

DK530348

BA-TH1317

Université Montpellier II
Sciences et Techniques du Languedoc
Place Eugène Bataillon
34095 MONTPELLIER Cedex 5

CIRAD-EMVT
TA 30 / B
Campus International de Baillarguet
34398 MONTPELLIER Cedex 5

**DIPLOME D'ETUDES SUPERIEURES SPECIALISEES
PRODUCTIONS ANIMALES EN REGIONS CHAUDES**

RAPPORT DE STAGE

Infestation parasitaire conduite par

Camallanus spp sur des poissons d'ornements
dans un élevage australien : Impact et essais
thérapeutiques comparatifs

par

Baptiste LEROY

Année universitaire 2004-2005

CIRAD-Dist
UNITÉ BIBLIOTHÈQUE
Baillarguet

Sous la tutelle de Monsieur Domenico CARUSO

entreprise familiale Ausyfish.pty.ltd

**BA
TH1317**

CIRAD



000073238

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier tout particulièrement Domenico Caruso, mon tuteur, pour toute sa patience et son aide précieuse.

Je remercie la famille Sambell pour son accueil en Australie.

Je remercie mon amie, ma famille et mes amis pour leur soutien tout au long de ce stage.

Liste des graphiques, tableaux et figures

Figure 1 : Importations et exportations globales de poissons d'ornement entre 1983 et 1992.....	p.7
Tableau 1 : Production et vente de <i>Melanotaenia sp.</i>	p.9
Figure 2 : Répartition spatiale des bassins.....	p.11
Figure 3 : Direction et personnel de la ferme.....	p.13
Figure 4 : Courbe de croissance.....	p.17
Figure 5 : Deux cycles du nématode du genre <i>Camallanus</i>	p.19
Figure 6 : Variabilité temporelle.....	p.24
Tableau 2 : Variabilité d'infestation.....	p.24
Figure 7 : Incidence spatiale de la parasitose.....	p.25
Figure 8 : Dose limite Ivermectine.....	p.33
Figure 9 : Dose létale trichlorfon.....	p.34
Figure 10 : Dose létale Isoquinoléine.....	p.35
Figure 11 : Dose létale Ivermectine.....	p.36
Figure 12 : Bassins contaminés.....	p.37

RESUME et Mots-clés

Comme beaucoup de fermes dans le Queensland en Australie, la ferme aquacole Ausyfish.Pty.Ltd élève des poissons pour la consommation, mais aussi des poissons d'ornement. Les poissons Rainbows, espèce endémique de l'Australie qui représentent 15% des ventes de la ferme. La production des poissons de consommation est annuelle alors que les poissons d'ornements peuvent être vendus toute l'année. Il est donc important de maintenir un bon niveau de production de ces poissons qui permettent une liaison lors de la période creuse c'est-à-dire en hiver. Cette exploitation familiale n'est pas à l'abri de parasites, qui touchent tout aussi bien les poissons de consommation que les poissons d'ornement. Le retard de croissance des individus parasités entraîne une perte financière ainsi qu'un retard pour la vente et donc une diminution des capacités générales de la ferme, surtout pour ce qui est de la rotation des étangs. La fidélité du client comprend aussi la qualité du produit qu'il attend, un poisson en bonne santé favorisera la publicité de la ferme. Pour minimiser la contamination ou la prolifération des parasites des poissons avant un envoi, les sacs dans lesquels seront envoyés les poissons contiendront une quantité suffisante de sel (pour une concentration de 20 ‰) ainsi qu'une trace de tétracycline.

Le parasite le plus visible et le plus nuisible pour ce qui est des poissons d'ornements est ici, comme dans beaucoup d'autres fermes, le ver nématode : « *Camallanus sp.* ». Pour éradiquer ce parasite de la ferme, on peut traiter à différents endroits du cycle : sur les hôtes intermédiaires : les copépodes ; ou sur les hôtes définitifs : les poissons. Le traitement des copépodes engendrerait dans cette ferme une dépense trop importante ainsi qu'un travail peut être trop fastidieux. Le poisson sera l'hôte traité. On peut traiter à différentes échelles, dans les étangs ou en aquariums. Différents tests sur le parasite ont été effectués : test de résistance à la salinité, et des tests avec des produits chimiques, comme l'isoquinoléine (Praziquantel®), le trichlorfon (Dipterex®) et l'ivermectine (Ivomec®). Seule l'ivermectine se trouve être efficace face à ce parasite, mais la concentration employée est à faire varier en fonction de l'espèce de poisson traité. Une étude toxicologique a été effectuée sur les guppys (*Poecilia reticulata*) mais aussi sur l'espèce *Melanotaenia boesemani*. Les guppys sont très sensibles à ce produit ainsi que certaines espèces de poissons arc-en-ciel. Les autres produits se sont révélés efficaces face à d'autres parasites rencontrés dans la ferme au cours des recherches du nématode.

Mots clés

Poisson d'ornement, *Melanotaenia spp.*, *Camallanus spp.*, Ivermectine, toxicologie, *Poecilia reticulata*.

PLAN

Remerciements.....	p.2
Liste des tableaux et figures.....	p.3
RESUME et Mots-clés.....	p.4
PLAN.....	p.5
INTRODUCTION.....	p.7
I. CONTEXTE GENERAL.....	p.10
1.1 Généralités.....	p.10
1.1.1 La répartition des bassins.....	p.12
1.1.2 Qualité de l'eau et du sol.....	p.14
1.2 La ferme piscicole.....	p.14
1.2.1 Cycle de production de l'espèce.....	p.15
1.2.2 Alimentation.....	p.17
1.3 Le parasite <i>Camallanus sp.</i>	p.18
1.4 Effet des <i>Camallanus</i>	p.20
1.4.1 Généralités.....	p.20
1.4.2 Impact économique.....	p.21
II OBSERVATIONS.....	p.21
2.1 Effet sur le poisson.....	p.21
2.2 Incidence spécifique de la parasitose.....	p.22
2.3 Incidence temporelle.....	p.23
2.4 Incidence spatiale.....	p.25
2.5 Discussion.....	p.25
III ESSAI THERAPEUTIQUES ET TOXICOLOGIQUES.....	p.26
A) Contaminations expérimentales.....	p.27
I. Méthodes.....	p.27

II. Résultats.....	p.28
III. Discussion.....	p.28
B) Essais pharmacologiques.....	p.28
I. Essais préliminaires.....	p.28
II. Essais thérapeutiques.....	p.29
2.1 Expérience avec le sel.....	p.29
2.1.1 In vitro.....	p.30
2.1.2 In vivo.....	p.30
2.2 Expérience avec l'ivermectine (Ivomec®).....	p.30
III. Essais toxicologiques.....	p.31
3.1 Expérience avec le trichlorfon (Dipterex®).....	p.31
3.2 Expériences avec l'isoquinoléine (Praziquantel®).....	p.31
IV. Résultats.....	p.32
4.1 Essais thérapeutiques.....	p.32
4.1.1 Résultat de l'expérience avec le sel.....	p.32
4.1.2 Résultat de l'expérience avec l'ivermectin.....	p.32
4.2 Essais toxicologiques.....	p.33
4.2.1 Résultat de l'expérience au trichlorfon.....	p.33
4.2.2 Résultat de l'expérience à l'isoquinoléine.....	p.34
4.2.3 Résultat de l'expérience à l'ivermectine.....	p.35
4.3 Statistiques.....	p.36
V. DISCUSSION.....	p.36
5.1 Hypothèses de contamination.....	p.36
5.2 Les traitements.....	p.37
5.3 Autres observations.....	p.39
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	p.40
BIBLIOGRAPHIE.....	p.41
ANNEXES.....	p.44

INTRODUCTION

L'aquaculture a montré une récente expansion à la fin du siècle dernier, et continue en ce début de millénaire. Lorsque l'on parle d'aquaculture, on considère les algues, crustacés, poissons d'élevage, en bref tous les produits de consommation et pour donner un ordre d'idée la production mondiale des seuls poissons d'eau douce atteint presque 34 millions de tonnes en 2003 (FAO fish stat). Cependant le secteur des poissons d'ornement est rarement cité, il connaît un essor formidable et certains pays du Sud-Est asiatique et bien d'autres encore produisent des poissons d'ornements tropicaux en grandes quantités. Des pays comme Singapour, Taïwan, mais aussi la Tchéquie en Europe fournissent la plupart des poissons d'ornements des pays occidentaux avec des productions à haute valeur. Bien que les données suivantes soient un peu anciennes, le secteur de la production du poisson d'ornement est en croissance continue et il représente un « business » de plusieurs millions de dollars. En 1992, les statistiques de la FAO montraient que sur la période de 1983-1992 les importations s'élevaient à US\$48 millions en 1983 et US\$247 millions en 1992, et pour les exportations on est passé de US\$37 millions en 1983 à US\$140 millions en 1992, comme le montre le graphique ci-dessous.

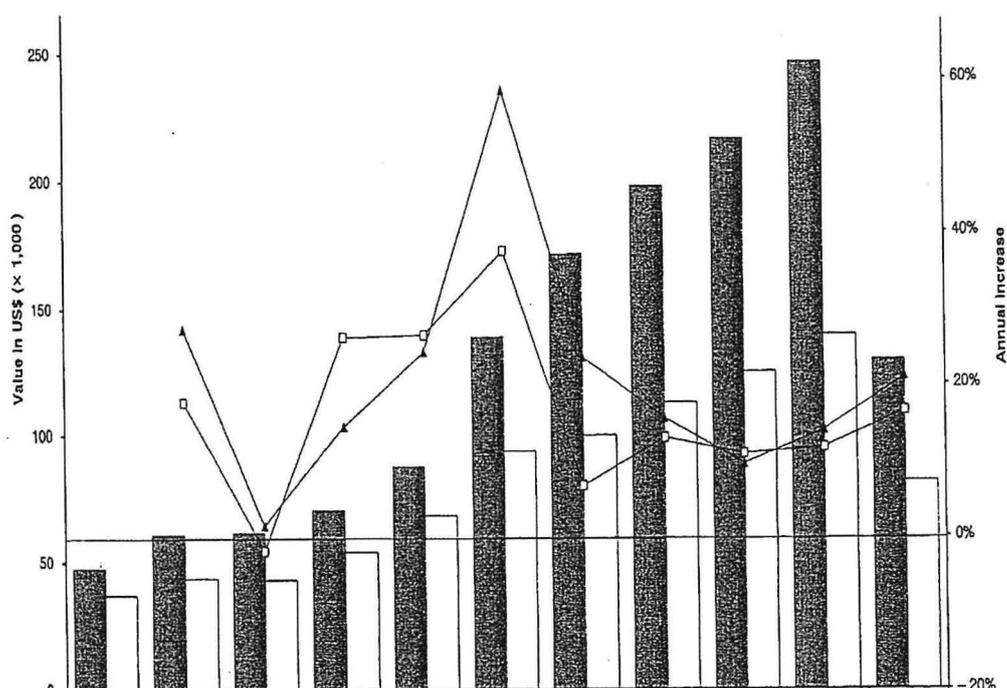


Figure 1 Importations et exportations globales de poissons d'ornements entre 1983 et 1992

Cela représente une augmentation annuelle de 21 % pour les importations contre 16 % pour les exportations internationales (Davenport K.E., 1996 ; Cheong L., 1996).

Il s'agit d'une production très importante et d'une grande rentabilité qui a poussé les aquaculteurs du monde entier à importer puis produire et exporter un grand nombre d'espèces allochtones. En effet, la diversité des poissons d'ornement ainsi que l'engouement que porte l'ensemble des aquariophiles n'a jamais cessé de croître. Ces espèces sont produites essentiellement dans les régions chaudes, au sein de fermes, de bassins d'eau avec des températures régulières. Mais chaque pays possède ses espèces endémiques, ainsi en Australie et Nouvelle Guinée, les poissons du genre *Melanotaenia sp.* sont des espèces uniques au monde que de nombreux aquariophiles achètent à des prix élevés, en moyenne entre 3 et 10 euros par poisson, et ceci en Australie. Les caractéristiques systématiques de cette famille endémique de l'hémisphère Sud sont brièvement décrites dans le cadre ici bas

Famille Melanotaeniidae - Rainbow fishes, yeux bleus (D'après Fish Base)

L'ordre: Atheriniformes

La classe: Actinopterygii

No. de Genres: 6

No. d'Espèces: 53

L'environnement: Eau douce et saumâtre



Distribution: Australie du Nord et de l'Est et Nouvelle-Guinée et quelques îles proches. Le corps est comprimé; les nageoires dorsales sont étroitement séparées, la première avec 3-7 rayons de la colonne vertébrale et la seconde avec 6-22 rayons ; nageoire anale avec 10-30 rayons; ligne latérale absente ou faiblement développée; écailles relativement grandes, 28-60 dans la série de la ligne latérale; le rayon pelvien est intimement attaché à l'abdomen par une membrane tout le long de sa taille. Vertèbres entre 27-38. Les mâles habituellement sont plus colorés que les femelles et la longueur maximale est approximativement 12 centimètres.

Dans la ferme Ausyfish.pty.ltd. le genre *Melanotaenia* tient une grande importance et il représente 14,3 % des ventes.

Les ventes de poissons d'ornement se font essentiellement à l'intérieur du pays. Le chiffre d'affaire dû à la vente des *Melanotaenia sp.* représente près de AUS\$140 000 sur cinq années, entre 2000 et 2005.

Nom	Quantité vendue depuis 5 ans	Importance dans la ferme (en dollar australien pendant 5 ans)
<i>Melanotaenia splendida fluviatilis</i>	59 881	43 849,75
<i>Melanotaenia trifasciata</i>	21 002	32 725,83
<i>Melanotaenia splendida splendida</i>	13 788	18 866,35
<i>Melanotaenia parkinsoni</i>	8 271	19 002,50
<i>Melanotaenia Duboulayi</i>	5 870	7 441,35
<i>Melanotaenia maccullochi Ogilby</i>	3 830	4 715,75
<i>Melanotaenia australis</i>	3 634	4 916,00
<i>Melanotaenia splendida inornata</i>	2 622	3 397,45
<i>Melanotaenia praecox</i>	803	2 956,00
<i>Glossolepis incisus</i>	445	1 471,00
<i>Iriatherina werneri</i>	285	484,50
<i>Melanotaenia lacustris</i>	35	95,00
Somme des Melanotaenia spp.	120 466	139 921,48

Tableau 1 Production et vente du genre *Melanotaenia*

La production de la ferme est essentiellement dirigée vers la production de poissons de consommation, mais les poissons d'ornement permettent à la ferme d'avoir une importante rentrée d'argent pendant la période hivernale qui est une période creuse pour la production des poissons comestibles et pendant laquelle la ferme commercialise essentiellement des plantes et des poissons d'ornement, et vend peu de poissons de consommation (la perche).

La ferme est caractérisée par une production en polyculture en particulier des poissons d'ornement : guppys, platys, swordtails, néons, tétras, mais c'est surtout les *Melanotaenia sp.* qui sont les poissons ornementaux les plus représentatifs de la ferme. La qualité sanitaire de ces poissons est donc essentielle pour la ferme et par le passé des plaintes de la part des clients au sujet des infestations par des nématodes du genre *Camallanus* ont menacé le maintien des ventes de ces espèces. Cette parasitose est présente dans cette ferme depuis plus de dix années et malgré que, à priori, elle ne soit pas mortelle elle reste une contrainte majeure pour l'éleveur. Ce dernier doit en effet sélectionner les animaux au moment de l'expédition pour éliminer ou reporter l'envoi des animaux visiblement trop parasités ; avec un rallongement sensible du cycle de production. Le but de ce stage effectué en collaboration avec le personnel de la ferme était de définir les caractéristiques de l'infestation conduite par ce nématode et les moyens prophylactiques et thérapeutiques pour supprimer cette menace et ceci à l'aide de produits approuvés par le vétérinaire local et par les services de l'environnement.

La partie expérimentale de ce stage de terrain est ici précédée par une succincte description des poissons du genre *Melanotaenia*, ainsi qu'une description du cycle du parasite et ses effets sur les poissons.

