

VARIATIONS TEMPORELLES DE *VIBRIO CHOLERAE* NON 01
ET CONDITIONS ENVIRONNEMENTALES DANS UN SITE AQUACOLE
(LAGUNE EBRIE, COTE D'IVOIRE)

TEMPORAL VARIATIONS OF *VIBRIO CHOLERAE* NON 01
AND ENVIRONMENTAL CONDITIONS IN AN AQUACULTURE FACILITY
(EBRIE LAGOON, COTE D'IVOIRE).

Par

ADINGRA A. A., D. GUIRAL et R. ARFI
Centre de Recherches Océanologiques
BP V 18 Abidjan, Côte d'Ivoire.

RESUME

Une étude du cycle annuel de *Vibrio cholerae* à la station d'aquaculture de Layo (lagune Ebrié, Côte d'Ivoire) couplée à une caractérisation physico-chimique des eaux et à une estimation de la richesse biologique du milieu a été menée de mars 1991 à avril 1992. La majorité des souches de *V. cholerae* isolées n'agglutinait pas avec l'antiserum polyvalent *V. cholerae* 01 et ont été regroupées sous la dénomination de *V. cholerae* non:01. Les eaux des étangs présentaient les indices d'abondance de *V. cholerae* non:01 les plus élevés, avec des évolutions saisonnières identiques dans les eaux et les sédiments de surface. Aux autres stations, ces indices étaient nettement plus faibles que ceux observés dans les étangs. Par contre, il n'est pas apparu de relation significative entre les évolutions au sein d'un même étang pour les communautés de *V. cholerae* pélagiques et benthiques. Les variations saisonnières des paramètres hydroclimatiques n'ont pas influé significativement sur les abondances de *V. cholerae*, dont la présence dans les eaux continentales et saumâtres (salinité variant de 0 à 26 o/oo) confirme le caractère euryhalin. Les possibilités d'adsorption de ce germe à

l'interface eau-sédiment, sur les matières en suspension, sur la cuticule du zooplancton et sur les racines des macrophytes aquatiques flottantes ont également été mises en évidence. Ces associations augmentent probablement la survie et les capacités de dissémination de cette bactérie dans l'environnement aquatique et contribuent ainsi au maintien d'un risque de contamination pour les populations riveraines.

Mots clés: *Vibrio cholerae*, milieu tropical saumâtre, lagune Ebrié.

ABSTRACT

The annual cycle of *Vibrio cholerae* in the environment surrounding the Layo aquaculture facility (Ebrié lagoon) was studied from March 1991 to April 1992. *V. cholerae* counts were coupled with the determination of physical and chemical characteristics of water and the estimation of biological richness of this environment. Most of *V. cholerae* strains isolated did not agglutinate in polyvalent *V. cholerae* 01 antiserum. Therefore, they were referred to *V. cholerae* non:01. The aquaculture ponds showed the highest abundance indexes of *V. Cholerae*, with identical seasonal

variations in surface waters and sediments. At the other stations, the abundance indexes of *V. cholerae* were lower than those observed in the ponds. At the opposite, there was no relation between variations in the same pond for the pelagic and benthic *V. cholerae* communities. For none of the stations studied, the seasonal variations of hydroclimatic parameters influenced significantly the abundance of *V. cholerae*. The presence of *V. cholerae* in continental and brackish waters (salinities ranging from 0 to 26 o/oo) confirmed its euryhaline nature. Fixation of *V. cholerae* at the water-sediment interface and on suspended materials and colonization of planktonic organisms and aquatic macrophyte floating roots were evidenced in this study. These associations could increase the survival and the ability of these bacteria to disseminate in the environment, therefore contributing to the maintenance of a high contamination risk for the riverine populations of the Ebrié lagoon.

Key words: *Vibrio cholerae*, tropical brackish environment, Ebrié lagoon.

INTRODUCTION

Le genre *Vibrio* (bâtonnet asporulé Gram⁽⁻⁾ de type fermentatif) correspond à des germes aquatiques ubiquistes. Il ne représente qu'un faible pourcentage des bactéries isolées des eaux marines ou estuariennes (Sieburt, 1971; Stevensen *et al.*, 1974). Ce genre est également observé au sein des sédiments marins, où il peut constituer jusqu'à 20% de la population bactérienne totale (Bianchi, 1971; Chamroux, 1973). Par contre, ces germes peuvent représenter plus de 50% des microflores internes et externes des copépodes zooplanctoniques (Bianchi, 1976) et sont susceptibles d'en constituer l'essentiel du peuplement bactérien (Kaneko & Colwell, 1973). Cette forte affinité des *Vibrio* avec le zooplancton a été confirmée par les travaux de Huq *et al.* (1983) mettant en évidence l'excrétion par le zooplancton 1) de composés chimiques qui favoriseraient les processus de

fixation et 2) de facteurs de croissance qui stimuleraient la production bactérienne. L'association de ces germes avec des bivalves filtreurs et des poissons a également été mise en évidence (Sarkar *et al.*, 1985).

