



**Original Paper**

<http://ajol.info/index.php/ijbcs>

<http://indexmedicus.afro.who.int>

## Changements hématologiques associés à l'infection de *Aeromonas hydrophila* chez le tilapia *Oreochromis niloticus* (Linné, 1758)

Affoue Edwige KOUASSI<sup>1\*</sup>, Moussa Cisse<sup>1</sup>, Marina KOUSSEMON<sup>2</sup>,  
Allassane OUATTARA<sup>1</sup> et Germain GOURENE<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Département des Pêches et Aquaculture, Laboratoire d'Environnement et de Biologie Aquatique,  
02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire, Université Nangui Abrogoua, Côte d'Ivoire.

<sup>2</sup>Département des Sciences et Technologies des Aliments, Laboratoire de Microbiologie et Sécurité  
Alimentaire, 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire, Université Nangui Abrogoua, Côte d'Ivoire.

\*Auteur correspondant ; E-mail : [kouassiedwige@yahoo.fr](mailto:kouassiedwige@yahoo.fr), Tél : (+225) 59825427

### RESUME

Le profil de cellules sanguines chez le tilapia *Oreochromis niloticus* associé à une infection expérimentale par *Aeromonas hydrophila* a été évalué. A cet effet, un dispositif expérimental à trois répétitions a été réalisé sur des poissons de *Oreochromis niloticus* (35,1 ± 11,8 g) infectés par deux concentrations d'une suspension d'*Aeromonashydrophila* et leurs paramètres hématologiques ont été évalués après 48 heures. Les globules rouges ont diminué significativement ( $p < 0,05$ ), ce qui indique une anémie. La diminution a également affecté l'hématocrite, la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine, la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine et l'hémoglobine. Les globules blancs, principales cellules de défense des poissons, ont augmenté significativement ( $p < 0,05$ ), ce qui indique une sensibilité accrue des poissons au stress et à l'infection. Les lymphocytes et les éosinophiles ont augmenté significativement ( $p < 0,05$ ). Cette augmentation est une réponse physiologique au stress. Les neutrophiles et monocytes ont diminué, indiquant une réponse au stress et une sensibilité de poissons à l'infection. Ainsi, *Aeromonashydrophila* provoque des graves conséquences sur les paramètres hématologiques chez les poissons de *Oreochromis niloticus*, ce qui justifie son pouvoir pathogène chez ces poissons.

© 2019 International Formulae Group. All rights reserved.

**Mots clés :** *Oreochromis niloticus*, *Aeromonas hydrophila*, infection, hématologie.

## Hematological changes associated with experimental infection of *Aeromonas hydrophila* in *Oreochromis niloticus* (Linné, 1758)

### ABSTRACT

Blood cell profile in tilapia *Oreochromis niloticus* associated with experimental infection of *Aeromonas hydrophila* was evaluated. For this purpose, a three-repetition experimental device was performed on fish of *Oreochromis niloticus* (35.1±11.8 g) infected with two concentrations of a suspension of *Aeromonas*

*hydrophila* and their hematological parameters were evaluated after 48 hours. Red blood cells decreased significantly ( $p < 0.05$ ) indicating an anemic condition. The decrease also affected hematocrit, mean corpuscular hemoglobin, mean corpuscular hemoglobin concentration and hemoglobin. White blood cells, the main defense cells of the animal increased significantly ( $p < 0.05$ ) further indicating sensibility of the animal to stress and infection. Lymphocytes and eosinophils increased significantly ( $p < 0.05$ ). This increase is a physiological response to stress. Neutrophils and monocytes decreased, indicating a response to stress and sensibility of the animal to infection. Thus, *Aeromonas hydrophila* induces serious consequences on hematological parameters on fish of *Oreochromis niloticus*, which justifies its pathogenic power in this fish.

© 2019 International Formulae Group. All rights reserved.