I. CONTEXTE DU STAGE

Ce stage s'est déroulé dans une ferme aquacole familiale sans beaucoup de moyens. Le matériel scientifique se résumait à un microscope (80 de grossissement), une loupe binoculaire, une balance (peu précise) et ma trousse à dissection. Les produits mis à ma disposition ont été des produits déjà présents dans la ferme, aucun autre produit n'a pu être acheté ou emprunter. Le travail effectué pour ce sujet s'est effectué essentiellement pendant mes temps libre. La majorité du temps passé au sein de la ferme servi pour aider le personnel au bon fonctionnement de l'entreprise.

1.1 Généralités

Ausyfish.ptyltd est une ferme aquacole familiale qui comprend 127 bassins, d'une superficie totale de 4,56 hectares.

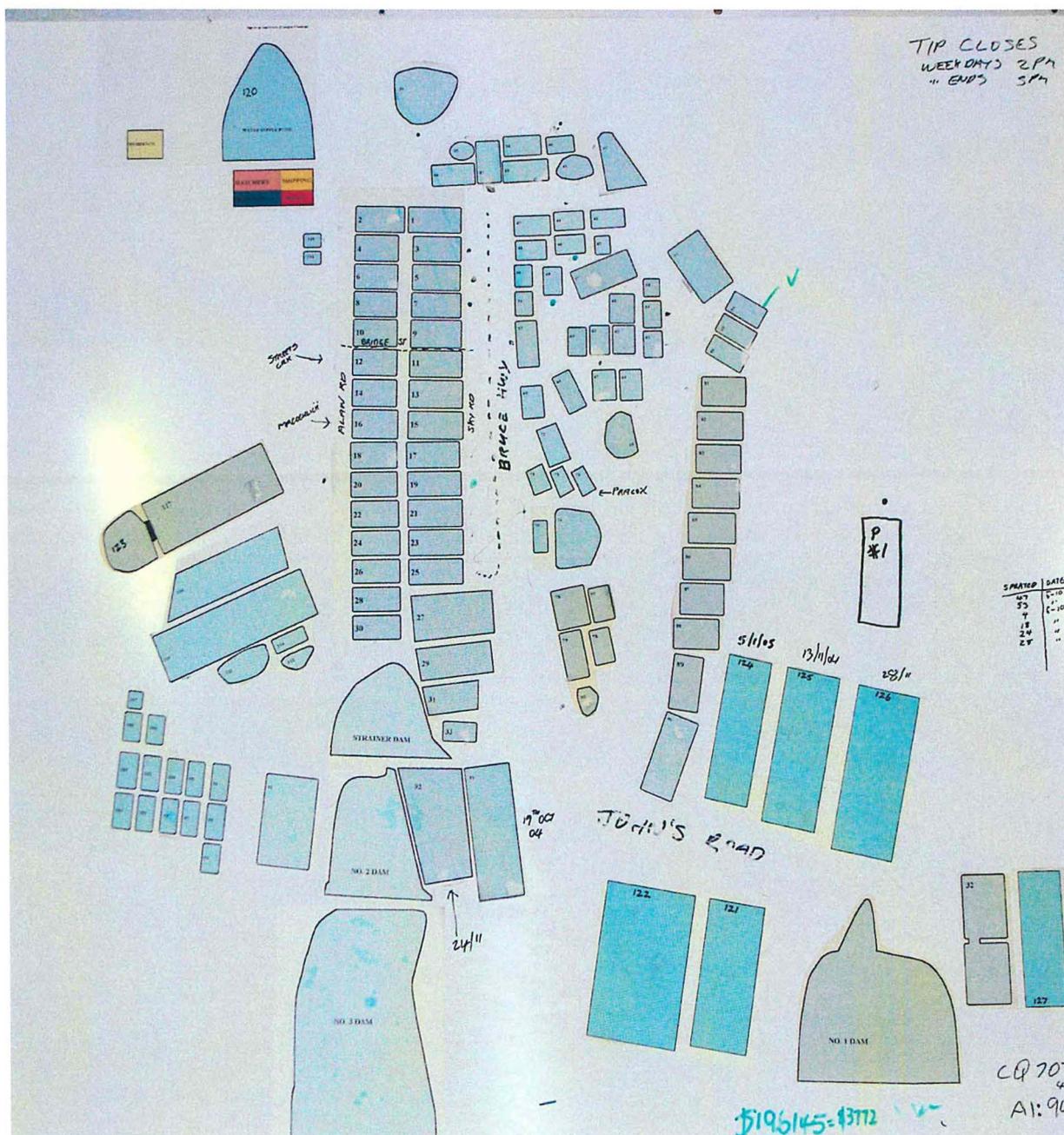


Figure 2 : Répartition spatiale des bassins

Dans le domaine, il y a aussi cinq étangs où l'eau est mise à disposition ; leur surface varie en fonction des pluies. La capacité totale de la ferme (en considérant que la profondeur moyenne de l'étang est comprise entre 1,20 mètres et 1,80 mètres) est d'environ 70 000 mètres cubes d'eau.

Le nombre de personnes qui travaillent dans cette ferme varie en fonction du nombre de stagiaires mais il y a toujours à la base la famille Sambell représentée par quatre personnes :

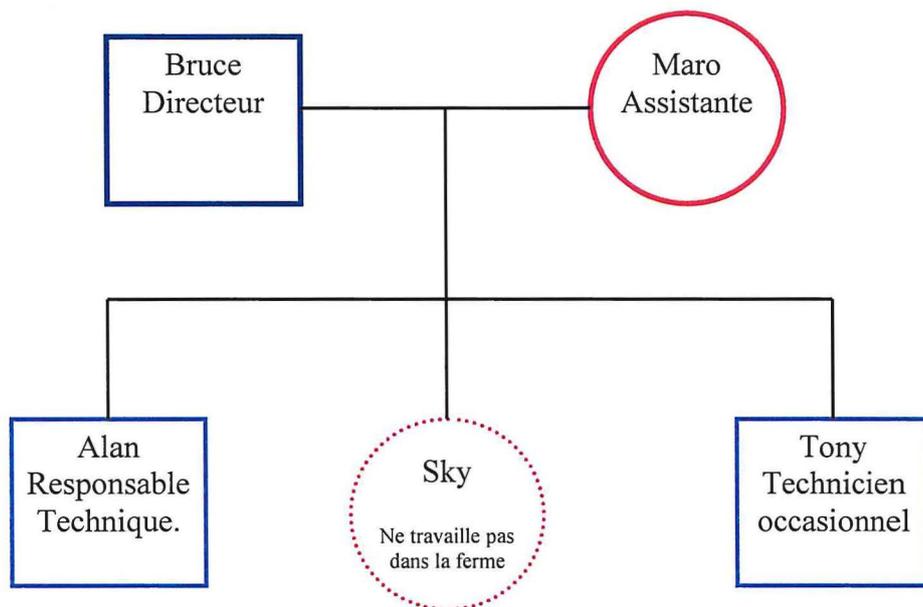


Figure 3 Direction et personnel dans la ferme

1.1.1 La répartition des bassins

L'ensemble de la ferme comprend 127 bassins, en hiver bon nombre d'étangs sont placés en assec afin de permettre au sol de se reconstituer et d'éliminer certains parasites. Bon nombre de poissons ne supportent pas non plus les températures trop basses pendant cette période. En effet sur les 127 bassins, 54 étaient vidés, tandis que la répartition des poissons, dans les 73 bassins restants, était la suivante.

Nom commun	Nombre de bassins	Pourcentage	Pourcentage sans les bassins vides
Barramundi (<i>Lates calcarifer</i>)	1	0,7	1,2
Rosey barbs (<i>Puntius conconius</i>)	2	1,4	2,3
Zebrafish (<i>Danio regio</i>)	3	2,1	3,6
Perche argentée (<i>Bidyanus bidyanus</i>)	3	2,1	3,6
Guppy (<i>Poecilia reticulata</i>)	5	3,5	5,9
Coal grunter (<i>Hephaestus carbo</i>)	5	3,5	5,9
Swordtail (<i>Xiphophorus sp.</i>)	6	4,2	7,3
Platy (<i>Xiphophorus maculatus</i>)	16	11,4	19,1
Autres perches	17	12,1	21,3
Rainbows (<i>Melanotaenia sp.</i>)	25	17,7	29,8
Etangs vides	54	41,3	Total =73
TOTAL	127	100%	100%

Il est facile de voir avec ce tableau que la majorité des étangs est occupée par les poissons du genre *Melanotaenia sp.* (annexe 1, annexe 2). Cependant cela correspond aussi au nombre total d'étang pour ces poissons quelque soit la saison. En ce qui concerne les poissons comestibles, 21 sont remplis et en « production » (barramundi et perches). Cette quantité est doublée quelquefois triplée pendant l'été.

Il est assez rare d'avoir l'ensemble du domaine rempli. En effet, la partie du Queensland dans laquelle se trouve la ferme, a une faible pluviométrie. Les bassins sont remplis par la pluie ou par un réseau de pompes et tuyaux. Le grand nombre d'étangs peut surprendre mais il correspond à une logique de gestion; en effet, le propriétaire pour des raisons fiscales réinvestit une partie des bénéfices dans la création de nouveaux étangs.

1.1.2 Qualité de l'eau et du sol

Comme dit ci-dessus, l'eau provient essentiellement des pluies et elle remplit directement les différents bassins, elle est pompée d'étangs de leur propriété ou de celle du voisin. Un étang de stockage de grandes dimensions (30 m de large, 40 m de long et 2 mètres de profondeur en moyenne) est situé en amont de la maison et il a une fonction d'étang tampon dont l'eau est pompée au moyen de longs tuyaux avec des filtres en amont comme en aval, pour éviter la contamination par différentes espèces de poissons et afin de garder chaque étang spécifique par rapport à l'espèce qui y est produite. Lorsqu'il s'agit de remplir un bassin de plus grande taille, l'eau utilisée provient de l'étang du voisin, c'est un étang sans culture, ni poisson, ni plante.

En ce qui concerne la composition du sol, il est riche en argile, ce qui confère, une bonne imperméabilité aux étangs. De plus aucune culture n'a été faite sur le domaine, et encore aujourd'hui juste un côté de la propriété est en contact avec une exploitation d'ananas, ce côté se trouve en aval de la ferme donc aucune transmission aux bassins.

Malgré la bonne imperméabilité des étangs, la gestion des niveaux d'eau de ces derniers est complexe et requière des fréquentes actions de pompage et d'amener d'eau.

1.2 La ferme piscicole

En plus de se diversifier dans les poissons d'ornements, Ausyfish produit une certaine quantité de poissons de consommation, notamment les perches, espèce omnivore. Cette ferme est spécialisée dans la vente de juvéniles pour l'engrossissement. Leur croissance se fait en bassins. Les géniteurs de ces espèces grandissent dans des bassins proches du bâtiment principal, parce qu'en période de reproduction, ils sont capturés pour le contrôle de la reproduction.

Les poissons d'ornements sont éparpillés dans la ferme, leur reproduction se fait dans les bassins sinon certains géniteurs de poissons d'ornements précieux sont placés dans des aquariums afin de produire une réserve constante de juvéniles. Après avoir acquis une taille suffisante, aux yeux du propriétaire, les juvéniles sont « libérés » dans des étangs récemment remplis. Les poissons en aquarium d'une très forte importance économique sont nourri à l'aide de tubifex (ver de sang : source protéique). L'alimentation des alevins en aquarium ou en bassins artificiels, est effectuée avec des artémias.

Voici le descriptif de la production d'Artémias : dans une eau avec une concentration en sel de 35 ‰, on ajoute deux cuillères à café de cistes d'artémias et on les laisse pendant environ 10 à 12 heures dans un seau, sans lumière, juste avec un bulleur. Après cette période on les place dans un grand entonnoir avec chauffe eau (température entre 26°C et 28°C), bulleur et lumière pendant toute la nuit. Le lendemain on a deux scénarii : la couleur de l'eau est orangée, alors la majorité des cistes ont éclos, très bonne préparation ; ou l'eau est restée dans les teinte marron et dans ce cas la digestibilité pour les alevins sera énormément réduite.

Dans l'ensemble des aquariums (24 au total) de 200 litres, l'eau doit être changée 2 à 3 fois par semaine, toujours avec l'eau de l'étang en amont. Afin de protéger les poissons en aquarium de champignons tel que *Saprolegnia sp.*, d'invasion d'algues et de certaines bactéries, on ajoute du sel (à une concentration de 20 ‰) ainsi que de l'oxytétracycline (juste quelques grammes) à chaque changement d'eau.

Enfin la manipulation la plus souvent effectuée reste la récolte de poissons, sachant qu'il y a en moyenne 4 à 5 commandes par semaine, avec certaines fois plus de 6 espèces de poissons dans chaque commande. La récolte est manuelle et elle se fait à l'aide de filets (3 de différentes tailles) d'un sélectionneur de taille, et des seaux pour le transport entre le bassin et le bac de départ. Ce bac est en fait une bassine de 2000 litres avec des boîtes séparant les commandes.

Le renouvellement de l'eau des aquariums se fait à l'aide d'une pompe qui prélève l'eau de l'étang en amont. Un filtre est présent dans presque tous les aquariums.

Dans chaque aquarium se trouve un bulleur et une résistance pour garder la température de l'eau constante. Ils le laissent branché pendant tout l'hiver. La température recherchée pour l'ensemble des aquariums est entre 22°C et 28°C.

1.2.1 Cycle de production de l'espèce

Les espèces de *Melanotaenia* sont natives d'Australie et/ou de Nouvelle Zélande Ce sont des espèces importantes pour ce qui est de la vente dans le pays et de même pour l'exportation (dans le Sud-Est asiatique essentiellement). La reproduction se fait toute l'année, cependant en période froide, c'est-à-dire du début de l'hiver jusqu'au milieu du printemps, certaines espèces de *Melanotaenia*, très précieuses pour la ferme, vont être transportées des bassins vers des aquariums intérieurs puis une fois que la température de l'eau devient trop basse, les poissons sont placés dans des bassins artificiels avec un système de réchauffement d'eau (réchauffement solaire). Les poissons en bassins artificiels continuent à se reproduire à partir

du moment où il y a à l'intérieur une structure où les œufs peuvent être déposés, il s'agit en général, d'une pelote de laine.

Il y a deux cycles de reproduction différents pour les poissons d'ornement : un cycle naturel et un autre artificiel.

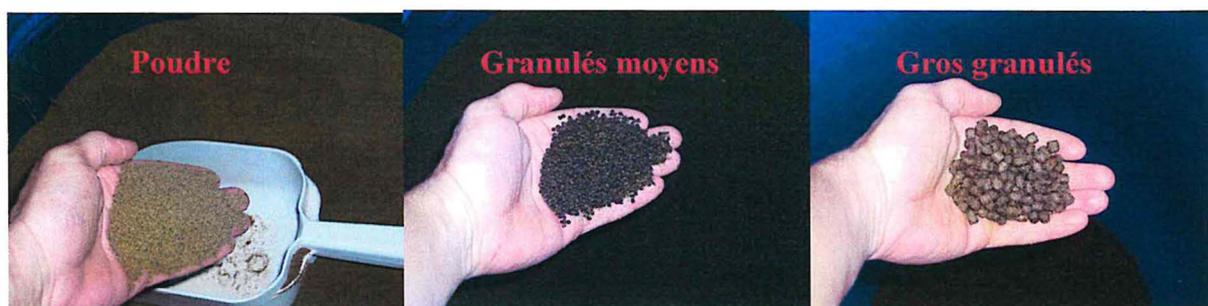
Le cycle naturel : après avoir récupéré dans le milieu sauvage un certain nombre de poissons, mâles et femelles avec un ratio qui tend vers deux femelles pour un mâle, les poissons sont mis dans un étang fraîchement rempli et ils sont laissés là le temps de la bonne saison (l'été) sans aucune pêche. Ensuite, après avoir effectué quelques observations en surface et une pêche pour vérifier la taille commerciale, l'étang pourra être exploité.