De nombreux travaux ont été consacrés à l'écologie des vibrionacées, et en particulier à celle de *Vibrio cholerae* (Motes *et al.*, 1983; Hood *et al.*, 1984) responsable des épidémies de choléra. Bien que considéré comme la seule espèce d'origine continentale du genre *Vibrio* (Sakazaki *et al.*, 1981), *V. cholerae* est fréquemment isolé des eaux marines ou soumises à des influences océaniques. De ce fait, il est considéré comme un germe pathogène autochtone des milieux salés (Grimes *et al.*, 1986). Son écologie est grandement dépendante de la température (Williams & LaRock, 1985), de la salinité (Joseph *et al.*, 1983), du pH (Kaneko & Colwell, 1978) et des potentialités nutritionnelles du milieu (Singleton *et al.*, 1982). L'association avec des organismes supérieurs joue un rôle déterminant sur sa croissance, sa répartition et sa survie en milieu naturel (Nalin *et al.*, 1979).

Les régions bordant les plans d'eau sont souvent des foyers endémiques de choléra. En Côte d'Ivoire, des infections cholériformes affectent de façon sporadique les populations riveraines de la lagune Ebrié (Duchassin *et al.*, 1973; Dosso *et al.*, 1984). Leur localisation et leur fréquence laissent supposer une probable contamination par les eaux de la lagune, où aboutissent les effluents non traités de la ville d'Abidjan. En outre, les caractéristiques physiques et chimiques du milieu lagunaire favoriseraient le maintien et la prolifération des bactéries pathogènes du genre *Vibrio* (Lanusse & Guiral, 1988; Kouassi *et al.*, 1992). Les travaux antérieurs portant sur les vibrionacées (en particulier *V. cholerae* et *Aeromonas*) étaient surtout consacrés à des observations épidémiologiques à partir de cas recensés en milieu hospitalier (Dosso *et al.* 1984). Peu d'informations concernant les conditions écologiques et l'occurrence de ces germes dans le milieu naturel sont donc disponibles, et, en particulier, aucune étude décrivant les variations d'abondance des vibrionacées dans

l'environnement en relation avec les conditions hydroclimatiques de la lagune Ebrié n'a été réalisée.

En 1991, lors d'une recherche de routine d'agents infectieux susceptibles de provoquer des mortalités de poissons à la station d'aquaculture de Layo située en bordure de la lagune Ebrié, *V. cholerae* (sérotypage Ogawa) a été isolé du tube digestif d'un alevin d'*Heterobranchus longifilis*. Des tests n'ayant pas révélé la présence de malades ou de porteurs sains parmi les employés de la station, la présence du germe dans les élevages doit donc traduire une contamination plus générale de l'environnement. Le présent travail, développé afin de disposer d'informations fiables sur les risques réellement encourus dans un site aquacole, a également pour objet la description du cycle annuel de *V. cholerae* dans les divers hydrosystèmes (lagune, étangs et canaux d'irrigation) existant sur le site de Layo.

1 - MATERIEL ET METHODES

La lagune Ebrié (130 km de long, superficie de 542 km²) s'étend le long du littoral atlantique de la Côte d'Ivoire. Ce vaste plan d'eau de 4,8 m de profondeur en moyenne communique en permanence avec l'océan Atlantique par le canal de Vridi. La station d'aquaculture de Layo est implantée sur la rive Nord de la lagune, à 45 km à l'ouest d'Abidjan et à 3,5 km de l'embouchure d'un petit fleuve côtier, l'Agnéby (fig. 1).

1.1. Hydroclimatologie

Les hauteurs de pluies ont été mesurées à la station climatologique d'Adiopodoumé, située à 13 km à l'ouest de Layo. Les débits journaliers de l'Agnéby, mesurés près de son embouchure, ont été fournis par le service d'Hydrologie du Ministère du Transport et du Tourisme.

1.2. Echantillonnage

Les prélèvements ont été réalisés mensuellement de Mars 1991 à Avril 1992 en 6 points d'échantillonnage (Fig. 1):

- en lagune Ebrié, à proximité immédiate des enclos de grossissement et de conservation des géniteurs.

- dans les étangs E4 et E10 de la station de Layo (superficie 770 et 590 m² et profondeur 1,2 et 0,8 m, respectivement), utilisés pour le pré-grossissement de différentes espèces de poissons. Avant chaque phase d'exploitation, les étangs sont vidés, curés et chaulés. Leur mise en eau se fait ensuite progressivement par la remontée de la nappe phréatique superficielle et par les éventuelles précipitations.

- dans le drain d'évacuation des installations au sol de la station d'aquaculture, alimentées par de l'eau de lagune via un château d'eau.

- dans le canal d'irrigation du bassin du Nieki, débouchant à 1 km de la station et directement alimenté par les eaux de ruissellement d'une ancienne forêt marécageuse tourbeuse, occupée maintenant par une bananeraie.

- et en une station de référence éloignée de toute source de pollution située à 10 km à l'est de Layo, dans le chenal central de la lagune Ebrié (digue de Jacquerville).

Les échantillons d'eau prélevés en surface dans les différents milieux étaient stockés dans des bouteilles stériles. Dans les étangs, des échantillons de zooplancton et du sédiment de surface ont été également recueillis. Enfin, des rameaux submergés de *Salvinia molesta* et des racines de *Pistia stratiotes* ont été récoltés sur les berges de la lagune à proximité de Layo et dans le canal du Nieki. Les différents prélèvements étaient conservés à température ambiante (22-25°C) et analysés moins de deux heures après leur récolte.