**Keywords:** *Oreochromis niloticus*, *Aeromonas hydrophila*, infection, hematology.

---

## INTRODUCTION

Les facteurs environnementaux et physiologiques sont connus pour affecter de nombreux paramètres dans le sang. En outre, de nombreux facteurs environnementaux provoquent un stress chez les animaux. L'appréciation hématologique chez les animaux est d'un intérêt capital pour définir le diagnostic de nombreuses maladies (Diaby et al., 2016). Les études hématologiques présentent également des intérêts écologique et physiologique (Anderson, 2003). Ces études aident à comprendre le lien entre les caractéristiques du sang et la faculté d'adaptation de l'espèce à l'environnement. La bactérie *Aeromonas hydrophila* est couramment impliquée dans la mortalité massive de poissons (Cipriano, 2001 ; Sahoo et al., 2008). Shayo (2012) a rapporté que l'invasion et la colonisation de *Aeromonas hydrophila* ainsi que les toxines produites par cette bactérie envahissante ont provoqué une desquamation de la muqueuse intestinale des poissons. En effet, les métabolites toxiques produits par *Aeromonas hydrophila* sont absorbés par l'intestin, et ont entraîné une toxémie. L'objectif principal de cette étude est d'étudier les effets de l'infection par *Aeromonas hydrophila* sur certains paramètres hématologiques chez le tilapia du Nil *Oreochromis niloticus* dans des conditions expérimentales.

Le tilapia du Nil a été choisi comme modèle pour cette étude car il pourrait être exposé à la pollution bactérienne dans les structures d'élevage. Martins et al. (2008) ont

montré que les maladies bactériennes sont les plus importantes causes provoquant des pertes économiques dans la culture de tilapia. L'analyse de cette enquête a porté sur les paramètres hématologiques en raison de leur relation avec l'énergie (taux de glucose dans le sang), la respiration (taux de globules rouges, taux d'hématocrite et d'hémoglobine) et le mécanisme de défense (taux de globules blancs).

## MATERIEL ET METHODES

### Poissons et structure d'accueil

Soixante-trois poissons vivants, d'un poids moyen de  $35,1 \pm 11,8$  g et d'une longueur moyenne de  $12,2 \pm 0,9$  cm, récoltés dans une ferme privée de la région d'Agneby-Tiassa en Côte d'Ivoire, ont été répartis en 9 lots de 7 poissons dans des aquariums aérés et acclimatés pendant 7 jours. Pendant cette période, la température de l'eau a été maintenue à  $27,6 \pm 0,4$ °C, le pH à  $7,1 \pm 0,2$  et l'oxygène à  $5,4 \pm 1,7$  mg/L pour l'obtention d'une meilleure qualité de l'eau (Ghanbari et al., 2012 ; Kanohin et al., 2017).

### Préparation de l'inoculum et infection

*Aeromonas hydrophila* isolée de la peau du tilapia infecté dans cette étude a été utilisée, puis purifiée par strie sur un milieu sélectif, la gélose *Aeromonas* (Sarka et al., 2012). La souche a été confirmée comme *Aeromonas hydrophila* grâce au kit API 20E (BioMérieux, France) et par la détection moléculaire des gènes de virulence par PCR. Pour préparer l'inoculum, les bactéries ont été

diluées dans des tubes contenant du bouillon trypticase soja (BioRad, France) pour atteindre la concentration de  $10^9$  UFC/mL estimée par la méthode de dilution en série (1:10) selon Madigan et al. (2000). L'infection consistait en trois traitements en triplicat : un lot témoin de poissons non-infectés ; un lot de poissons infectés avec une faible concentration de  $6,2 \times 10^6$  UFC/mL de *Aeromonas hydrophila* et un lot de poissons infectés avec une forte concentration de  $2,4 \times 10^9$  UFC/mL de *Aeromonas hydrophila*.

### Prélèvement et analyses sanguins

Quarante-huit heures après l'infection, les poissons ont été anesthésiés par balnéation avec du méthane sulfonate tricaine (MS-222) (25 mg/L) et l'échantillon de sang a été recueilli par ponction veineuse en utilisant une seringue de 2,5 mL. Les échantillons de sang ont été placés dans les tubes destinés à l'analyse hématologique. Les paramètres hématologiques tels que les globules rouges, les globules blancs, les plaquettes, l'hémoglobine, la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine, la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine, le volume globulaire moyen, l'hématocrite et le nombre différentiel de globules blancs ont été mesurés à l'aide d'un automate d'hématologie de type URIT-3000Plus (Sakande et al., 2003).

### Analyse statistique

L'analyse de la variance à un facteur (ANOVA 1) a été appliquée pour comparer les variances des valeurs des paramètres hématologiques issues des lots de traitement des poissons. Le test HSD de Tukey a été utilisé là où l'ANOVA a indiqué des différences significatives afin de montrer le degré ou l'ampleur de cette différence entre les lots pris deux à deux. Le seuil de significativité de ces différents tests est de 0,05. Les conditions requises pour son application sont l'indépendance des données entre les lots ; la normalité de la distribution

des données dans chaque lot, et l'homogénéité des variances. Ces analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel R.