Le cycle artificiel : il est surtout pour les poissons qui ne bénéficient plus d'autorisation pour l'importation, ou encore pour faire une sélection de caractères. Le technicien place donc des individus adultes dans des aquariums avec une pelote de laine pour que la femelle y dépose ses œufs. Le ratio dans ces aquariums est de deux à trois femelles pour un mâle.

Le grossissement se fait aussi tout au long de l'année, en période chaude, au sein même des bassins, et en période froide, dans des bassins artificiels intérieurs. La taille marchande de ces poissons varie en fonction de ce que demande le client. Il est possible de sélectionner différentes tailles, le prix sera d'autant plus important que la taille est grande. En fonction de l'espèce, la taille peut varier de 1 centimètre jusqu'à 10 centimètres, bien évidemment le prix variera en fonction de la taille mais surtout en fonction de l'espèce. Par exemple *Melanotaenia praecox* est un poisson qui peut être vendu avec une taille de 1 centimètre, alors que *Melanotaenia fluviatilis* ne sera vendu que lorsque sa taille atteindra 3 à 5 centimètres. Certaines espèces, *Melanotaenia parkinsoni* ou encore *Glossolepis incisus* peuvent être vendues avec une taille supérieure à 5 centimètres, la raison est que plus le poisson est mature et plus sa couleur est prononcée. En général, la majorité des poissons sont vendus avec une taille moyenne de 4 centimètres, ce qui met 2 à 3 mois pour avoir cette taille. L'offre dépend aussi du nombre d'individus dans les bassins et si il n'y a pas assez de poissons ils refusent la commande. Bruce et Alan tente de maintenir une population limite dans chaque étang afin de pouvoir renouveler leur stock pour l'année en cours pour les années futures.

1.2.2 Alimentation

L'élevage dans cette ferme est semi intensif. La majorité des bassins fournissent leur propre nourriture pour les différentes espèces présentes, cependant lorsque les températures redeviennent clémentes il est facile de nourrir les poissons avec de l'aliment pour poissons sous différentes formes : poudre ou granulés de différentes tailles (tout dépend du stade de développement des poissons dans les bassins).



La description de ces produits et la suivante : 52% protéine, 12% en huile et gras, 1,6% en fibre.

Comme le montre la courbe ci-dessous, tirée des données de la ferme pour les poissons de consommations ; l'évolution de l'alimentation est primordiale pour une croissance optimale de ce type de poisson.

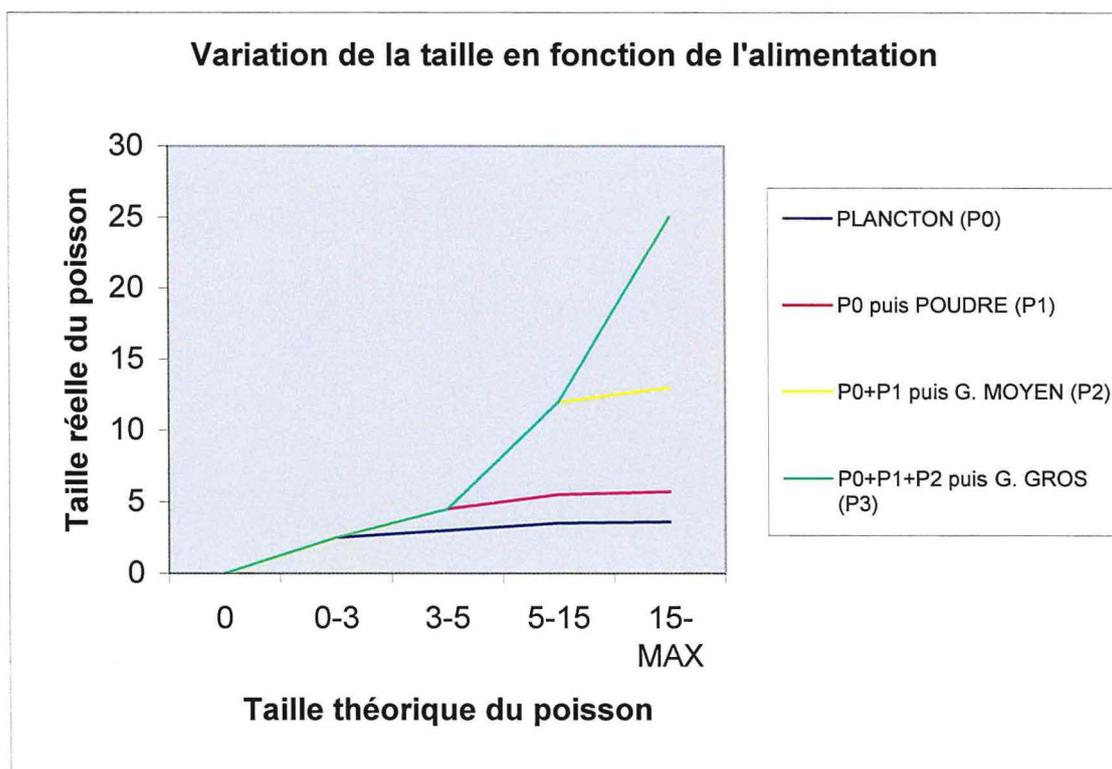


Figure 4 Courbe de croissance

L'anatomie des poissons du genre *Melanotaenia* montre une ouverture buccale réduite, même pour une taille corporelle dépassant 10 centimètres, l'ingestion de granulés de taille moyenne est donc très difficile pour cette espèce.

1.3 Le parasite *Camallanus sp.*

Les nématodes *Camallanus sp.* sont originaires du Sud-Est asiatique et c'est en 1927 que Fujita T. décrit pour la première fois ce type de parasite au travers de l'espèce *Camallanus cotti*. Découvert dans le corps d'un poisson du lac Biwa au Japon. Ce parasite se trouve dans l'intestin postérieur du poisson (son hôte définitif) et il peut être aperçu lorsque le poisson est immobile dans l'aquarium, la partie postérieure de son corps dépasse de l'anus de son hôte. Il existe deux cycles de vie pour ces nématodes, avec ou sans hôte intermédiaire (Levsen, 2001, Levsen et Jacobsen, 2002). Les vers atteignent la maturité dans l'hôte définitif, le poisson. C'est un parasite polyxène, c'est-à-dire que beaucoup d'espèces de poissons peuvent être contaminées par ces vers (Nematode, Secernentea, Camallanida, Camallanoidea, Camallanidae, *Camallanus sp.*). Ces nématodes de poissons d'eau douce du Sud-Est Asiatique sont cylindriques, filiformes et recouverts par une épaisse cuticule qui reste flexible mais non étirable. Le trait taxonomique caractéristique est la tête. C'est un ensemble d'organes simples, la bouche est ouverte et non armée. La première forme des lèvres était connue comme labiums. Il y a entre autres deux organes glandulaires sensoriels latéraux, qui débouchent de chaque côté de la bouche. Le pharynx est tubulaire, structure musculaire en continuité avec la bouche et postérieurement avec l'œsophage, constitué de deux parties : une antérieure d'origine musculaire et une autre postérieure glandulaire (aussi appelé ventriculus). Le ventricule peut avoir un appendice qui a son importance dans la taxonomie. La liaison entre l'œsophage et l'intestin s'effectue au travers de la valve œsophago-intestinale constituée de trois clapets semi-circulaires. L'intestin débouche sur un court rectum qui évacue les fécès par un anus chez la femelle et par un cloaque chez le mâle. En région postérieure présence de papilles en forme de club ; leurs nombres ainsi que leurs arrangements ont aussi une importance taxonomique (Kabata, 1985).

La manière dont le poisson peut être infesté dépend du milieu dans lequel il se trouve. Ce parasite a évolué : le cycle principal passe du poisson, à un copépode (grâce à une larve infestante), pour infester un autre poisson. Cependant dans le cas où l'hôte définitif se trouve dans un milieu pauvre voire sans copépodes, la larve passera directement d'un poisson à un

autre (Levsen, 2001, Levsen et Jacobsen, 2002). Cependant la durée de vie de ce type de cycle est limitée, le parasite ne pourra utiliser cette voie que 4 à 5 fois. Une autre particularité de ce ver est la grande diversité d'hôtes définitifs qu'il peut infester. En effet, il a été retrouvé dans de nombreux poissons tous très éloignés phylogénétiquement avec comme seul lien commun, leur résidence c'est-à-dire le même aquarium.

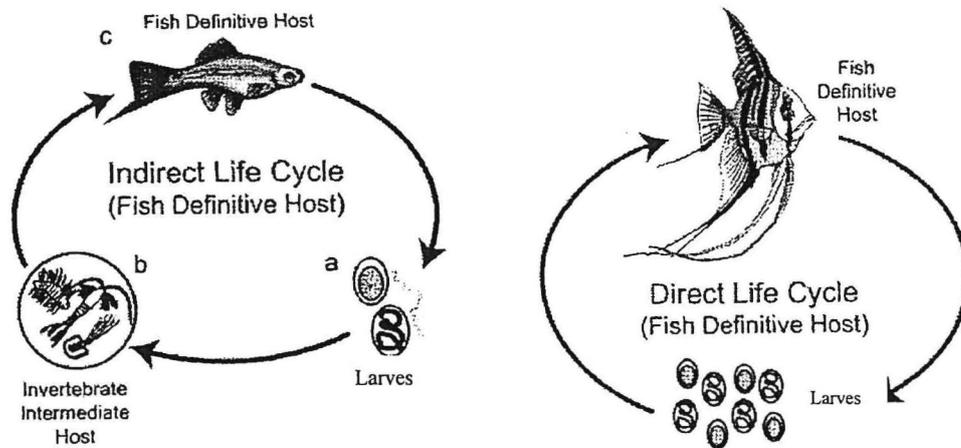


Figure 5 Deux cycles du nématode du genre *Camallanus*

Cycle indirect : il s'agit du cycle utilisé dans le milieu naturel. Le parasite adulte situé dans l'intestin postérieur porte sa progéniture, lorsque le milieu le permet ainsi que le développement larvaire, toutes les larves sortent du corps du parent puis de l'hôte définitif soit le poisson. Une fois dans le milieu aquatique, la larve va se fixer au fond sur le substrat et faire des mouvements circulaires afin d'attirer certains copépodes, ce sont les hôtes intermédiaires. Une fois le copépode infesté, il passe plusieurs stades dans son hôte intermédiaire jusqu'au moment où le copépode se fait ingérer par un poisson, là la larve se transformera au cours de sa dernière mutation en adulte.

Cycle direct : c'est le cycle courant dans un milieu fermé comme dans un aquarium par exemple. Il n'y a pas d'hôtes intermédiaires pour recevoir la larve du parasite, donc la larve va infester un autre poisson et passera tous ses stades larvaires à l'intérieur même du poisson qui sera aussi son hôte définitif (Levsen, 2001, Levsen et Jacobsen, 2002).

Camallanus sp. est un parasite polyxène, donc le risque pour qu'il se répande au sein de l'aquarium est immense. Il faut donc bien surveiller tous les poissons d'un aquarium et aussi bien observer les nouveaux arrivants lors de la quarantaine.

La périodicité de ce parasite semble dépendre essentiellement de la température environnante. Mais la pluviométrie pourrait aussi être responsable d'une diminution de la présence des parasites. Après une importante pluie les larves sont lâchées, cela est probablement due à une

plus grande présence d'hôtes intermédiaires, du au lessivage des sols provoqués par les pluies. (Vincent A.G., Font W.F., 2003).

1.4 Effet des camallanus

1.4.1 Généralités

De nombreux ouvrages, présents dans la ferme, décrivent les effets de ce parasite (Goldstein, 1971, Herbert, Axelrod, 1989). Il est simple d'observer si un poisson est infesté. En général le poisson est bien moins dynamique et il est stationnaire : le ver en profite pour sortir légèrement de l'anus. Cependant le moindre mouvement de la part du poisson provoque une rentrée immédiate du parasite (Meguid, 1996). Le ver sort de l'anus du poisson du quart au tiers de sa longueur totale. Un autre signe d'une infestation est le refus d'alimentation, avec un désintéressement total de la part du poisson. Outre le fait d'empêcher la nutrition de l'hôte, le ver une fois devenu mature et en période reproductrice provoque chez l'hôte une irritation et une inflammation au niveau de l'anus et de l'orifice génital (Harrison 1997).

L'infestation par les nématodes du genre *Camallanus* peut être simple ou multiple. Mais qu'il y ait un ou plusieurs vers dans l'intestin de l'hôte, la caractérisation des symptômes et lésions sont les mêmes. Ainsi le mode d'attache du ver dans l'intestin postérieur se fait par la bouche, à l'aide de crochets. La muqueuse intestinale est endommagée ce qui provoque une entière destruction de l'épithélium, jusqu'à la mort de la partie parasitée : le ver alors se détacher et va se raccrocher sur une autre partie. Ces trouées provoquent une entrée facilitée pour les bactéries par exemple. Le parasite peut pénétrer profondément dans l'intestin, même jusqu'aux muscles intestinaux : cet attachement provoque une sorte d'ulcère (Meguid, 1996 : De Kinkelin et al, 1984).

D'après la littérature les effets pathologiques du parasite peuvent être listés ainsi :

- Diminution de la vitalité
- Manque d'appétit (Elieson M., 2002 ; Harrison, 1997)
- « Effet visuel » : sorti au niveau de l'anus de la partie postérieur du ver

L'effet le plus néfaste reste celui du ver qui sort de l'anus, ce n'est pas en soit gênant mais cela entraîne une dépréciation visuelle et du coup économique. Un poisson avec cette caractéristique ne sera pas vendu. C'est une perte de la part des magasins spécialisés, premiers clients de la ferme, et donc une perte de confiance entre eux.

1.4.2 Impact économique

Ce parasite empêche l'expansion du marché pour certaines espèces. Dans la ferme Ausyfish.ptyltd à chaque fois qu'un étang est contaminé, Bruce, par expérience, attend une faible infestation de l'étang pour pouvoir recommencer à exploiter ce dernier. Le parasite n'a pas disparu mais cela n'empêche pas la vente, la proportion des poissons infestés devient faible. La période de quarantaine ne profite pas à la ferme, cependant pour chaque poisson d'ornement il y a au moins deux étangs producteurs. Ceci reste un choix de la part des gérants de la ferme, le fait qu'il ne trouve plus le parasite ne veut pas dire qu'il a disparu pour autant de l'étang, il peut être dans une phase où tous les individus sont synchronisés et leur stade adulte vient de s'achever.

Par la suite j'ai pu voir que certains poissons infestés étaient quand même expédiés. Après de nombreuses discussions j'ai pu obtenir l'information expliquant leurs actes. La ferme Ausyfish.ptyltd n'assure pas des poissons sans parasites et c'est aux clients, notamment les boutiques d'aquariophiles, d'effectuer les traitements si les poissons en ont besoin, du coup il n'y a aucune dépense en agents chimiques pour la ferme.

II. OBSERVATIONS

Le temps passé au sein de la ferme m'a permis de connaître de nombreuses techniques dans le domaine de l'aquaculture, mais le temps que j'ai pu avoir pour traiter mon sujet en a été restreint. Le fait que je sois « utilisé » comme technicien plus qu'ingénieur a pénalisé certaines expériences pour cause d'un manque de temps.

2.1 Effet sur le poisson

Une caractéristique de la présence du ver *Camallanus* est que l'anus du poisson se trouve dilaté et richement vascularisé. Cette caractéristique morphologique a été un élément essentiel pour moi lors de mes différents échantillonnages en bassin.



Si l'on exerce une légère pression de l'abdomen des individus contaminés, on peut observer la partie postérieure du ver sortir de l'anus et cela s'est toujours confirmé comme un symptôme pathognomonique qui suffit à établir le diagnostic d'une infestation importante. Les observations ont été conduites pendant les pêches des poissons lors des envois commerciaux. Les 25 étangs de *Melanotaenia sp.* ont été analysés. Dans chaque étang entre 20 et 30 poissons (d'environ 5 centimètres) ont été observés avec un sex-ratio de 50/50. Il a fallu entre 30 minutes et 1 heure à chaque étang pour repérer les caractéristiques sur les poissons de bonne taille.