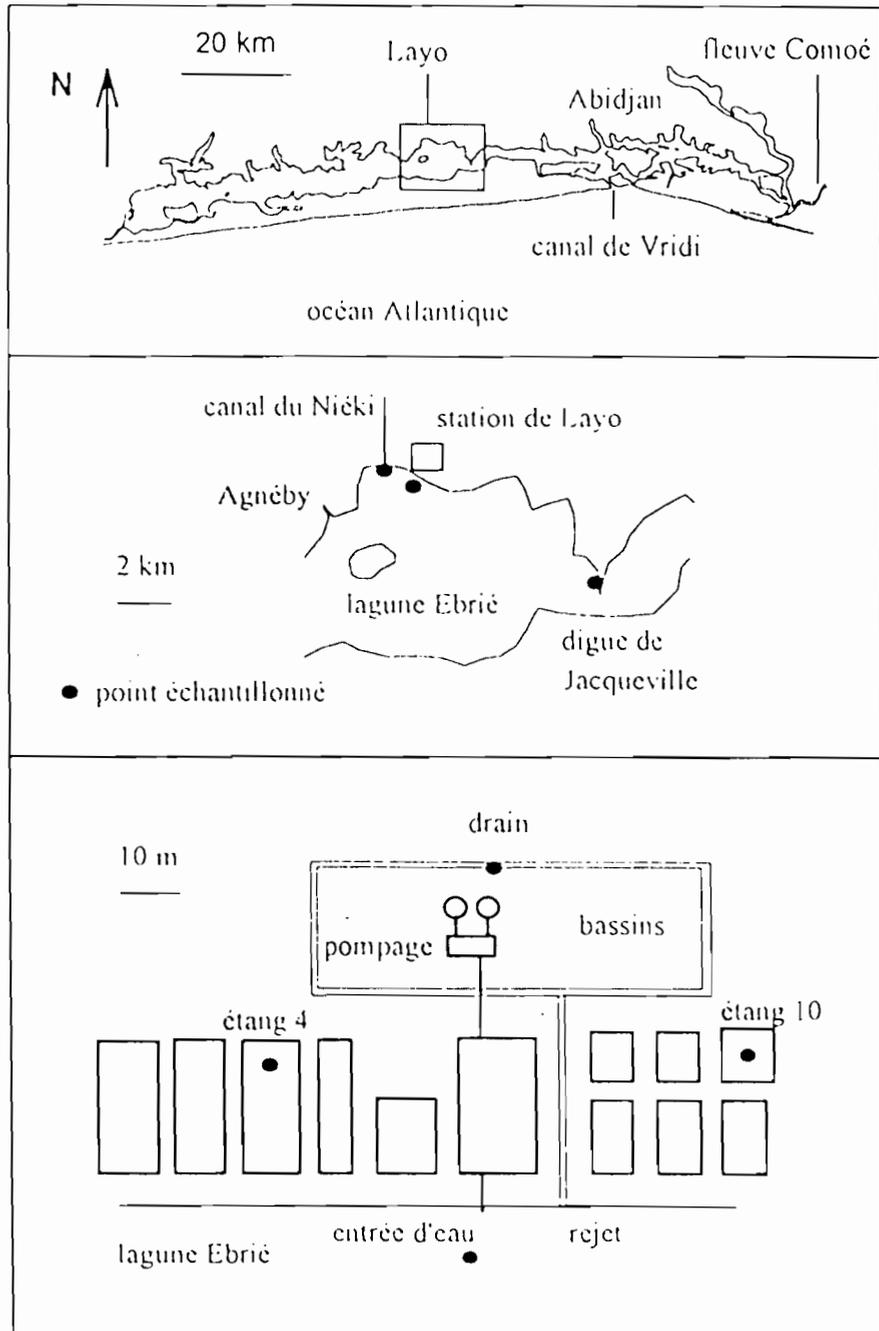


Figure 1. Situation géographique et plan de la station d'aquaculture expérimentale de Layo. Les stations de prélèvements sont indiquées par un rond noir.

Geographical location and map of the experimental aquaculture facility of Layo. Sampling stations are shown by dark spots.

1.3. Analyses physico-chimiques

Les températures étaient mesurées in situ. Les mesures de pH et de conductivité à 25°C étaient réalisées au laboratoire à l'aide d'un pH-mètre Metrohm 605 et d'un conductimètre Tacussel.

1.4. Analyses biologiques

Les concentrations en chlorophylle "a" ont été mesurées par fluorimétrie après extraction au méthanol du phytoplancton retenu sur membrane GF/F. L'identification et le dénombrement du zooplancton retenu sur une toile de 63 µm de vide de maille et fixé au formaldéhyde (concentration finale 4%) ont été effectués à l'aide d'une loupe binoculaire.

