25. SZEKELY (C.), MOLNAR (K.) — Mebendazole is an efficacious drug against *Pseudodactylogyrosis* in the European eel *(Anguilla anguilla)*. *J. Appl. Ichthyol.*, 1987, **3**, 183-186.
26. TOURATIER (P.) — Note sur la place du Nitroxynil dans la lutte intégrée contre la fasciolose bovine à *Fasciola gigantica* à Madagascar. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays. Trop.*, 1988, **41** (2), 181-189.
27. ZELAZMY (J.), PROST (M.) — Studies of the efficacy of systamex against *Bothriocephalus* infection in carp (en Polonais). *Patz. Medycynawet.*, 1981, **37** (6), 346-347.

Aquaculture and Ichthyoparasitology : *in vitro* action of nitroxinil (Anthelminthic) on *Diplectanum aequans,* gill ectoparasite of the sea bass *Dicentrarchus labrax*

by P. SILAN, E. BIRGI, C. LOUIS, F. CLOTA, A. MATHIEU and L. GIRAL

SUMMARY

The sea bass *Dicentrarchus labrax* is subject to intensive rearing. Several monogeneans, gill ectoparasites with a direct biological cycle, parasitized this *Teleostei*. Under certain conditions of host density, populations of these platyhelminths can increase and consequently induce important mortality. It's especially the case of *Diplectanum aequans*, a monopisthocotylea against which no treatment is known. *In vitro* effects of nitroxinil (or nitroxynil), an anthelmintic, were investigated. Parasites were exposed to different concentrations bounded by 50 and 2 000 mg.l^{-1}. Each *Diplectanum* has been submitted to a treatment during four hours, and successively displayed different behaviours. It can lose its spontaneous mobility, react or not to mechanical stimuli and/or get unhooked. These behavioural variations were analysed in function of time and concentrations.

Key words : Aquaculture. Ichthyoparasitology. Anthelminthic. Nitroxinil. *Teleostei. Monogenea. Diplectanumequans. Dicentrarchus labras.*

Acuacultura y ictioparásitología : *in vitro* efectos de nitroxinil (anti-helmintico) sobre *Diplectanum aequans,* un ectoparásito branquial de la lubina *Dicentrarchus labrax*

por P. SILAN, E. BIRGI, C. LOUIS, F. CLOTA, A. MATHIEU y L. GIRAL

RESUMEN

La lubina *Dicentrarchus labrax* es un pez teleósteo que se cultiva de forma intensiva. Presenta ectoparásitos branquiales de la clase Monogenea con ciclo de vida directo. En determinadas condiciones de confinamiento y de densidad de peces, las problaciones de estos platelmintos pueden causar mortalidades importantes en los peces. Este es el caso particular de *Diplectanum aequans* (Monopisthocotylea), contra el cual no existe ningún tratamiento eficaz. Los efectos de un anti-helmíntico, el nitroxinil (nitroxynil) han sido analizados *in vitro* sobre éste. Los parásitos fueron tratados durante 4 horas con concentraciones entre 50 y 2 000 mg.l^{-1}. Los *Diplectanum* reaccionan ante esta molécula con diferentes comportamientos, variables de un individuo a otro. Las respuestas son de tres tipos : pérdida de la movilidad espontánea, pérdida de la excitabilidad, y desprendimiento. La variabilidad de estas respuestas han sido analizadas en función del tiempo y de la concentracion.

Palabras claves : Acuacultura. Ictioparasitología. Antihelmíntico. Nitroxinil. *Teleostei. Monogenea. Diplectanum aequans. Dicentrarchus labras.*