2.2 Incidence spécifique de la parasitose

Le tableau suivant montre la présence/absence observée sur le genre *Melanotaenia*

ESPECES	Nombre de poissons observés		Présence/Absence
	Males	Femelles	<i>Camallanus sp.</i>
<i>Melanotaenia australis</i>	25	25	0
<i>Melanotaenia splendida splendida</i>	25	25	1
<i>Melanotaenia duboulayi</i>	25	25	0
<i>Glossolepis incisus</i>	25	25	0
<i>Melanotaenia splendida inornata</i>	25	25	0
<i>Melanotaenia lacustris</i>	25	25	0
<i>Melanotaenia maccullochi Ogilby</i>	25	25	0
<i>Melanotaenia parkinsoni</i>	25	25	1
<i>Melanotaenia praecox</i>	25	25	1
<i>Melanotaenia splendida fluviatilis</i>	25	25	1
<i>Melanotaenia trifasciata</i>	25	25	0
<i>Iriatherina wernerii</i>	25	25	0

Il apparaît que seulement quatre espèces semblent être infestées par ces nématodes respectivement :

- *Melanotaenia splendida splendida*
- *Melanotaenia praecox*
- *Melanotaenia parkinsoni*
- *Melanotaenia splendida fluviatilis*

La prévalence ne diffère pas significativement entre les trois espèces ($\chi^2 = 3,351$ pour 2ddl ; $p = 0,187$)

Sur l'ensemble de ces espèces, *Melanotaenia praecox* est la seule espèce en aquarium, les autres sont observées en bassins. Pendant la totalité des observations, je n'ai pas pu distinguer une réelle différenciation en fonction de la classe d'âge ou encore en fonction du sexe. Les individus en aquarium n'ont pas servi pour les différentes batteries de tests mais juste pour le traitement final, vu que cette espèce est particulièrement précieuse et chère.

2.3 Incidence temporelle

Ces espèces ont fait l'objet d'un suivi mensuel. Voici les résultats de ces :

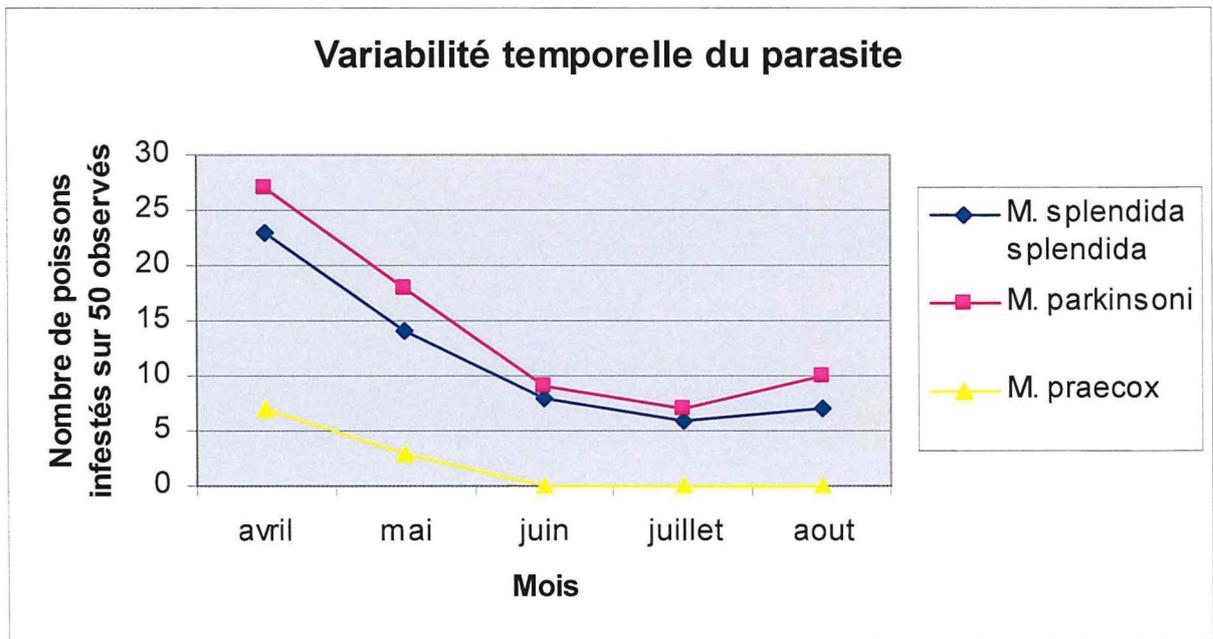


Figure 6 Variabilité temporelle

		avril	mai	Juin	juillet	août
<i>M. splendida splendida</i>	50	23	14	8	6	7
<i>M. parkinsoni</i>	50	27	18	9	7	10
<i>M. praecox</i>	50	7	3	0	0	0

Tableau 2 Variabilité d'infestation

J'ai voulu comparer le nombre de poisson infesté et voir si il y avait une différence significative entre chaque mois :

- La prévalence saisonnière pour *M splendida splendida* diffère significativement ($X^2= 13,039$ pour 4 ddl $P = 0,011$)
- La prévalence saisonnière pour *M parkinsoni* diffère significativement ($X^2= 14,091$ pour 4 ddl $P = 0,007$)
- La prévalence saisonnière pour *M praecox* diffère significativement ($X^2= 17,437$ pour 4 ddl $P = 0,002$, mais l'échantillon est faible, juste 3 individus contaminés en mai)

Pendant mon stage je n'ai pas pu observer des guppys contaminés (*Poecilia reticulata*), seulement des *Melanotaenia sp.* La sélection des hôtes définitifs ne se fait pas en fonction du sexe ou de l'âge.

2.4 Incidence spatiale

Sur l'ensemble des échantillonnages effectués à mon arrivé sur le site (30 bassins au total) 4 sont parasités par le nématode *Camallanus sp.* Dans ces quatre bassins, il y a quatre espèces différentes : *Melanotaenia praecox*, *Melanotaenia parkinsoni*, *Melanotaenia splendida fluviatilis* et enfin *Melanotaenia splendida splendida*. Sur ces quatre espèces les 3 premières citées ont une très grande importance économique pour la ferme. De ce fait, il ne m'a pas été permis d'échantillonner ces trois espèces. L'ensemble de mes expériences ont été faites sur l'espèce *Melanotaenia splendida splendida*.

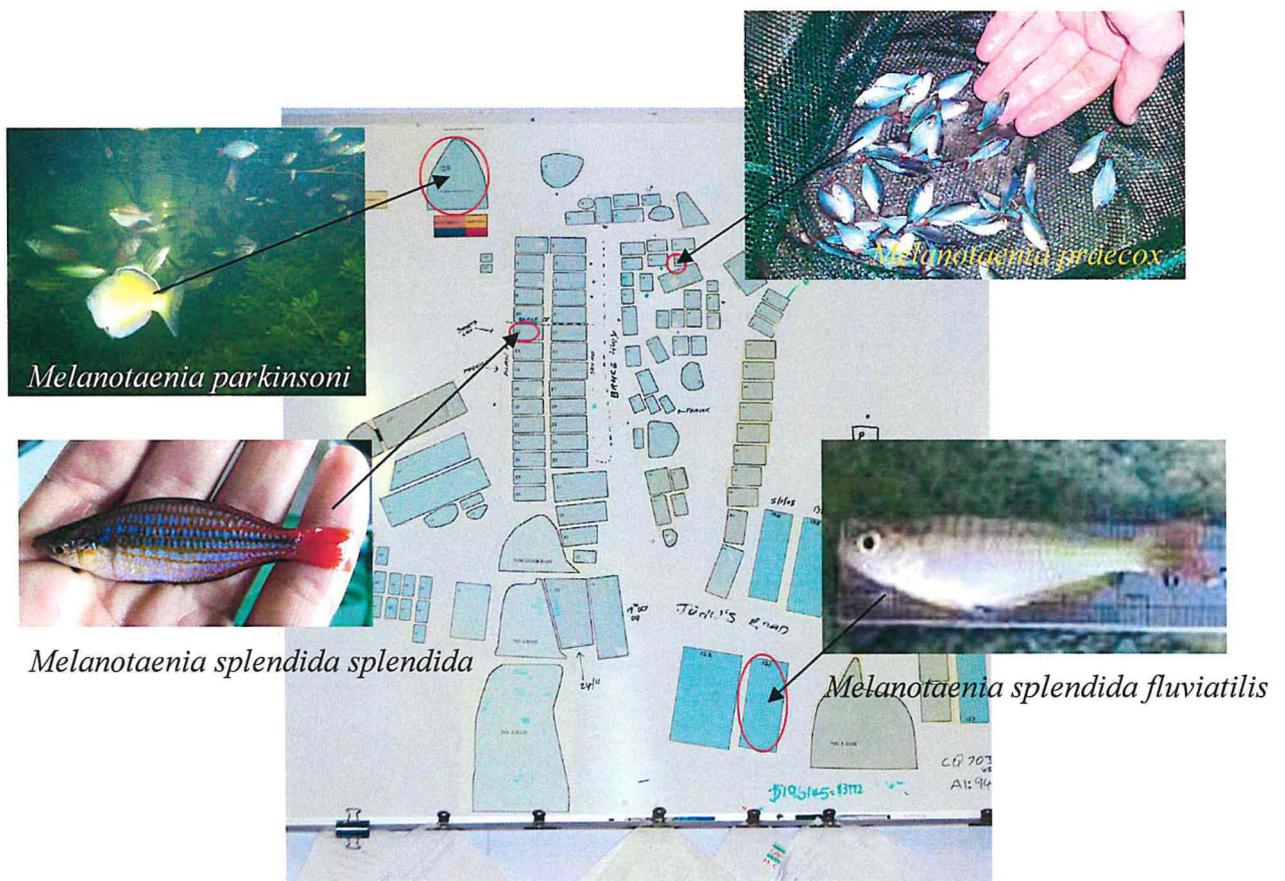


Figure 7 : Incidence spatiale de la parasitose

La disposition des étangs infestés montre une répartition aléatoire au sein de la ferme.

2.5 Discussion

La différence que l'on observe entre les espèces est essentiellement due aux variations de températures : *Melanotaenia praecox* ne supporte pas les basses températures c'est pourquoi

il y a moins d'individus contaminés, parce que les poissons observés sont peut être plus résistants. Du fait du nombre des pluies plus importantes que les années précédentes, mais aussi à cause de la diminution de la température des étangs, la quantité de poissons infestés a nettement diminué. Vincent A.G., Font W.F. ont déjà fait allusion sur la saisonnalité de ce parasite en fonction des pluies. Le parasite serait plus présent après les pluies abondantes (lors de la saison des pluies ; Vincent A.G., Font W.F., 2003).

Après le boom planctonique pendant la saison estivale, les techniciens utilisent production planctonique d'un étang : l'étang de la maison, pour nourrir les autres bassins.

Il n'y a aucun lien éventuel entre ces différents étangs.

Mais cet étang se trouve parasité par le ver *Camallanus sp.*, et comme le plancton est utilisé dans le cycle du parasite *Camallanus sp.* ils contaminent les autres étangs (Yanong, 2002, Levsen et Jacobsen, 2002). Donc ce sont ces manipulations, entre autre, qui contaminent les autres bassins. Il se peut que d'autres bassins soient infestés mais je n'ai pas eu la « chance », ni le temps, de pouvoir les observer.

III. ESSAI THERAPEUTIQUES ET TOXICOLOGIQUES

Ce ver, du fait de sa répartition, est mondialement connu par les particuliers, les magasins spécialisés. Beaucoup de traitements ont déjà fait leurs preuves.

- × La pipérazine, Il s'agit aussi d'un médicament qui peut être administré pour l'Homme, il est recommandé de l'utiliser contre les vers internes avec un ration de 100g/kg de poids vif (Greco Frank M., 1994).
- × Le trichlorfon (Fluke-Tabs) qui peut être utilisé pour éviter aussi une infection par les bactéries (Elieson, 2002).
- × Le néguvon peut aussi être utilisé (Rinna, 2003).
- × L'ivermectin, qui agit en ralentissant le rythme du cycle du parasite, paralysant l'adulte et tue la descendance. Il est connu en Océanie sous le produit **IVOMEC**® (Micromedec, 2003).

Sur l'ensemble des produits cités l'IVOMEC® est celui qui a été utilisé pour l'ensemble des expériences de ce stage. Ausyfish.pty.ltd possède ce produit mais ils ne l'ont jamais utilisé. Bruce comme Alan ne voyant pas l'intérêt de passer du temps à étudier sa posologie, ses effets, ou encore le meilleur moyen de l'administrer. Ils m'ont donc proposé de le faire pour eux.

J'ai pu observer de nombreux cas qui présentaient le ver *Camallanus sp.* J'ai aussi eu la chance de voir d'autres maladies et parasitoses. Un autre parasite, un trématode, a retenu mon intérêt parce qu'il était présent dans de nombreux poissons que j'ai observé. L'un des tests thérapeutiques s'est révélé efficace contre ce parasite, mais toxique pour le poisson à une certaine dose, comme l'ivermectin en ce qui concerne le *Camallanus sp.*

A) CONTAMINATIONS EXPERIMENTALES

Le meilleur moyen de pouvoir pratiquer des expériences sur des poissons infestés est encore d'en avoir un certain nombre sous la main. Ca n'est pas très pratique de demander d'aller pêcher une quantité minimale de poissons juste pour pouvoir effectuer des tests sur : le parasite, les produits, etc. Le fait de pouvoir disposer d'un stock de poissons infestés en aquarium s'est avérée être le meilleur moyen. Différentes tentatives d'infestations ont donc été mis en œuvre.

I. Méthodes

Voici quatre expériences différentes pour infester des poissons *Melanotaenia splendida splendida*, l'espèce la plus sensible et la moins chère de la ferme, parmi les Melanotaeniidae. Je me suis basé sur le fait qu'en cycle direct, le temps de contamination entre plusieurs hôtes définitifs est de 3 semaines à 2 mois. Tout dépend notamment du sexe du parasite, le cycle du mâle est plus court que celui de la femelle *Camallanus sp.* (Levsen A., Berland B., 2002b)

Première expérience : INGESTION. J'ai sorti, de poissons infestés, les vers et je les ai fait ingérer, de force, à des poissons de la même espèce et de même taille, donc à peu près du même âge.

Deuxième expérience : CONTACT DIRECT PARASITE. Dans un aquarium de 200 litres avec 50 *Melanotaenia splendida splendida*, différentes tailles, sexe ratio 50/50, j'ai prélevé cinq vers nématodes matures, c'est-à-dire que la progéniture à l'intérieur du corps du parent est en nombre et mobile. J'ai coupé trois vers pour que les larves (mobiles) aillent infester les poissons par le cycle direct.

Troisième expérience : CONTACT DIRECT POISSONS INFESTES, même espèces. Dans un aquarium de 200 litres avec 50 *Melanotaenia splendida splendida*, différentes tailles, sexe ratio 50/50, j'ai disposé une dizaine de poissons infestés (de la même espèce), il a

déjà été prouvé que le parasite pouvait être transmis d'un poisson à un autre sans passer par un hôte intermédiaire.

Quatrième expérience : CONTACT DIRECT POISSONS INFESTES, différentes espèces. J'ai choisi de mettre différentes espèces en contact avec des sujets contaminés ainsi que des larves libres.

II. Résultats

Aucune de ces expériences n'a montré un résultat positif, le temps d'attente pour les expériences 1 à 3, a été de trois semaines minimum. L'expérience 4 s'est achevée après 3 mois d'attente. La majorité des poissons dans les aquariums a été disséquée, la partie terminale de l'intestin a été extraite disséquée et analysée. Rien n'a pu être observé, pas d'adultes ni de larves. Le manque de plancton au sein de l'aquarium peut être un point à éclaircir.

III. Discussion

Aucuns des tests n'a fonctionné. Le temps laissé dans les aquariums n'était peut-être pas assez long, les sujets pas assez réceptifs, ou les températures trop basses.

B) ESSAIS PHARMACOLOGIQUES

Les produits utilisés lors de ce stage ne sont que les produits que Bruce avait en sa possession. Je me suis donc servi de sel, de Dipterex ®, de praziquantel et d'Ivomec ®.