1.5. Analyses bactériologiques

Les comptages des bactéries totales (fixées au formaldéhyde 2% en concentration finale, conservation à basse température) ont été réalisés par microscopie en épifluorescence selon le protocole de Porter et Feig (1980) en utilisant le 4'6 diamino-2-phényl indole (DAPI) comme fluorochrome. L'estimation du nombre de *V. cholerae* présent dans l'eau et les sédiments a été réalisée après dilution décimale (à raison de 3 tubes par dilution) et enrichissement. Pour tous les triplicats, deux cultures successives dans un bouillon nutritif (bio-trypcase) alcalin (pH 8,6) et salé (10 g l⁻¹ NaCl) ont été incubées pendant 24 heures à 37°C. Le voile de surface se développant dans le dernier milieu d'enrichissement était ensuite ensemencé sur milieu solide Thiosulfate-Citrate-Bile salt-Sucrose (TCBS Biomérieux) et incubé à 37°C pendant 24 heures. Les étalements conduisant à une décoloration du milieu (du vert au jaune) étaient considérés comme positifs. A partir de la fréquence des tubes négatifs pour les diverses dilutions d'un même échantillon, les nombres moyens de bactéries ont été estimés par la méthode du nombre le plus probable (Sorokin & Kadota, 1972) selon un mode de calcul développé par Peto (1953). Les densités de bactéries TCBS (+) dans l'eau ont été regroupées en une

cotation d'abondance relative basée sur les logarithmes des valeurs (0: moins de 10 bactéries pour 100 ml ; 1: faible abondance, 10 à 100 bactéries pour 100 ml ; 2: abondance moyenne, 100 à 1000 bactéries pour 100 ml ; 3: forte abondance, 1000 à 10000 bactéries pour 100 ml ; 4: très forte abondance, plus de 10000 bactéries pour 100 ml).

Après purification des souches (3 isollements par échantillon), l'appartenance des bactéries à l'espèce *V. cholerae* était vérifiée sur une galerie simplifiée (tableau 1). Les tests d'agglutination ont été réalisés sur les souches isolées présentant les caractères biochimiques des *V. cholerae* en utilisant l'antisérum polyvalent de *V. cholerae* 01 (Institut Pasteur, Paris).

Tableau 1 : Caractéristiques culturaux, morphologiques et biochimiques des souches de *Vibrio cholerae*.

[+] ou [-] = caractère positif ou négatif de la majorité des souches; [V] = caractère variable.

Cultural, morphological and biochemical characteristic of *Vibrio cholerae* strains.[+] or [-] = négatif or positif characteristic of the majority of the strains; [V] = variable characteristic.

Tests	Réactions
Sensibilité au 0/129.....	+
Gram.....	-
Mobilité.....	+
Croissance en eau peptonée à 0%	+
Croissance en eau peptonée à 8%	-
Croissance à 42°C.....	+
ONPG.....	+
Urée.....	-
Indole.....	+
Lysine decarboxylase.....	+
Onithine decarboxylase.....	+
Arginine dihydrolase.....	-
Gaz à partir du glucose.....	-
Oxydase.....	+
VP.....	-
Saccharose.....	+

Sur des aliquotes de zooplancton et des parties immergées des macrophytes rincées à l'eau physiologique stérile, la recherche qualitative de *V. cholerae* 01 a été réalisée par enrichissement dans des bouillons nutritifs alcalins de salinité égale à 0 et 30 g l⁻¹.

1.6. Traitement statistique des données

Les analyses statistiques ont été menées à l'aide de tests non paramétriques (Mann et Whitney pour les comparaisons de deux moyennes, Kruskal-Wallis pour les ANOVA à 1 facteur, Spearman pour les corrélations de rang). Une présentation synthétique des résultats regroupant les variables hydroclimatiques (pluviométrie, température), physico-chimiques (conductivité, pH) et biologiques (concentration en chlorophylle "a", abondances bactériennes et de *V. cholerae*) a été réalisée au moyen d'analyses en composantes principales.

2 - RESULTATS

2.1. Données hydroclimatiques

Les hauteurs de pluie cumulées et les débits de l'Agnéby observés entre mars 1991 et avril 1992 sont présentés figure 2. Les précipitations survenues d'avril à juillet 1991 (grande saison des pluies) ont représenté 73% du total pour la période considérée, tandis que celles survenues en octobre et novembre 1991 (petite saison des pluies) constituaient 13% de ce total. L'hydrogramme de l'Agnéby montrait deux épisodes de crue, centrés respectivement sur les mois de mai et juillet avec des débits journaliers maximaux de 3,0 et 3,7. 10⁶ m³ j⁻¹. La décrue s'est prolongée jusqu'à la mi-août, soit un mois après le dernier épisode pluvieux important. Enfin, il faut remarquer que la seconde saison des pluies n'a pas engendré d'augmentation notable des débits. Avec un déficit annuel des précipitations supérieur à 750 mm (précipitations moyennes annuelles pour la période 1980-1986: 2020 mm), l'année 1991 correspond à une année sèche.

Ce caractère atypique est renforcé si l'on se réfère à l'hydrologie de l'Agnéby (Guiral, 1992) car la crue centrée sur le mois d'octobre, habituellement la plus importante d'une année moyenne, a été inexistante en 1991.

2.2. Données physico-chimiques

Température: au cours de la période d'étude, la température de l'eau a varié entre 22,5 et 37,2°C (fig. 3a). Les valeurs les plus fortes (34 à 37°C) étaient observées aux six stations pendant le mois mai, en fin de grande saison sèche. Les valeurs minimales (22 à 28°C) ont été relevées en janvier, mais ce refroidissement avait des causes différentes selon les stations. La diminution de la température de l'air en période d'Harmattan a surtout influencé les eaux continentales, tandis que la baisse des températures océaniques liée à l'upwelling qui s'installe en janvier face au littoral ivoirien concernait surtout les eaux lagunaires.