### RESULTATS

Les paramètres hématologiques chez le tilapia *Oreochromis niloticus* exposé à l'infection expérimentale par *Aeromonas hydrophila* et ceux du groupe témoin sont présentés dans le Tableau 1. Les globules rouges, l'hématocrite, la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine, la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine et l'hémoglobine du groupe témoin des poissons de *Oreochromis niloticus* ont été respectivement de  $3,03 \pm 0,3 \text{ } 10^6/\text{mm}^3$ ,  $27,2 \pm 0,4\%$ ,  $38,7 \pm 0,3 \text{ pg}$ ,  $39 \pm 9 \text{ g/dL}$ ,  $9,7 \pm 0,6 \text{ g/dL}$ . Il y avait des différences significatives ( $p < 0,05$ ) entre le groupe témoin et le groupe traité à la forte concentration ( $2,4 \times 10^9$  UFC/mL) de *Aeromonas hydrophila*. Les indices hématologiques ont également été affectés. Les résultats ont montré que les valeurs de ces paramètres diminuaient avec l'augmentation de la concentration ( $2,4 \times 10^9$  UFC/mL) de *Aeromonas hydrophila* dans les poissons de *Oreochromis niloticus*. Les plaquettes et le volume globulaire moyen ont augmenté dans les poissons de *Oreochromis niloticus* infectés avec la forte concentration de *Aeromonas hydrophila*. Le nombre de globules blancs et le nombre différentiel de globules blancs sont présentés dans le Tableau 2. Le nombre moyen de globules blancs a été de  $12,7 \pm 0,5 \text{ } 10^3/\text{mm}^3$  chez le témoin et augmentait de façon significative avec la forte concentration de *Aeromonas hydrophila*. Les valeurs moyennes des lymphocytes et des éosinophiles chez les poissons témoins étaient respectivement de  $67,3 \pm 10,2 \text{ } 10^3/\mu\text{L}$  et de  $2 \pm 0,001 \text{ } 10^3/\mu\text{L}$ . Ces valeurs ont augmenté avec l'augmentation de la concentration de *Aeromonas hydrophila*. Les neutrophiles et les monocytes ont également diminué avec l'augmentation de la concentration de *Aeromonas hydrophila* dans les poissons.

**Tableau 1 :** Globules rouges, les plaquettes et les indices hématologiques chez le tilapia *Oreochromis niloticus* exposé à l'infection par *Aeromonas hydrophila*.

	Lots de poissons de <i>Oreochromis niloticus</i> traités		
	Témoin	Faible concentration ( $6,2 \times 10^6$ UFC/mL) de <i>Aeromonas hydrophila</i>	Forte concentration ( $2,4 \times 10^9$ UFC/mL) de <i>Aeromonas hydrophila</i>
<b>Globules rouges</b> ( $10^6/\text{mm}^3$ )	3,03±0,3c	2,9±0,1b	3,02±0,8a
<b>Plaquettes</b> ( $10^3/\text{mm}^3$ )	243±3c	256±8b	275±14a
<b>Hémoglobine</b> (g/dL)	9,7±0,6a	8,5±1,7c	7,4±0,5b
<b>Hématocrite</b> (%)	27,2±0,4a	24,9±5,7c	17,9±0,4b
<b>Volume globulaire moyen</b> ( $\mu\text{m}^3$ )	94,6±9c	94,9±2b	97,2±3a
<b>Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine</b> (pg)	38,7±0,3c	31,5±0,14b	38,3±0,1a
<b>Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine</b> (g/dL)	39±9a	34±3c	35±6b

Les lettres dans les colonnes indiquent une différence significative entre les traitements de poissons ( $p < 0,05$ ).

**Tableau 2.** Globules blancs et le nombre différentiel de globules blancs chez le tilapia *Oreochromis niloticus* exposé à l'infection par *Aeromonas hydrophila*.

	Lots de poissons <i>Oreochromis niloticus</i> traités		
	Témoin	Faible concentration ( $6,2 \times 10^6$ UFC/mL) de <i>Aeromonas hydrophila</i>	Forte concentration ( $2,4 \times 10^9$ UFC/mL) de <i>Aeromonas hydrophila</i>
<b>Globules blancs</b> ( $10^3/\text{mm}^3$ )	12,7±0,5c	18,6±0,9b	26,7±0,7a
<b>Neutrophiles</b> ( $10^3/\mu\text{L}$ )	22,3±7,2a	18,5±3,5c	18,4±0,9b
<b>Lymphocytes</b> ( $10^3/\mu\text{L}$ )	67,3±10,2b	69,3±25,1c	76,7±20a
<b>Monocytes</b> ( $10^3/\mu\text{L}$ )	11±5,6b	7,5±0,001c	5,5±0,8a
<b>Eosinophiles</b> ( $10^3/\mu\text{L}$ )	2±0,001b	3±1,4c	3,3±1,1a

Les lettres dans les colonnes indiquent une différence significative entre les traitements de poissons ( $p < 0,05$ ).