I. Essais préliminaires

Pour connaître l'efficacité des produits j'ai procédé à différents tests reprenant les doses maximales pour chaque produit. A la suite de ces expériences j'ai mis en place les expériences, soit le test dose limite soit le calcul de la dose létale.

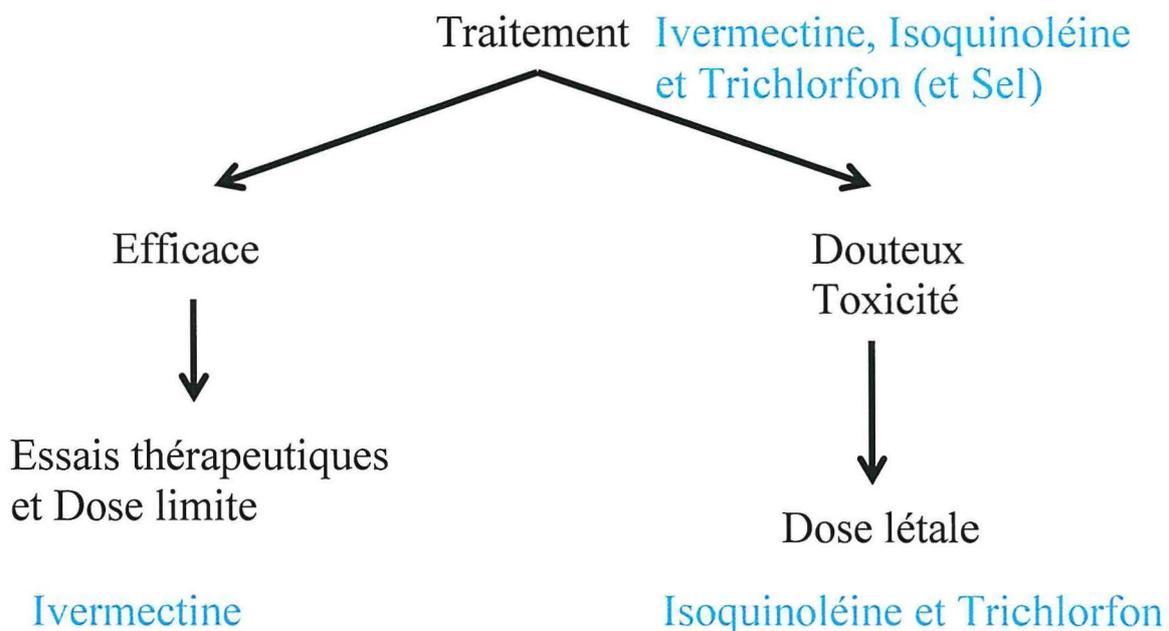
- × Pour l'ivermectine : Nombre de poissons infestés : 20 (*Melanotaenia praecox*), la dose maximale utilisée est de 6 ml pour 200 litres. Le traitement s'effectue sur deux jours : on met la dose dans l'aquarium et encore la même dose 24 heures après.

- × Pour l'isoquinoléine : Nombre de poissons infestés : 10 (*Melanotaenia splendida splendida*), la dose maximale est de 5 grammes pour 200 litres. On laisse une dose se dissoudre d'elle-même à la surface.
- × Pour le trichlorfon : Nombre de poissons infestés : 5 (*Melanotaenia splendida splendida*), la dose maximale utilisée est de 4 ml pour 200 litres. Une dose suffit (Levsen, 2001, Levsen et Jacobsen, 2002).
- × Pour le sel, j'ai juste procédé à un test sur la tolérance « maximale » de la salinité sur l'espèce *Melanotaenia splendida splendida*.

II. Essais thérapeutiques

Ces traitements ont donné deux suites : soit le traitement est efficace et cela a donné suite au test de la dose limite (Ivermectine). Soit le traitement a causé la mort des poissons et cela a donné suite au calcul de la dose létale (Trichlorfon, Isoquinoléine).

Voici donc les résultats obtenus suites aux traitements préliminaires :



2.1 Expérience avec le sel

Les poissons testés, surtout les *Melanotaenia sp.*, tolèrent de fortes salinités, jusqu'à 40‰.

2.1.1 In vitro

Le sel a comme priorité d'ajouter des ions Na⁺ et Cl⁻ au milieu, ce qui modifie les caractères physico-chimiques de l'eau et certains organismes, comme les algues ou encore certains parasites, ne le supportent pas.

Pour voir l'efficacité du sel sur ce nématode, j'ai choisi de le sortir de l'intestin de ses hôtes et de le soumettre à différentes concentrations pour connaître sa résistance et par le même fait connaître son anatomie.

J'ai donc disséqué six *Melanotaenia praecox*, trois mâles et trois femelles, et j'ai prélevé en moyenne trois parasites par poisson.

J'ai placé quatre parasites par bocal, avec différentes concentrations de sel :

Bocal 1 : eau douce

Bocal 2 : eau à 15‰ (15 g de sel pour 1 litre d'eau douce)

Bocal 3 : eau à 25‰ (25 g de sel pour 1 litre d'eau douce)

Bocal 4 : eau à 35‰ (35 g de sel pour 1 litre d'eau douce)

2.1.2 In vivo

On dispose de 4 aquariums de 200 litres avec 24 individus de *Melanotaenia splendida* (sex-ratio 50/50) infestés par le ver *Camallanus sp.* . Le sel utilisé est du sel de mer vendu dans des sacs de 25 kilos, dans les magasins spécialisés pour l'aquariophilie. Les quatre aquariums vont recevoir une quantité différente de sel pour que la concentration varie de 0‰ et 35‰

Aquarium 1 : eau douce

Aquarium 2 : eau à 15‰ (15g de sel pour 1 litre)

Aquarium 3 : eau à 25‰ (25g de sel pour 1 litre)

Aquarium 4 : eau à 35‰ (35g de sel pour 1 litre)

2.2 Expérience avec l'ivermectine (Ivomec®)

L'ivermectine provoque une paralysie des muscles en bloquant les gaba récepteurs. Il provoque aussi la mort de toute la descendance. De plus pour les parasites résistants il réduit la fréquence de cycles de reproduction (Wickstrom E., Berger J-C., Fernando R., Temple W., 1994 ; Micromedex, 2003; Marvistavet, 2005). Ce produit s'utilise sur une période de 2 jours. Temps 0, ensuite mélange du produit avec l'eau de l'aquarium dans ce dernier. 24 heures

après, soit jour 1, on rajoute la même dose. 24 heures après, jour 2, nettoyage de l'aquarium avec changement d'eau.

Plusieurs expériences ont donc été effectuées avec ce produit. L'efficacité ainsi que la tolérance à ce produit ont été testées. Ce produit a été proposé par un magasin spécialisé pour que Ausyfish.pty.ltd. traite ses poissons avant de les envoyer. J'ai donc à ma disposition six aquariums avec 30 *Melanotaenia splendida splendida* dans chacun. J'ai ajouté différentes concentrations de produit, soit 6 ml, 5 ml, 4 ml, 3 ml, 2 ml ou 1 ml. Après les deux jours de traitements, j'ai disséqué l'ensemble des poissons pour vérifier l'efficacité des traitements.

III. Essais toxicologiques

3.1 Expérience avec le trichlorfon (Dipterex ®)

En ce qui concerne le trichlorfon, le fait de l'avoir fait intervenir dans mon protocole résulte du hasard, je connais son pouvoir sur les insectes et les plantes dans un aquarium. Aussi dans une page personnel sur un site internet, une personne mentionne l'utilisation du trichlorfon (ou trichlorfon) pour le traitement du vers *Camallanus sp.*, je ne parviens pas à retrouver son adresse internet. J'ai donc pris la liberté de faire quelques essais avec ce produit, sachant que le trichlorfon est l'agent actif du Dipterex ® (International programme on chemical safety, 1992, Heinz Hermann Reidrenbach, Klinke, Landolt, 1965). C'est un insecticide, son impact sur l'environnement est important donc son utilisation est très contrôlée, de ce fait son utilisation est limitée. Dans trois aquariums différents avec 25 individus dans chacun de ces aquariums, on rajoute 1ml, 3ml ou 4ml de produit.

3.2 A l'isoquinoléine (Praziquantel®)

Le principe de l'isoquinoléine cible principalement les plathelminthes (Marvistavet, site internet, 2005). Il provoque des spasmes et une paralysie des muscles, ce qui cause la mort du parasite (Duriez Thérèse, Dujardin Lucien, Afchain Daniel, 2003).

La dose est une demi cuillère à café soit environ 3 grammes. Il est recommandé de donner cette poudre avec de la nourriture parce qu'elle est difficilement miscible à l'eau. Cependant il est possible de laisser la poudre se dissoudre d'elle-même à l'eau, cela prendra juste un peu plus de temps, on peut aussi supposer que les poissons viendront la goûter pensant que ce

n'est en fait que de la nourriture, cela leur permettra d'assimiler que plus rapidement le produit. La dose étant très difficile à déterminer.

Pour ce qui est des doses, dans des aquariums de 200 l j'ai utilisé environ 1 gramme, 2 grammes ou 4 à 5 grammes de poudre pour le traitement.

IV. RESULTATS

4.1 Essais thérapeutiques

4.1.1 Résultat de l'expérience avec le sel

Sur les quatre aquariums ainsi que les quatre bocal qui ont servi pour les différentes concentrations : 0‰, 15‰, 25‰, 35‰, aucun des bassins n'a été déparasité. La tolérance de cette espèce aux différentes concentrations a encore été confirmée, aucun poisson n'est mort pendant ces expériences.

4.1.2 Résultat de l'expérience à l'ivermectine

Sur tous les aquariums, les poissons ont bien supporté les traitements et aucun n'est mort pendant la période.

Le graphique ci-dessous nous décrit la dose limite d'efficacité du produit Ivomec®.

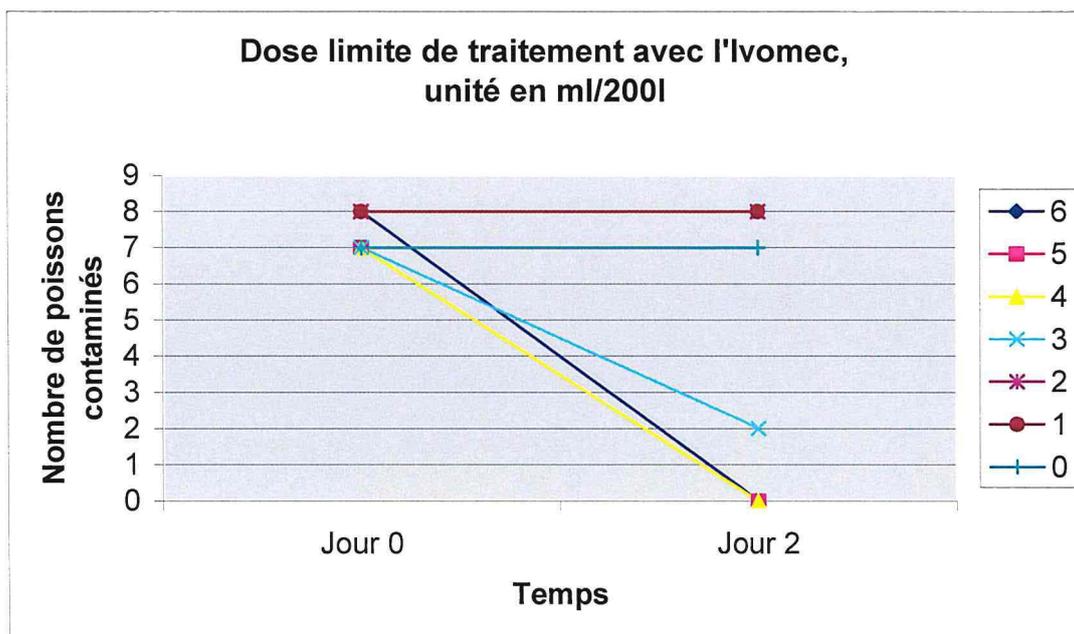


Figure 8 Dose limite ivermectine

Sur l'espèce *Melanotaenia splendida splendida*, à partir de 3ml/200l le produit commence à être efficace, mais pour avoir 100 % d'individus décontaminés il est préférable d'opter pour une dose à 4ml/200l.

4.2 Essais toxicologiques

4.2.1 Résultat de l'expérience au trichlorfon

Le Dipterex ® a été plus radical en tuant de nombreux individus dans les trois aquariums aux concentrations décroissantes : 4ml/200l, 2ml/200l, 1ml/200l. Son influence sur le parasite, si ce n'est qu'il tue son hôte, est que le parasite suit l'évolution du poisson. Si le poisson reste en bonne santé, le parasite continuera à vivre.

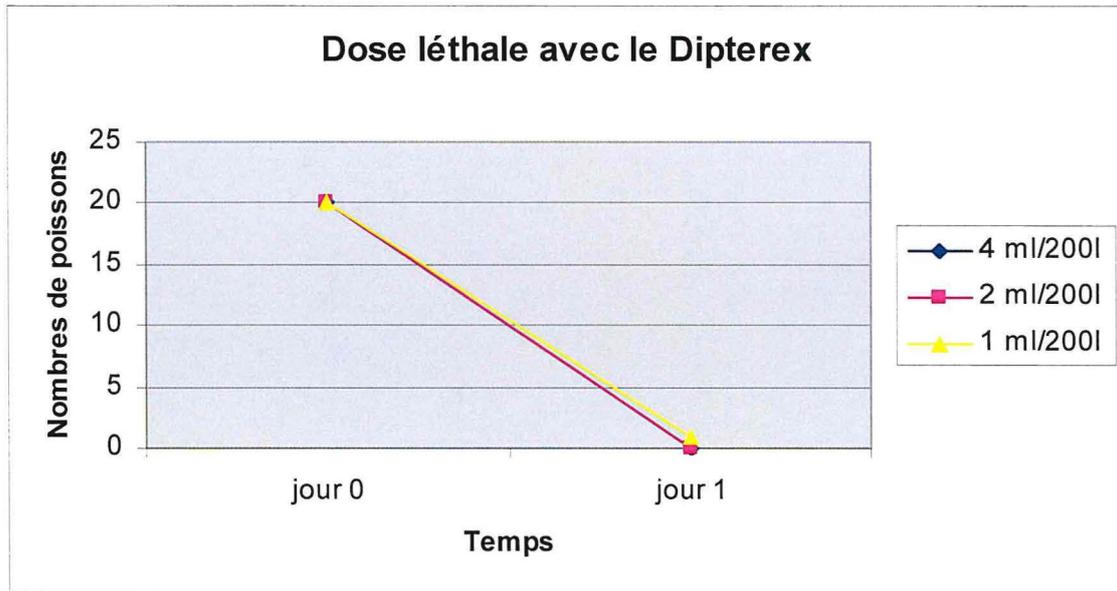


Figure 9 Dose létale Trichlorfon

4.2.2 Résultat de l'expérience à l'isoquinoléine (Praziquantel®)

Dans l'expérience avec l'isoquinoléine, l'espèce cobaye a été le *Melanotaenia splendida splendida*. Ces poissons étaient tous parasités par les trématodes. Dans un aquarium de 200 litres, j'ai mis 5 grammes de cette poudre à la surface. Trois heures plus tard, 20 poissons rentraient en léthargie dans l'aquarium.

A partir de 1 gramme pour 200 litres, le produit persiste mais devient moins létal.

Cependant il n'affecte pas le parasite *Camallanus sp.* à une si faible concentration.

Le même test a été effectué avec le même dosage mais cette fois-ci, mélangé à la nourriture pour poisson, le résultat reste le même.