Conductivité: les stations sous influence continentale ont présenté les conductivités à la fois les plus basses et les moins variables. Dans le canal du Neki, la conductivité moyenne était de 3,32 mS cm⁻¹, avec un maximum de 9,43 mS cm⁻¹ en septembre. Dans les étangs E4 et E10, les valeurs moyennes étaient respectivement de 6,40 et 6,97 mS cm⁻¹, et hormis des valeurs très basses relevées en juin lors de la grande saison des pluies, les conductivités y ont montré des fluctuations de faible amplitude. Les eaux du drain de Layo et celles de la lagune face à la station ont présenté des caractéristiques identiques (moyennes respectives 7,71 et 7,61 mS cm⁻¹, même type de variations saisonnières), reflétant, en plus atténuées, les conditions régnant à la station de référence de Jacquville. Dans le chenal central de la lagune, la conductivité moyenne était de 17,6 mS cm⁻¹, avec des valeurs faibles au cours de la grande saison des pluies et des valeurs élevées entre les mois de janvier et de mars, conséquence de l'intrusion des eaux océaniques en lagune (fig. 3b).

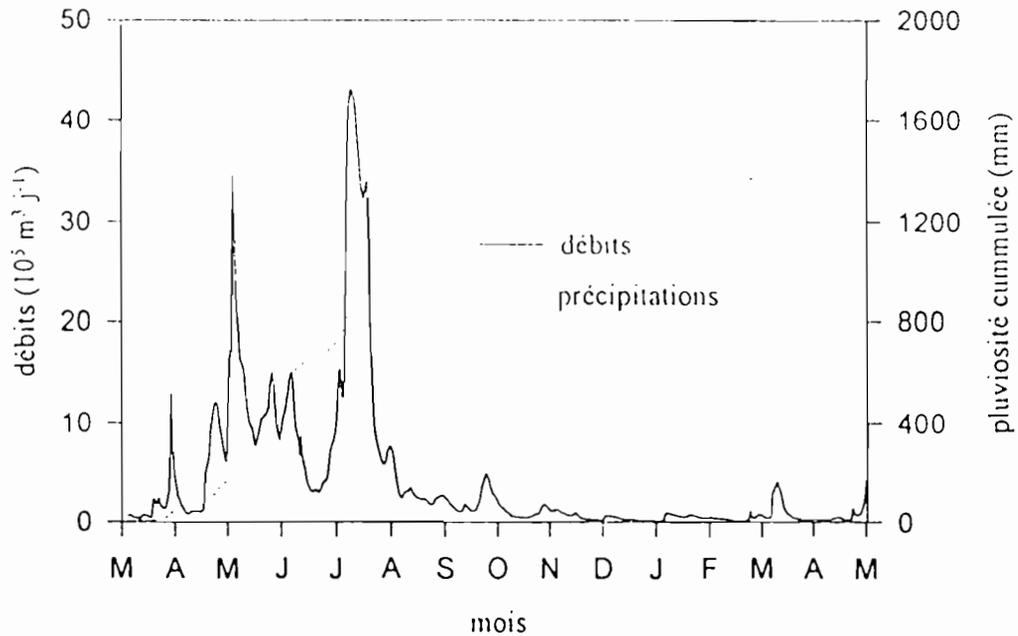


Figure 2. Précipitations cumulées et débits journaliers du fleuve Agnèby enregistrés entre mars 1991 et avril 1992

Accumulated values of rainfalls and daily river flows (Agnèby) recorded between march 1991 and april 1992.

pH : les eaux du canal du Nièki étaient en permanence acides (pH moyen 6,1), avec des valeurs minimales comprises entre 5,5 et 6,0. Elles peuvent ainsi être considérées comme d'origine essentiellement continentale sans influence notable des eaux lagunaires. Les valeurs observées dans les étangs étaient plus variables, avec des pH parfois alcalins en raison du caractère mixte de leur alimentation - nappes phréatiques et précipitations - et des fortes activités biologiques qui s'y développent (fig. 3d). Enfin, les pH des stations lagunaires étaient en général proches de la neutralité, avec des variations saisonnières significativement corrélées avec celles de la conductivité et de la température des eaux. Les pH de la station de Jacquville étaient plus élevés que ceux des eaux de la lagune à Layo en raison de la plus faible influence continentale.

2.3. Données planctoniques

Les biomasses chlorophylliennes les plus élevées étaient observées dans les étangs E4 et E10 (valeurs moyennes 165,7 et 204,3 mg m^{-3}) et les plus faibles dans le drain (moyenne de 6,9 mg m^{-3}). Les étangs étaient en outre caractérisés par une très forte variabilité temporelle, les forts développements transitoirement observés masquant une éventuelle évolution saisonnière (fig. 3c). Ces fluctuations de grande amplitude qui se produisent dans un contexte globalement eutrophe étaient précédées d'interventions liées à la gestion des étangs (vidange et chaulage de l'étang E4 en avril et pêche des poissons pour l'étang E10 en décembre). Les proliférations algales observées dans les étangs seraient donc en relation avec le mode de gestion de ces