## DISCUSSION

L'exposition de tilapia *Oreochromis niloticus* à l'infection par *Aeromonas hydrophila* a montré une diminution significative des valeurs érythrocytaires. L'hémoglobine et l'hématocrite ont diminué

avec la forte concentration de *Aeromonas hydrophila* dans les poissons de *Oreochromis niloticus*. La réduction observée de l'hémoglobine, du taux d'hématocrite et du nombre de globules rouges démontre et suggère une anémie chez les poissons infectés

par *Aeromonas hydrophila*. Un tel résultat a auparavant été obtenu par Rajendiran et al. (2008) qui ont montré une diminution du nombre de globules rouges, d'hémoglobine et d'hématocrite chez le poisson tête-de-serpent tacheté (*Channa punctatus*) infecté par *Aeromonas hydrophila*. Le faible niveau d'hémoglobine peut être le résultat du gonflement des globules rouges ainsi qu'une faible mobilisation d'hémoglobine de la rate vers d'autres organes hémopoïétiques (Yuet et al., 2010). La fonction principale des globules blancs semble être de défendre les poissons contre les corps étrangers, ce qui est obtenu par la leucocytose (Caruso, 2002). Le nombre total de globules blancs a augmenté avec la forte concentration de *Aeromonas hydrophila*. L'observation dans cette étude est similaire aux conclusions de Martins et al. (2008) dans lesquels il y avait une augmentation du nombre total de globules blancs chez le tilapia du Nil à mesure que le niveau de concentration de *Enterococcus* sp. augmentait. Ils ont fait valoir que l'augmentation du nombre total de globules blancs chez le tilapia pourrait être une combinaison du stress imposé par les toxines de la bactérie *Enterococcus* sp. Les valeurs des lymphocytes et des éosinophiles ont augmenté avec l'augmentation de la concentration de *Aeromonas hydrophila*. Cette augmentation est une indication du stress imposé par l'infection par *Aeromonas hydrophila* dans les poissons et confirme la conclusion de Caruso (2002) selon laquelle un stimulus de stress provoque une réaction de défense. Les neutrophiles et les monocytes ont été faibles avec l'augmentation de la concentration de *Aeromonas hydrophila* dans les poissons. Martins et al. (2002) ainsi que Martins et al. (2006) ont fait des observations similaires. Ils

ont souligné que les glucocorticoïdes provoquent la régression du tissu lymphoïde sous l'effet du stress. La réduction observée des neutrophiles et des monocytes pourrait être attribuée à l'effet de l'infection par *Aeromonas hydrophila* dans les tissus lymphoïdes qui s'est avéré causer la dépression des anticorps, migration altérée des cellules phagocytaires, moindre résistance aux virus et aux corps étrangers (Bozzo et al., 2007).

### Conclusion

L'augmentation de la concentration de *Aeromonas hydrophila* dans les poissons de *Oreochromis niloticus* a provoqué une perturbation hématologique caractérisée par la diminution du nombre total de globules rouges et une augmentation de globules blancs. Ces travaux ainsi réalisés peuvent contribuer à l'amélioration de la culture du tilapia en particulier et de tous les poissons de l'industrie aquacole en général. Ils permettront, en effet, la détection précoce des maladies et l'identification des conditions affectant la performance de production dans le système aquacole.

### CONFLIT D'INTERETS

Les auteurs déclarent qu'il n'y a pas de conflit d'intérêts.

### CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

Tous les auteurs ont contribué efficacement à la réalisation de ce travail à quelque niveau que ce soit. C'est ainsi que AEK a réalisé les expérimentations sous la supervision de MC qui a dirigé le travail. MK a contribué à l'analyse des résultats. Ces trois premiers auteurs ont analysé les résultats et rédigé l'article. Quant à AO et GG, ils ont, de

par l'entremise de leur service, certifié les résultats et contribué à l'amélioration de la version finale de l'article.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient, le Département de Biochimie Médicale du Centre Hospitalier Universitaire de Treichville pour la réalisation des tests biologiques.