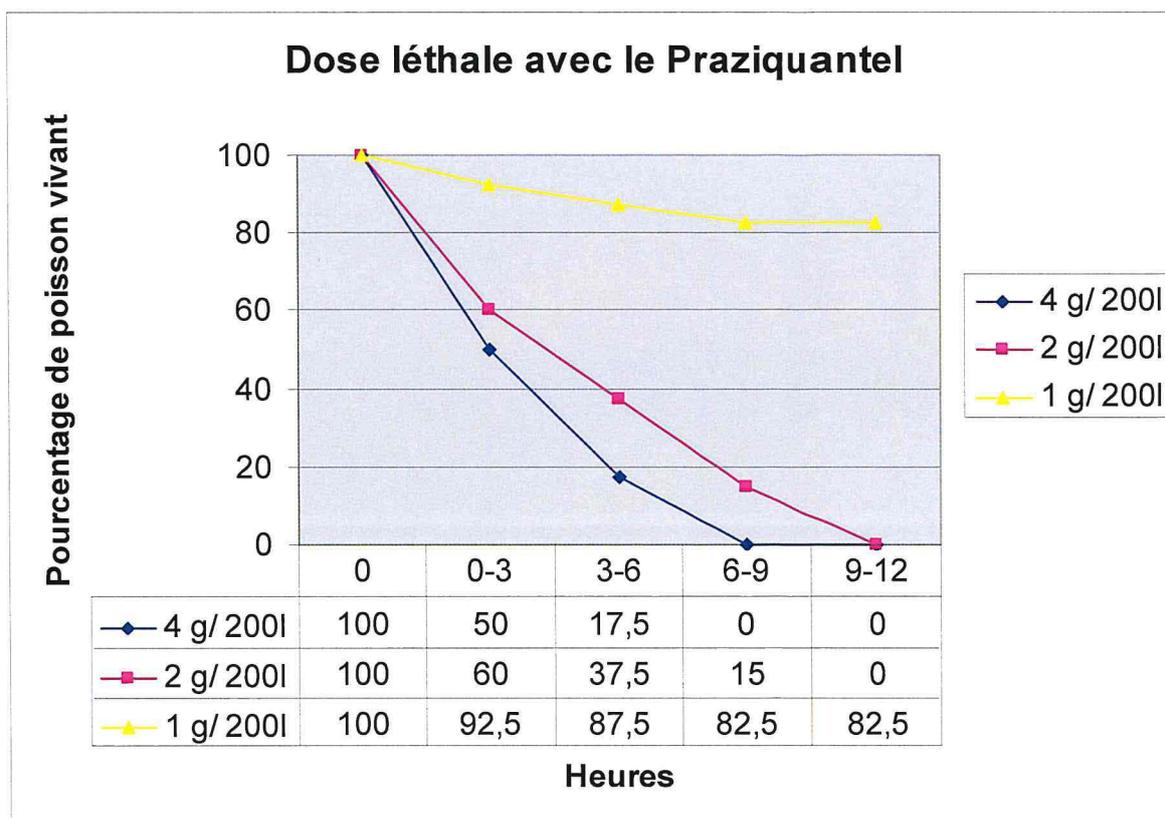


Figure 10 Dose létale Isoquinoléine

4.2.2 Résultat de l'expérience à l'ivermectine (Ivomec®)

Connaissant la dose minimale de ce produit j'ai cherché à trouver la dose létale sur une espèce particulièrement sensible : le guppy (*Poecilia reticulata*). Je me suis placé dans les mêmes conditions avec les mêmes concentrations, donc mon expérience s'est déroulée sur 7 aquariums, un témoin et 6 avec des concentrations différentes allant de 6ml/200l à 1ml/200l. Dans chacun des aquariums sont placés 30 individus. Le graphique qui suit montre les résultats

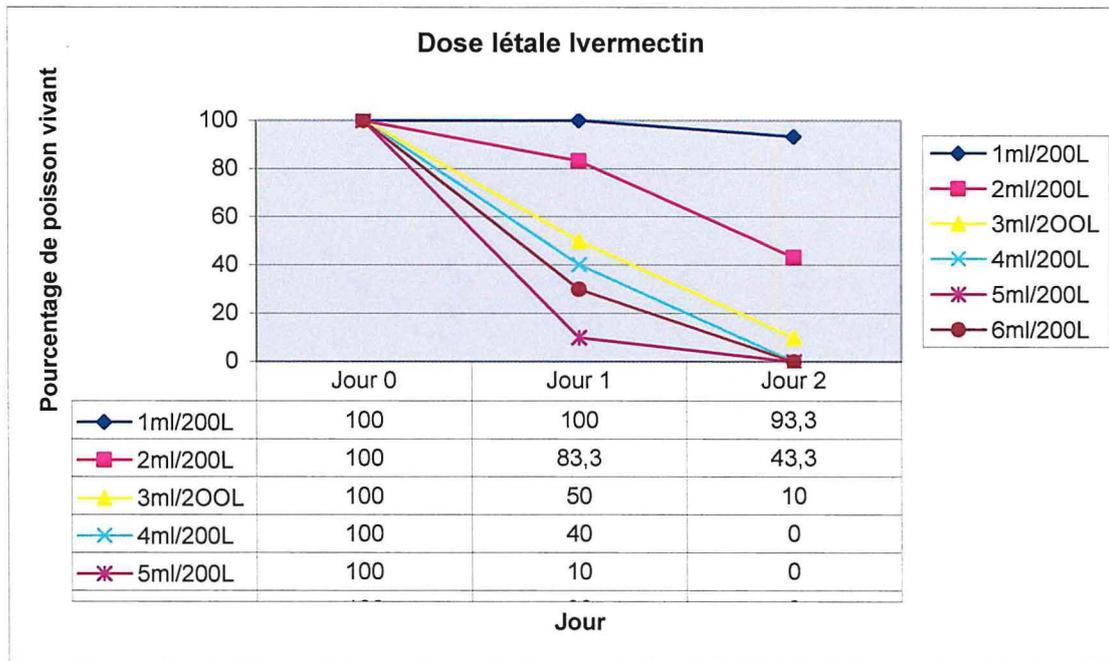


Figure 11 Dose létale Ivermectine

4.3 Statistiques

Sur l'ensemble des tests effectués, la majorité répondait à un test binaire : le traitement fonctionne correctement ou pas. Dans tous les autres cas, par exemple, connaître le dosage maximum que peut supporter un poisson lors d'un traitement, un test du chi 2 a été effectué.

V. DISCUSSION

5.1 Hypothèse de contamination

Dans l'ensemble de ce qui m'a été permis de voir et de faire au sein de la ferme, j'ai pu noter deux sources probables de contaminations :

- L'Homme
- Les prédateurs

En ce qui concerne l'Homme, il s'agit d'une manipulation annuelle, qui consiste à nourrir les étangs important économiquement pour la ferme mais aussi les étangs de démarrage. Le

problème posé est que l'étang qui possède le plus de plancton pendant la bonne période et qui sert de réserve en nourriture pour les autres n'est autre que l'étang de la maison (1). Cet étang est en production de poisson d'ornement tout au long de l'année : *Melanotaenia parkinsoni*. Ceci pourrait expliquer la contamination des étangs des autres espèces. En fait, cette nourriture très riche en protéines est donnée aux étangs dont la production rapportera le plus, donc des espèces avec une importante valeur économique comme *Melanotaenia splendida* et *Melanotaenia praecox* (2 et 4). Pour expliquer le bassin de *Melanotaenia splendida splendida* infestés (3), ceci est possible si on prend en compte le fait que cela puisse être un bassin de démarrage.

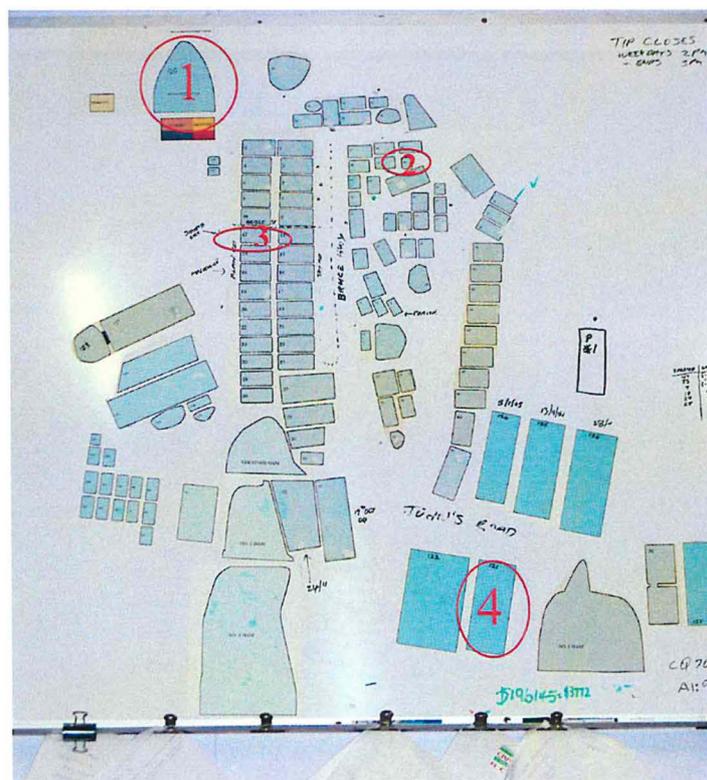


Figure 12 Bassins contaminés

J'ai pu observer que les oiseaux étaient en très grand nombre dans la ferme et que les cormorans ont été l'espèce la plus problématique. En plus de ponctionner des poissons d'un étang, ils laissent leurs fécès tout autour des étangs, véhiculant certains parasites, comme des *Taenia* par exemple. Mais ces oiseaux aquatiques peuvent transporter, à l'aide de leur plumage, du plancton, espèce intermédiaire du cycle naturel du ver parasite. Ceci reste q'une hypothèse, mais une hypothèse valable vu tout les dommages et les facilités pour ces oiseaux de se promener dans la ferme.

5.2 Les traitements

Quatre produits ont été testés pour avoir des traitements thérapeutiques comparatifs, cependant, vu que la ferme a eu d'importants problèmes financiers lors de mon stage, et que les produits auxquels j'aurais aimé avoir accès n'étaient en vente que sur ordonnance, j'ai dû utiliser les produits déjà dans leur réserve et m'en contenter.

Les résultats montrent que le produit Ivomec® agit efficacement à condition qu'un seuil maximum soit respecté pour ne pas tuer les poissons. Ce seuil sera aussi à faire varier en fonction de l'espèce traitée. Pour une espèce telle que *Melanotaenia splendida splendida*, la concentration en produit sera 4 à 5 fois plus importante que si l'on traite l'espèce *Poecilia reticulata*.

Parce que j'étais dans une ferme familiale, je n'ai pas eu tout le temps pour effectuer mes expériences. Bruce me rappela souvent que la ferme Ausyfish.ptyltd était une entreprise et comme toute entreprise, son but était de faire de l'argent malgré tout. Un bon nombre d'envois n'ont pas été traités et les produits sont partis avec certains parasites et notamment le nématode *Camallanus sp.*

L'influence du parasite n'a pas eu réellement d'effet sur les ventes de la ferme, c'est-à-dire qu'ils ne vont pas effectuer une vérification minutieuse et que, parasités ou non, les poissons seront expédiés. Quand un envoi de plus de 2 000 poissons doit être effectué, les poissons qui sont en moins bonne santé, ceci visible en un coup d'œil rapide (à cause de champignons comme *Saprolegnia sp.*, des parasites externes comme *Lernea sp.*(Goldstein, 1971, De Gottfried, 1974, Reidrenbach, Klinke, 1965, Dr Stanislauss, 1971, Dr Herber, 1989, Dr John B. Gratzek, 1994), des tumeurs, ou autres malformations) sont sortis directement du bassin et laissés de côté.

La répartition aléatoire des bassins contaminés dans le domaine, ne permet pas de donner l'origine de la contamination. Pendant la période de mon stage j'ai pu voir quatre bassins infestés. La probabilité que ce parasite s'étende sur l'ensemble du domaine surtout à cause de manipulations humaines (ou à cause des prédateurs, notamment les cormorans) est très importante. Les techniciens connaissent maintenant le risque important de prolifération de la maladie, mais aussi le moyen de lutte contre ce parasite. Le traitement qu'ils peuvent utiliser se trouve être un produit qu'il est impossible d'utiliser dans le milieu naturel, pour des raisons écologiques. Le traitement en aquarium reste donc le meilleur moyen de supprimer ce ver de son hôte, en attendant le traitement en étang.

5.3 Autres observations

Lors des manipulations sur les poissons, j'ai pu voir différents parasites déjà décrits comme les vers ancrés (*Lernea sp.*), un champignon (*Saprolegnia sp.*), un plathelminthe trématode indéterminé (apparemment en stade larvaire dans la cavité abdominale de certains poissons d'ornement) et un *Taenia* dans l'intestin d'un poisson de consommation.

J'ai donc effectué un test sur les trématodes et le *Taenia* à l'aide du produit isoquinoléine (Praziquantel®). Ce produit s'est révélé être très efficace à une dose de 1g/200 litres, pour une dose supérieure, comme le montre la figure 10, la mortalité des poisson devient trop importante.

En cinq mois je n'ai observé que deux cas de polyparasitisme avec la présence simultanée du nématode et du plathelminthe dans un même individu.

A la suite de ces différentes expériences, j'ai pu constituer un petit manuel pour aider la famille Sambell à reconnaître quelques maladies, et à effectuer les traitements eux-mêmes, sans être obligés de rechercher à nouveau dans les livres (annexe 3).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les produits utilisés au cours de ce stage n'étaient pas spécialisés dans la lutte contre ce parasite. Cependant le produit ivermectine (Ivomec ®) est un agent efficace pour la lutte contre le parasite *Camallanus sp.* A partir du moment où la posologie en fonction de l'espèce traitée est respectée, les effets secondaires sur l'hôte sont minimales. Cependant son action sur le milieu naturel est préoccupante. Le traitement en aquarium, avant un envoi, reste le meilleur moyen de lutte sans bouleverser l'environnement.

Le choix de l'entreprise dans ce type de lutte est aussi primordial. Faut-il favoriser la quantité ou la qualité ? Jusqu'à présent l'entreprise n'a reçu qu'une plainte d'un seul client qui était en fait, un conseil qui préconisait l'utilisation du produit ivermectine (Ivomec®) pour lutter contre le *Camallanus sp.*

Sinon, malgré les contaminations futures par l'action de l'homme ou encore les prédateurs (féces d'oiseaux), doit-on traiter les aquariums ou les bassins ? Les techniciens de cette ferme agissent sans réellement se soucier, ou tout simplement en ignorant les répercussions qu'auront leur actes dans le futur. Les cormorans restent les espèces qui créent le plus de dommage à la ferme, en ponctionnant largement les bassins de poissons et en répandant leur féces au hasard dans la ferme, et dans les étangs, contaminant de larges parcelles.

La gestion de la ferme par la famille Sambell définira les futures investigations au sein de leur ferme.

Les perspectives sont l'utilisation d'un produit sans impact sur l'environnement pour éliminer de la ferme ce parasite, et donc permettre une qualité des produits, ce qui favoriserait la vente des poissons d'ornements de la ferme. La ferme Ausyfish.pty.ltd possède les poissons les plus chers du Queensland, malgré l'importance des poissons contaminés. L'aquaculture est en pleine effervescence en Australie et de nombreux agriculteurs ou retraités se recyclent dans cette branche. C'est aux anciennes entreprises de montrer l'exemple, en respectant le milieu, l'exploitation et les produits de cette exploitation.