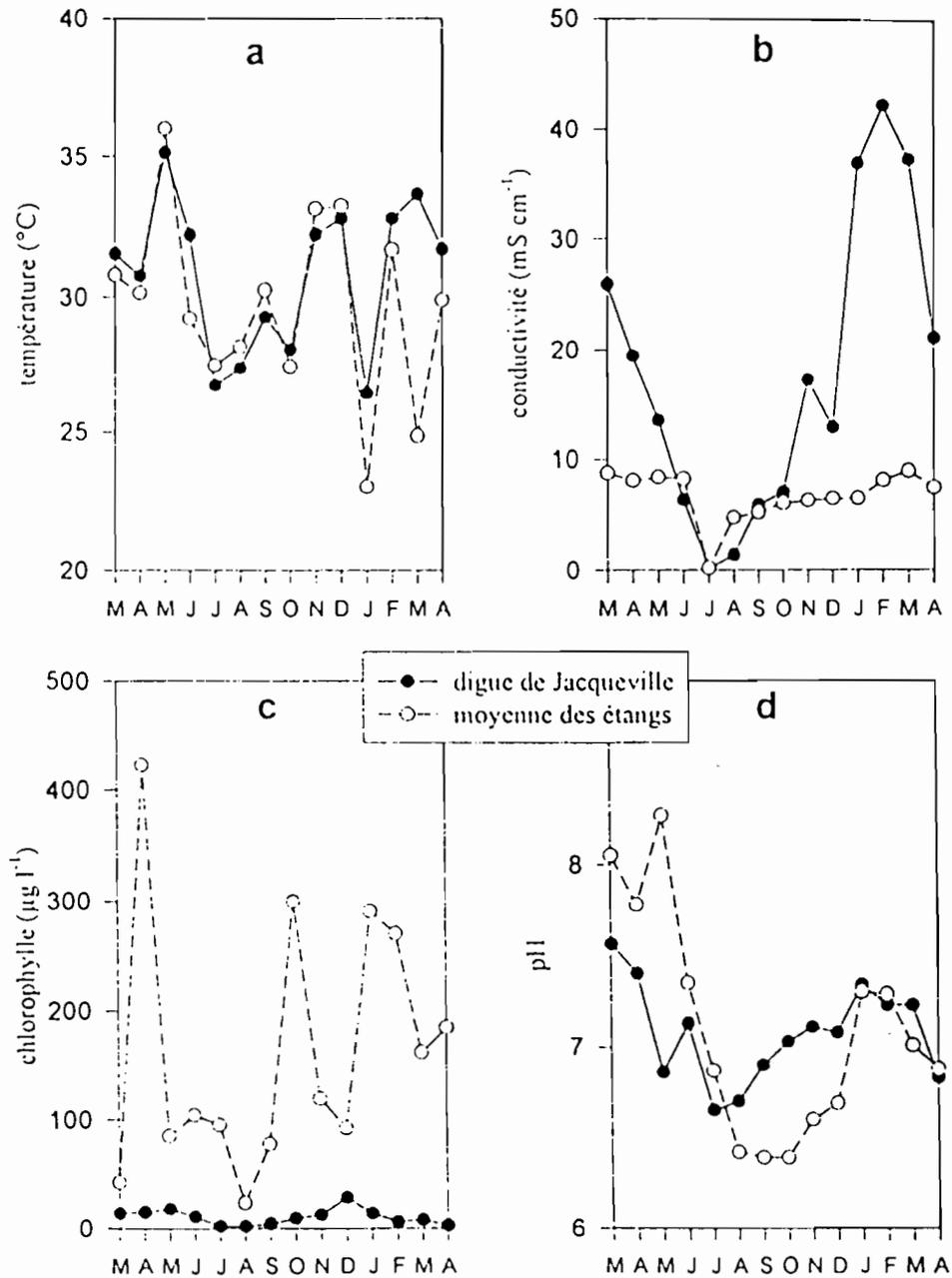


Figure 3a. Evolution mensuelle de la température à la station de Jacquville et de la moyenne des températures de l'eau des étangs E4 et E10

Monthly variations of the temperature at the station of Jacquville and the mean values of water temperatures in the ponds E4 and E10

b. Evolution mensuelle de la conductivité à la station de Jacquville et de la moyenne des conductivités de l'eau des étangs E4 et E10

Monthly variations of the conductivity at the station of Jacquville and the mean values of water conductivities in the ponds E4 and E10

c. Evolution mensuelle des concentrations en chlorophylle "a" à la station de Jacquville et de la moyenne des concentrations en chlorophylle "a" de l'eau des étangs E4 et E10

Monthly variations in chlorophyll "a" concentrations at the station of Jacquville and the mean concentrations in chlorophyll "a" of water in the ponds E4 and E10

d. Evolution mensuelle du pH à la station de Jacquville et de la moyenne des pH de l'eau des étangs E4 et E10

Monthly variations of the pH at the station of Jacquville and the mean values of water pH in the ponds E4 and E10

milieux, et de ce fait, peu affectées par la variabilité climatique. Les stations lagunaires présentaient des variations saisonnières caractérisées par des valeurs faibles de juillet à septembre (fin de la grande saison de pluies) et fortes en décembre et février (début de la grande saison sèche). Enfin, les eaux du canal du Nieki présentaient une biomasse chlorophyllienne plus élevée que celle des eaux lagunaires, avec de soudaines et brutales poussées algales.