## REFERENCES

- Anderson DP. 2003. *Disease of Fishes*. Narendra Publishing House, Delhi.
- Bozzo FR, Moraes JRE, Moraes FR, Pereira GT, Tavares-Dias M, Onaka EM. 2007. Kinetics of cellular component in inflammatory response induced by different stimuli in the swim bladder of pacu *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Characidae). *J. World Aquac. Soc.*, **38**(2): 302-308. DOI: Doi.org/10.1111/j.1749-7345.2007.00100.x.
- Caruso D, Schlumberger O, Dahm C, Proteau JP. 2002. Plasma lysozyme levels in sheatfish *Silurus glanis* (L.) subjected to stress and experimental infection with *Edwardsiella tarda*. *Aquaculture Research*, **33**(12): 999-1008. DOI: 10.1046/j.1365-2109.2002.00716.x.
- Cipriano RC. 2001. *Aeromonas hydrophila* and Motile Aeromonad Septicemias of fish. Fish Disease Leaflet 68. United States Department of the interior, Fish and Wildlife Service Division and Fishery Research Washington.
- Diaby V, Yapo AF, Adon AM, Yapi HF, Djama AJ, Dosso M. 2016. Biotoxicité hématologique du sulfate de cadmium chez les rats *Wistar*. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **10**(4): 1765-1772. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v10i4.25>
- Ghanbari M, Mansoureh J, Konrad JD, Wolfgang K. 2012. Long-term effects of water pH changes on haematological parameters in the common carp (*Ciprinus carpio* L.). *Afr. J. Biotechnol.*, **11**(13): 3153-3159. DOI: 10.5897/AJB10.1244.
- Kanohin F, Yapo OB, Dibi B, Bonny AC. 2017. Caractérisation physico-chimique et bactériologique des eaux souterraines de Bingerville. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **11**(5): 2495-2509. DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v11i5.43>
- Martins ML, Moraes FR, Fujimoto RY, Nomura DT, Fenerick J. 2002. Respostas do híbrido tambacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 macho x *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818 fêmea) aos estímulos simples ou consecutivo de captura. *B. Inst. Pesca, São Paulo*, **28**(2): 195-204.
- Martins ML, Moraes FR, Fujimoto RY, Onaka EM, Bozzo FR, Moraes JRE. 2006. Carrageenin induced inflammation in cultured *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes : Characidae) in Brazil. *B. Inst. Pesca, São Paulo*, **32**(1): 31-39.
- Martins ML, Mouriño JLP, Amaral GV, Vieira FN, Dotta G, Jatobá AMB, Pedrotti FS, Jerônimo GT, Buglione-Neto CC, Pereira-Jr G. 2008. Haematological changes in Nile tilapia experimentally infected with *Enterococcus* sp. *Brazilian Journal of Biology*, **68**(3): 657-661.
- Rajendiran A, Natarajan E, Subramania P. 2008. Control of *Aeromonas hydrophila* infection in spotted snakehead, *Channa punctatus*, by *Solanum nigrum* L., a

- medicinal plant. *J. World Aquac. Soc.*, **39**(3): 375-383. DOI: Doi.org/10.1111/j.1749-7345.200800163.x
- Sahoo PK, Das Mahapatra K, Saha JN, Barat A, Sahoo M, Mohanty BR. 2008. Family association between immune parameters and resistance to *Aeromonas hydrophila* infection in the indian major carp, *Labeo rohita*. *Fish and Shellfish Immunology*, **25**: 163-169. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>.
- Sakande J, Nikiema JB, Lompo M, Nacoulma OG, Bassene E, Guissou IP. 2003. Study of the effect of an isolated anti-inflammatory principle of *Borassus aethiopum* Mart's male inflorescences on the kinetics of Creactive protein (CRP). *Le pharmacien d'Afrique*, **166**: 7-11. DOI: 10.3923/ajbmb.2013.101.109.
- Sarkar A, Saha M, Roy P. 2012. Identification and typing of *Aeromonas hydrophila* through 16S rDNA-PCR fingerprinting. *Journal of Aquaculture Research and developpment*, **3**: 4. <https://www.omicsonline.org>.
- Shayo SD, Mwita CJ, Hosea K. 2012. Ulcerative *Aeromonas* infections in tilapia (Cichlidae : Tilapiini) from Mterahydropower dam, Tanzania. **1**: 115. DOI:10.4172/scientificreports.115.
- Yu JH, Han JJ, Park SW. 2010. Haematological and biochemical alterations in korean catfish *Silurus asotus*, experimentally infected with *Edwardsiella tarda*. *Aquaculture Research*, **41**(2): 295-302. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2009.02331.x.