BIBLIOGRAPHIE

- Cheong L.**, 1996. Overview of the international trade in ornamental fish, with special reference to Singapore. . O.I.E. Revue scientifique et technique. Prévention de la propagation des maladies des animaux aquatiques. Vol. 15, n°2, Juin 1996. 445-481.
- Davenport K.E.**, 1996. Characteristics of the current international trade in ornamental fish, with special reference to the Europe Union. O.I.E. Revue scientifique et technique. Prévention de la propagation des maladies des animaux aquatiques. Vol. 15, n°2, Juin 1996. 435-443.
- De Gottfried Schubert**, 1974: Cure and recognize aquarium fish diseases. TFH. 128 pages
- De Kinkelin P., Ghittino P., Michel C.** 1984: Précis de pathologie des poissons. INRA OIE. p 151, 166.
- Duriez Thérèse, Dujardin Lucien, Afchain Daniel**, 2003: Les cestocides. [on line]. [2005/05/16]. <URL: <http://arachosia.univ-lille2.fr/labos/parasito/Internat/medicam/cestoci.html>>
- Elieson M.**, 2002: *Camallanus*. [Online]. [2005/03/03]. <URL: <http://www.fish-disease.net/diseases/camallanus.php>>
- Fujita T.**, 1927. One new species of nematodes from fishes of Lake Biwa. Jpn. J. Zool. 1, 169-176.
- Robert Goldstein, Ph. D**, 1971: Diseases of aquarium fishes. TFH. 126 pages
- Dr John B. Gratzek**, 1994: Aquariology master volume, The science of fish health Management. Tetra press. 330 pages
- Greco F.M.**, 1994: Pets-Warehouse Aquarium technique and tips. [On line]. [2005/05/16]. <URL: <http://www.pets-warehouse.com/Fishmed3.htm>>
- Harrison Charles H.**, 1997: Treatment of *Camallanus*. 4p. [On line]. [2005/03/16]. <URL: <http://www.inkmkr.com/Fish/CamallanusTreatment.pdf>>
- Heinz Hermann Reidrenbach, Klinke with Marsha Landolt**, 1965: Fish pathology, TFH. 212 pages
- Dr Herbert R. Axelrod**, 1989: Handbook of fish diseases. Dieter untergrasser. 160 pages
- International programme on chemical safety**, 1992: Environmental health criteria 132 Trichlorfon. [on line]. [2005/05/23]. <URL: [http://www.inchem.org/trichlorfon\(EHC132,1992\)_fichier/inchemhead.jpg](http://www.inchem.org/trichlorfon(EHC132,1992)_fichier/inchemhead.jpg)>
- Kabata Z.**, 1985: Parasites and diseases of fish cultured in the tropics. London and Philadelphia: Taylor & Francis, 318 p.

- Leroy Baptiste**, 2005. L'infestation des poissons par un nématode de la famille des Camallanidés. Synthèse bibliographique, DESS Productions Animales en Régions Chaudes. Année universitaire 2004-2005, CIRAD-EMVT/Université Montpellier 2, Montpellier, France, 15p.
- Levsen A.**, 2001: Transmission ecology and larval behaviour of *Camallanus cotti* (Nematoda, *Camallanidae*) under aquarium conditions. *Aquar. Sci. Conserv.* 3: 301-311.
- Levsen A., Berland B.**, 2002a: Post-embryonic development of *Camallanus cotti* (Nematoda: Camallanidae), with emphasis on growth of some taxonomically important somatic characters. *Folia Parasitologica.* 49: 231-238.
- Levsen A., Berland B.**, 2002b: The development and morphogenesis of *Camallanus cotti* Fujita, 1927 (Nematoda: Camallanidae), with notes on its phylogeny and definitive host range. *Syst Parasitol.* 53 (1): 29-37.
- Levsen A., Jakobsen P.J.** 2002: Selection pressure towards monoxeny in *Camallanus cotti* (Nematoda, Camallanidae) facing an intermediate host bottleneck situation. *Parasitology* 124: 625-629.
- Marvistavet** : Ivermectin. [on line]. [2005/05/16].
<URL:http://www.marvistavet.com/html/body_ivermectin.html>
- Marvistavet**: Praziquantel. [on line]. [2005/05/16].
<URL:http://www.marvistavet.com/html/body_praziquantel.html>
- Meguid M.A., Eure H.E.**, 1996: Pathobiology associated with the spiruroid nematodes *Camallanus oxycephalus* and *Spinitectus carolini* in the intestine of green sunfish, *Lepomis cyanellus*. *J. Parasitol.* 82 (1): 118-123.
- Micromedex**, 2003: Ivermectin (Systemic). [on line]. [2005/06/05].
<URL: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/druginfo/uspdi/202311.html>>
- Rinna Karine**, 2003. Caractéristiques et importance de 5 poissons d'ornement (discus, néon, scalaire, platy, guppy). Synthèse bibliographique, DESS Productions animales en régions chaudes. Année universitaire 2002-2003, CIRAD-EMVT/Université Montpellier 2, Montpellier, France, 26 p.
- Dr Stanislauss F. Snieszko et Dr Hebert R. Axelrod**, 1971: Diseases of fishes, book 3: the prevention and treatment of diseases of fishes under subtropical condition with special emphasis on intensive fish farming. S. Sarig. 127 pages

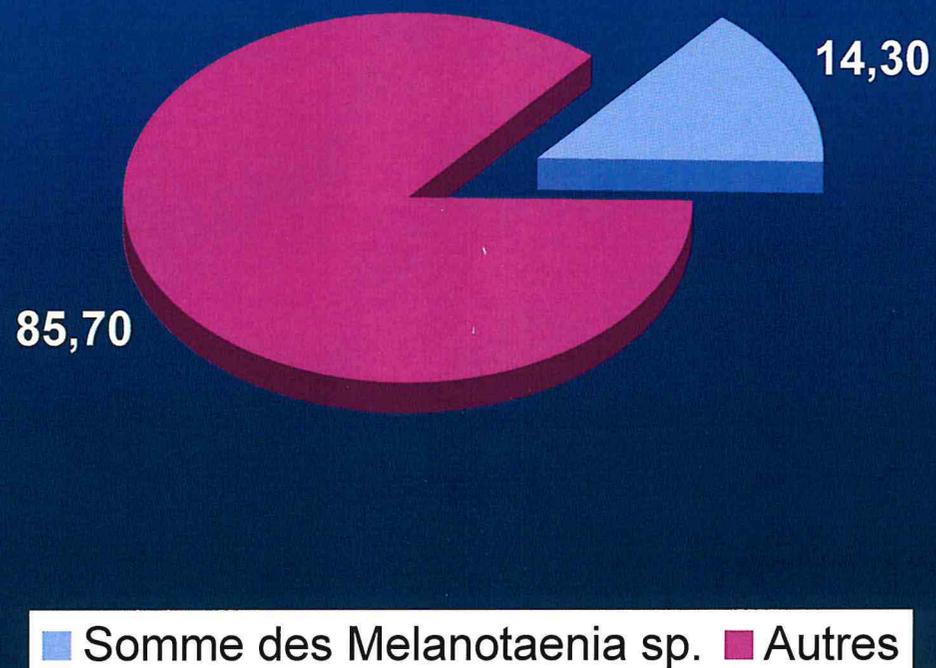
Vincent A.G., Font W.F., 2003: Seasonal and yearly population dynamics of two exotic helminths, *Camallanus cotti* (Nematoda) and *Bothriocephalus acheilognathi* (Cestoda), parasitizing exotic fishes in Waianu Stream, O'ahu, Hawaii. J. Parasitol. 89 (3 et 4): 540-544 et 756-760.

Wickstrom E., Berger J-C., Fernando R., Temple W., 1994: Ivermectin. [on line] .
[2005/06/05]. <URL: <http://www.inchem.org/documents/pims/pharm/ivermect.htm>>

Yanong Roy P.E., 2002. Nematode (Roundworm) Infections in Fish. Department of Fisheries and Aquatic Sciences, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. 9 p. Circular 91.

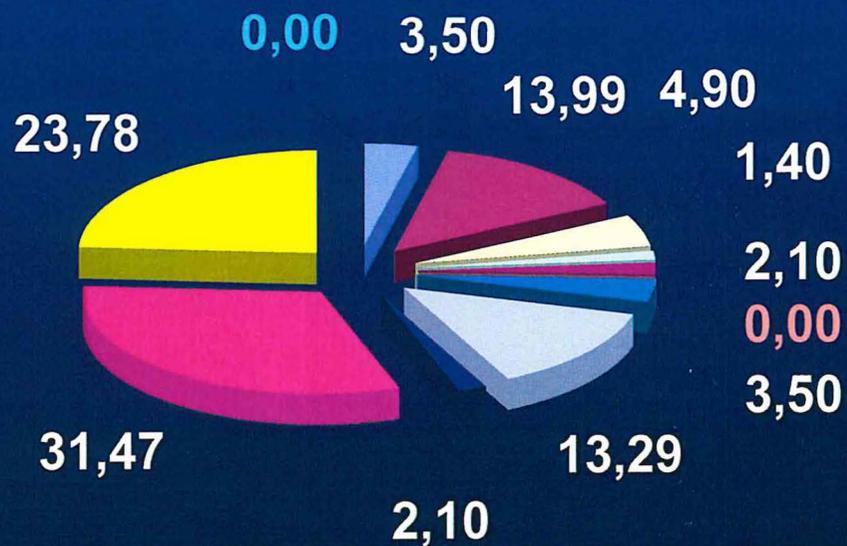
ANNEXES

Vente des *Melanotaenia* dans la ferme



Annexe 1 Importance des ventes (en pourcentage) des poissons du genre *Melanotaenia* au sein de la ferme

Importance des différentes espèces de Melanotaenia



- Melanotaenia australis
- Melanotaenia splendida splendida
- Melanotaenia Duboulayi
- Glossolepis incisus
- Melanotaenia splendida inornata
- Melanotaenia lacustris
- Melanotaenia maccullochi Ogilby
- Melanotaenia parkinsoni
- Melanotaenia praecox
- Melanotaenia splendida fluviatilis
- Melanotaenia trifasciata
- Iriatherina wernerii

Annexe 2 Espèces du genre *Melanotaenia* et importance relative de chaque espèce au sein de la ferme

ANNEXE 3



Little manual

What are the most
spread diseases
In the Ausyfish farm
Everybody can check
and cure?

Made by Baptiste Leroy
(French frie)

Winter 2005

It's time for you to make some observations!!!

You look at the fish and you think that maybe, they can, probably have some diseases, kind of worms or bacteria, viruses???

Well the easier with the instruments you got it's to check for the big parasites like worms, or very easy big diseases very easy to find in every book.

Put some gloves if you are afraid of touching dead fishes with naked hands and go and catch some fishes for dissection.

PLAN

Observations.....	1
The skin.....	1
The anus.....	2
Dissection.....	4
Kill the fish.....	4
The skin.....	4
The gill.....	5
The inside.....	5
Find easily your disease with the pictures already recorded, from this farm.....	8
Book references.....	9

The most common disease

Observations

You just have caught some fish and you want to be sure they have no major diseases.

Check the skin

¥ You see a kind of grains of salt on the body, that disease can be “**white spot**”, a kind of protozoa. You can't cure the disease on the infected fish, but you can kill it during its cycle. *Put 4ml of malachite green per 200L, and increase the temperature up to 30°C.*

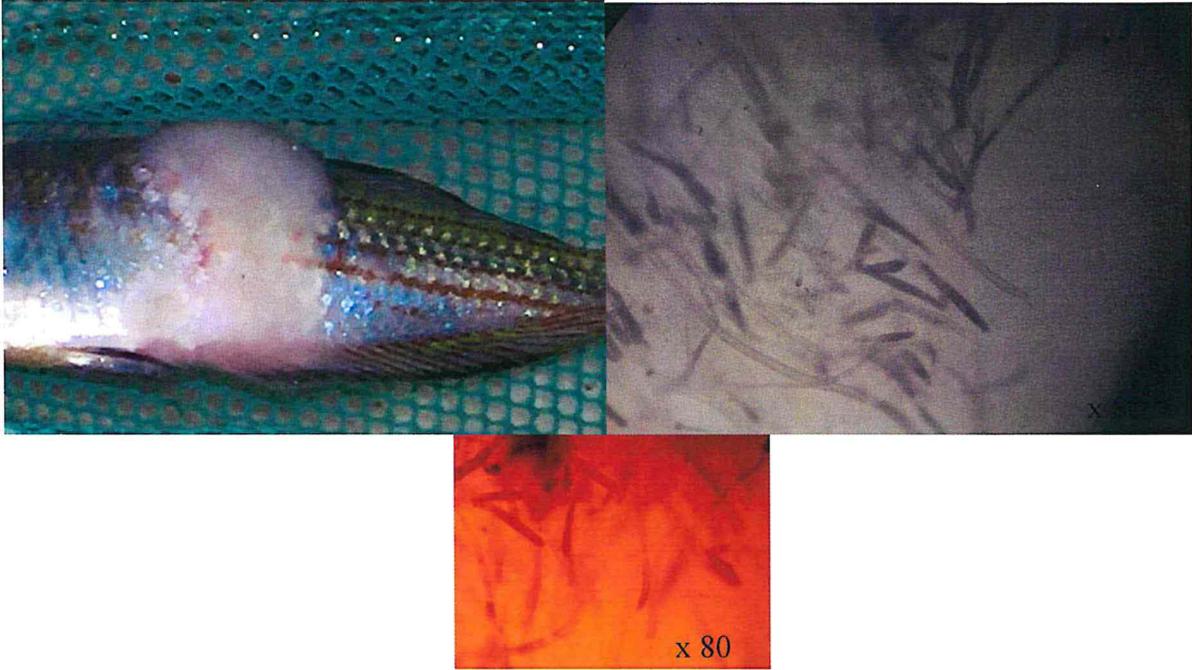


¥ You see some kind of worm, it can be attached to anywhere on the body. It's an **anchor worm** you can see it most of the time just behind fins, which is the most sensitive part of the fish body.



This fish should not be sold, so just *kill the fish* and put it into a bag and throw in the rubbish bin, a fish eating bird can spread this worm to another pond...

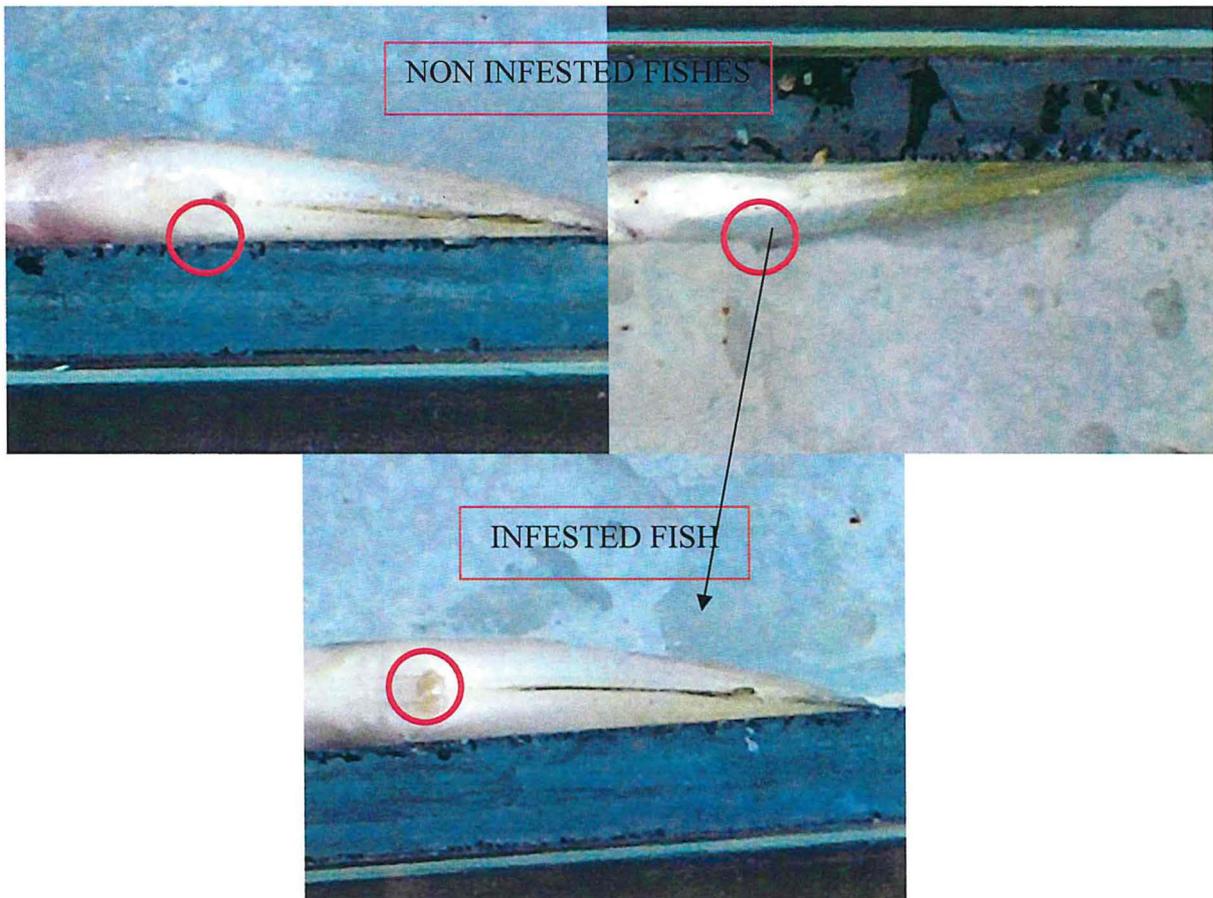
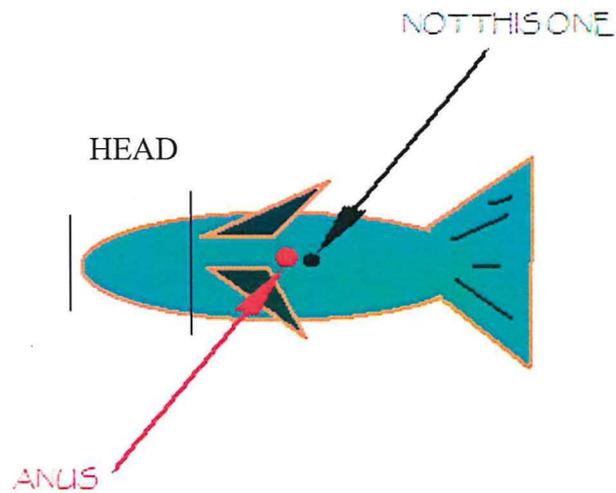
¥ You can see a something like cotton in the body of the fish; this is **fungus**.