Les évolutions des communautés zooplanc-toniques étaient très différentes dans les deux étangs étudiés. Les copépodes (essentiellement représentés par le genre *Apocyclops*) ont présenté une population stable dans l'étang E4, avec des densités importantes observées lors de la petite saison des pluies, tandis qu'ils n'ont été abondants dans l'étang E10 qu'au cours de la grande saison sèche. Les rotifères (appartenant principalement au genre *Brachionus*) ont présenté une évolution plus erratique dans les deux étangs, ces organismes filtreurs phytophages étant contrôlés à la fois par l'amont (via la biomasse phytoplanc-tonique) et par l'aval (via la prédation par les organismes zooplanctonophages et en particulier *Apocyclops*).

2.4. Données bactériologiques

2.4.1. Les bactéries dans l'eau libre et à la surface du sédiment

Les abondances bactériennes les plus élevées (en moyenne 10^8 bactéries ml^{-1}) ont toujours été observées dans les eaux des étangs, avec des valeurs moyennes nettement supérieures à celles relevées aux autres stations. Dans les eaux du canal du Nieki, du drain et de la lagune à proximité de Layo, les densités bactériennes sont restées relativement stables au cours de l'étude (Cv de l'ordre de 30%). A l'opposé, les variations saisonnières étaient plus marquées à Jacqueline (Cv supérieurs à 50%) avec un minimum en août et un maximum en janvier.

Les eaux des étangs E4 et E10 présentaient le plus souvent de forts ou très forts indices d'abondance de *V. cholerae* (avec des maximums respectifs de 1 et 13.10^6 bactéries pour 100 ml). Les eaux collectées par le drain présentaient le plus souvent des indices supérieurs à ceux relevés dans la lagune Ebrié, mais aussi parfois plus forts que dans l'un ou l'autre des étangs. L'essentiel des prélèvements réalisés aux stations lagunaires montraient des indices d'abondance nettement moins élevés, avec des évolutions saisonnières caractérisées par des fortes variations. En dépit d'une origine exclusivement continentale, les eaux du canal du Nieki présentaient des indices d'abondance de *V. cholerae* parfois supérieurs à ceux observés dans les eaux de la lagune Ebrié face à la station de Layo (Fig. 4). Les indices les plus élevés correspondaient le plus souvent aux échantillons présentant des conductivités comprises entre 7,5 et $10,0 \text{ mS cm}^{-1}$. Pour les eaux de conductivité inférieure 5 mS cm^{-1} , les fluctuations étaient plus importantes mais les indices généralement plus faibles. Enfin, pour des conductivités supérieures à $12,5 \text{ mS cm}^{-1}$, les indices d'abondance de vibrions étaient toujours faibles, avec peu de variation (ces échantillons correspondaient pour la plupart à la station de référence de Jacqueline).

Exprimées en nombre de bactéries pour 100 ml, les abondances de *V. cholerae* étaient indépendantes de la température et de la conductivité pour toutes les stations échantillonnées, alors qu'elles étaient inversement corrélées aux concentrations en chlorophylle "a" pour les eaux des stations lagunaires. Malgré une richesse trophique, une organisation et une succession des communautés biologiques différentes dans chacun des sites échantillonnés, les abondances de *V. cholerae* suivaient les mêmes évolutions saisonnières dans les eaux et les sédiments de surface des étangs E4 et E10 (coefficients de corrélation du rang de Spearman: $0,69^*$ pour les eaux et $0,77^{**}$ pour les sédiments). Par contre, il n'existait pas de relation au sein d'un même étang entre les évolutions de *V. cholerae*

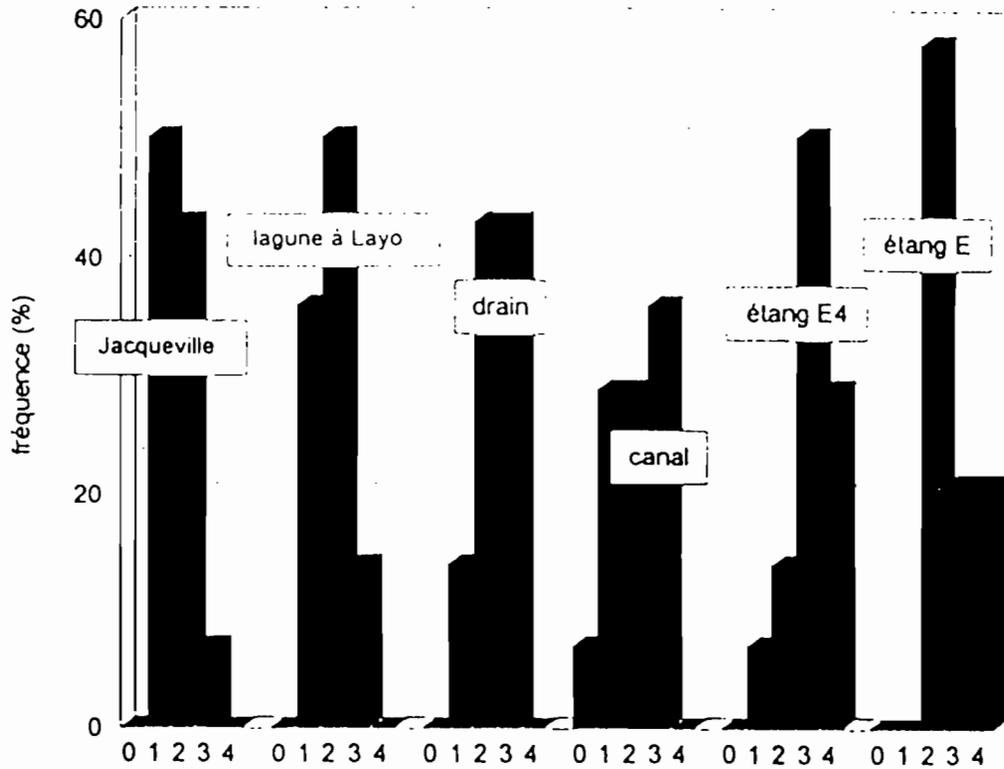


Figure 4 : Fréquence des indices d'abondance de *Vibrio cholerae* aux différentes stations étudiées.