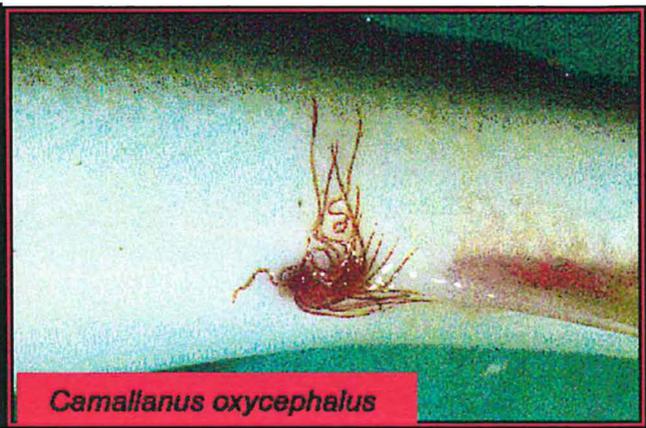
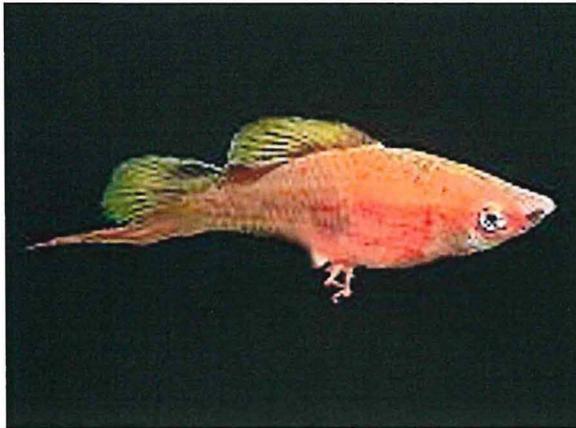
For the fungus it's some kind of string like cotton or something like that it looks like a big mess, this kind of disease is everywhere so it's easy to see but its development is the result of a weakness of the fish and attack the dead part of the skin (maybe due to another treatment, or another disease, an injury). Look for it but you can cure the fungus only with putting some *malachite green inside the fish tank, about 3ml per 100L.*

The anus

Check their anus if it's a bit dilated (compare to a young fish) and you can see some red thing hanging out of the anus you got a good chance that it is **Camallanus worm**.



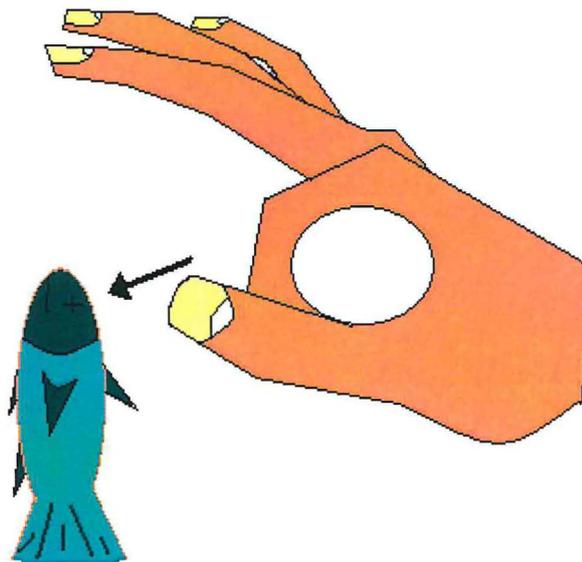
Put in the fish tank 2ml to 3ml for 200L of Ivermectin, this is the chemical and the name of the product can be Ivermec. 24h later put the same dose and the worm will be release into the tank or into the bag. You can also prepare some fish food with the cure. Take a little container and put some dust inside and add some Ivermectin till all the dust is wet. Wait for the dust to get dry again, and feed the infested tanks with it. Be careful some fish are very sensitive to this chemical, for example all the guppies, some rainbows like *Melanotaenia bosmonai* (for them the concentration must be below 1ml)... Ask before using this chemical.



How to dissect

Kill the fish

Flick the head with your finger



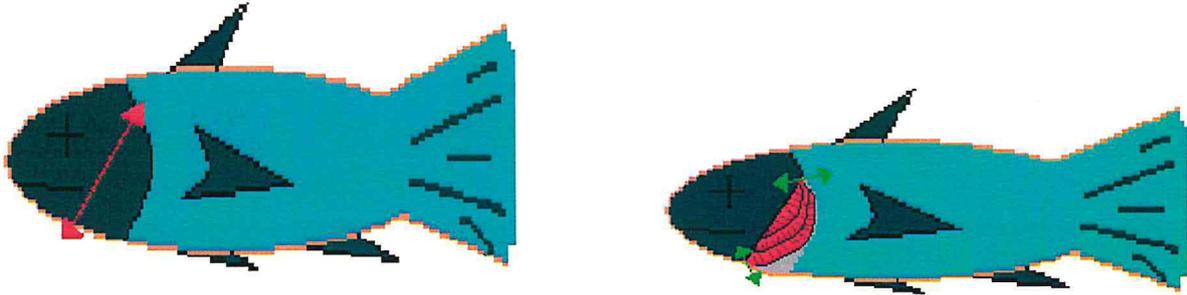
The skin

To check the skin, take a glass strip and scrape from the tail to the head; you should now have on the glass some mucus, if not, do it again or change the fish. Put it under the microscope, start always with the lowest magnificence, and go higher and higher, the thing you are looking for are some bacteria and also some fungus, bacteria are almost all round or in a column shape and you can see them moving if they don't it's not bacteria so don't panic. So if you get some

bacteria treat them only with *salt and tetracycline*, I didn't see any in 5 month, except on fishes in decomposition...

The gills

Just cut the skin of the fish, take tweezers and pull the operculum. Then cut it and you can see red structures, it's the gills. Cut the gills from each part one on the top and the other one on the bottom.

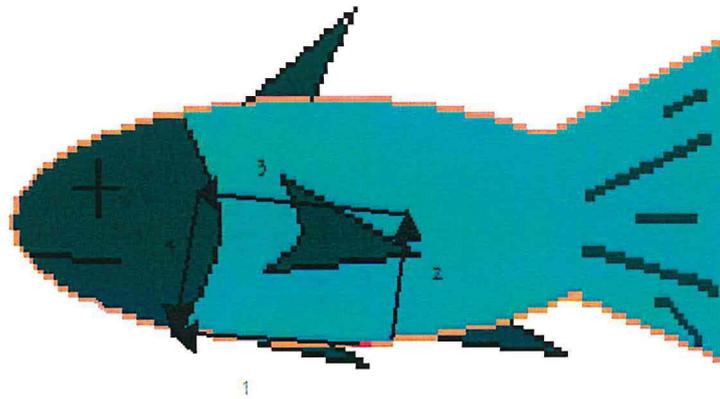


Take one gill, they are all stick together so be careful and be very meticulous to separate them.

You are looking for **bacteria**, shaped in column, and they hide between the slices of the gills, very difficult to see, *the salt can cure this but in high concentration*, like salt water (36%).

The inside

Now you open the fish: you can do this in 4 cut



Now you have a nice view on the inside of this fish, you should put one drop of water inside the cavity.

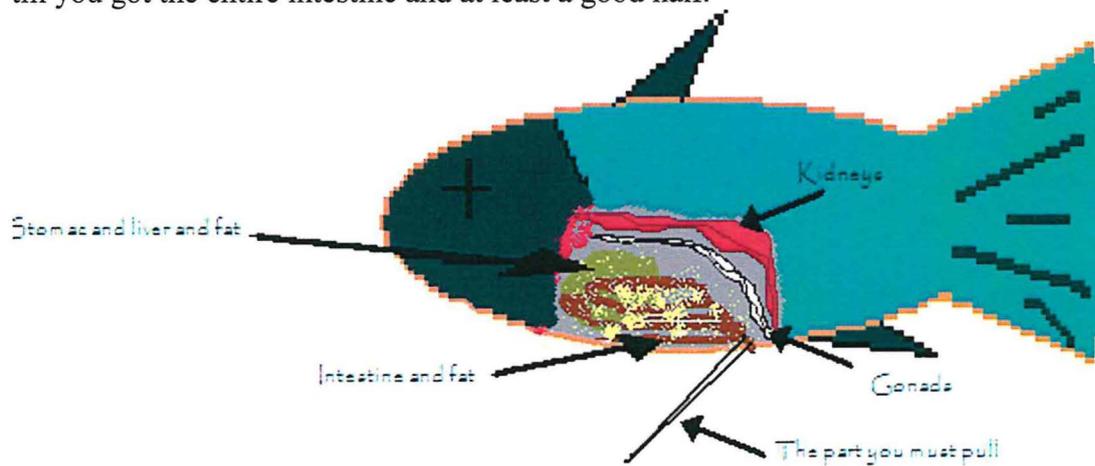
⚠ If you see some kinds of white things moving, it's the white worm, the fish is the intermediate host, and the bird the last one. This is a **tapeworm**; the best thing to do is to put some praziquantel inside the water of the tank *one dose for 200L* it's just enough.

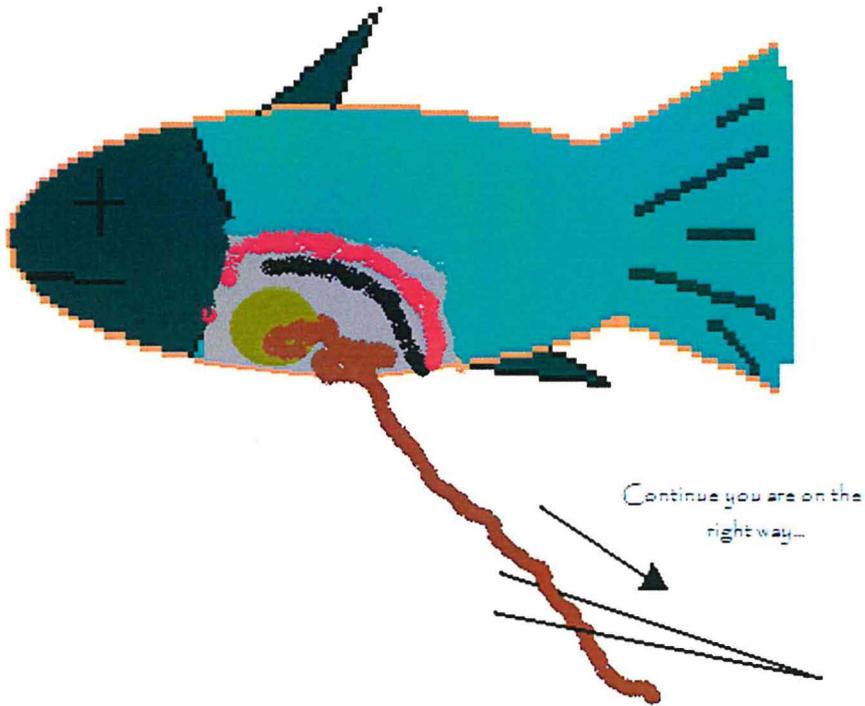


If there is nothing just continue your dissection

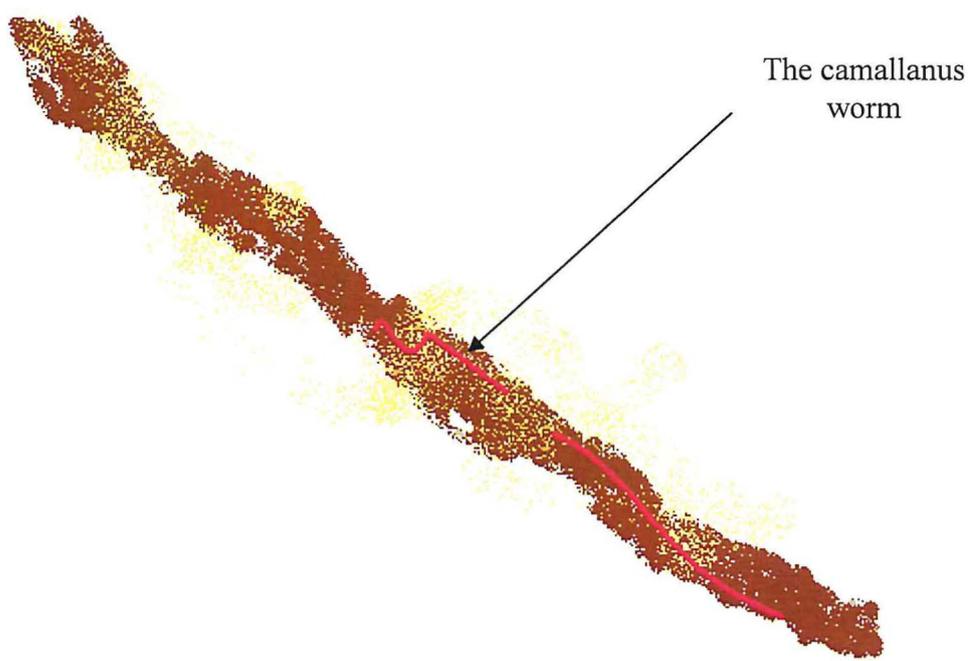
⚠ The other common disease you can see in this farm is the **camallanus worm**; it's in the end of the intestine.

You've got your fish open, just take from the anus the end of the intestine and pull till it breaks. If there is the worm you can already see it moving inside, otherwise continue to pull till you got the entire intestine and at least a good half.





This is what you are pulling for, just to have a look for the end of the intestine and see if the camallanus worm is there.



The cure is already, describe **page 3**, the chemical is *Ivomectin*. This cure is a two day treatment.

Find easily your disease with the pictures already recorded,
from this farm

Pictures already recorded of disease

Disease		Page
<i>Fungus</i>		2
<i>White spot, bacteria</i>		1
<i>Worms</i>	<i>Anchor worm</i>	1
	<i>Tapeworm</i>	5
	<i>Camallanus</i>	3

Book references

The science of fish health management, 1992. D John B. Gratzek.
Page 243, 249, 250, 265-268

Hand book of fish disease, 1989. Dr Herbert R. Axelrod.
Page 124-130

Diseases of fishes, 1969. Stanislauss F. Snieszko.
Page 44-47, 67, 75, 89-90, 92-95

Fish pathology, 1965. Heinz Hermann Reichenback, Klinke in collaboration with Marska
Landolt.
Page 282, 290, 291, 304, 309, 372

Diseases of aquarium fishes, 1971. Robert Goldstein.
Page 26-32, 47, 63-64, 81-85, 109-117

Cure and recognize aquarium fish diseases, 1974. De Gott Fried Schubert.
Page 29, 38-42, 48, 89, 92, 100, 104-105