Vibrio cholerae abundance frequency indexes at the different stations studied.

au sein des communautés pélagiques et benthiques. Dans l'étang E10, les abondances étaient comparables pour les eaux et les sédiments de surface, alors que dans l'étang E4, on observait des abondances nettement plus élevées dans les sédiments, sans évolution saisonnière bien marquée. A l'opposé, le cycle annuel était mieux individualisé dans les eaux, et caractérisé par des abondances plutôt faibles en novembre et décembre et plutôt élevées au cours de la grande saison sèche.

La majorité des souches isolées et purifiées et pour lesquelles l'appartenance à l'espèce *V. cholerae* a été vérifiée n'agglutinait pas avec l'antisérum polyvalent *V. cholerae* 01. Les bactéries TCBS positives dénombrées au cours de cette étude correspondent de ce fait à diverses espèces regroupées classiquement sous la dénomination de *V. cholerae* non agglutinable (nag) ou *V. cholerae* non 01. Il

faut cependant préciser que depuis cette étude, des souches de *V. cholerae* El Tor sérotype Ogawa ont été isolées de l'environnement du site de Layo (dans les eaux de la lagune, du drain et de l'étang E10, et à partir du zooplancton et des sédiments de l'étang E4).

2.4.2. Les bactéries associées au zooplancton et aux racines de macrophytes

La recherche de *V. cholerae* associée au zooplancton dans les étangs d'aquaculture a toujours été positive, mais la méthodologie mise en oeuvre n'a pas permis de déterminer les abondances moyennes par individu. De même, il n'a pas été possible de comparer les variations saisonnières des vibrions associés au zooplancton à celles des caractéristiques des communautés zooplanctoniques ni aux densités

de *V. cholerae* dans les eaux libres et les sédiments de surface.

De la même manière, la recherche de *V. cholerae* associé aux racines de *Salvinia molesta* qui colonisaient les berges de la lagune face à la station de Layo s'est toujours révélée positive. Par contre, et pour les deux gammes de conductivité testées, des enrichissements réalisés à partir des racines de *Pistia stratiotes* recueillies mensuellement dans le canal du Neki n'ont pas permis l'isolement de *V. cholerae*. En effet, après purification, la plupart des souches cultivées sur milieu TCBS et caractérisées par une oxydation du sucrose ne possédaient pas d'oxydase. Ainsi, l'éventuelle contribution des macrophytes aquatiques flottantes au maintien de *V. cholerae* dans les milieux étudiés semble différer selon l'espèce considérée. Cependant, la présence intermittente dans les eaux lagunaires de *P. stratiotes*, espèce continentale, et l'absence de *S. molesta* des eaux strictement continentales du canal du Neki ne permettent pas d'exclure un rôle possible des conditions du milieu sur les différences observées quant aux capacités d'adsorption de *V. cholerae* sur les racines des macrophytes.

2.4.3. Analyses statistiques

Des ANOVA non paramétriques ont montré que l'effet site était significatif pour toutes les variables testées à l'exception de la température. Les regroupements des stations dont les moyennes ne sont pas significativement différentes ont été réalisés au classements confirment la spécificité des communautés biologiques des étangs (très fortes biomasses phytoplanctoniques, densités bactériennes totales et en Vibrionacées TCBS (+) élevées), alors que leur contexte environnemental ne diffère pas significativement de ceux des autres stations échantillonnées à la station d'aquaculture.

moyen du test de Tukey (tableau 2). Ces

DISCUSSION

En comparant les cycles saisonniers des indices d'abondance de *V. cholerae* dans les eaux des six stations suivies, on a pu mettre en évidence 3 types d'évolution saisonnière correspondant respectivement aux stations lagunaires (Jacqueville, lagune à Layo et eau du drain), à la station sous forte influence continentale (canal du Neki) et aux sites aquacoles eutrophes (étangs E4 et E10). Ces regroupements traduisent de fortes similitudes dans la nature et l'origine des eaux qui alimentent ces trois milieux, mais également une évolution bioclimatique commune. La présence fréquente de *V. cholerae* dans les différents milieux de la station aquacole de Layo et leur abondance dans les étangs comme dans les eaux de drainage confirme les relations étroites entre ces germes et les activités piscicoles. Une telle situation a été rapportée par Bruni *et al.* (1986) pour qui ce type de germe représente une fraction importante de la population bactérienne dans les eaux utilisées pour des élevages aquacoles.

V. cholerae est un germe euryhalin, rencontré dans de nombreux écosystèmes estuariens et côtiers (Roberts *et al.*, 1982). Au cours de la présente étude, *V. cholerae* a été observé dans une gamme de conductivité allant de 0 (eau strictement continentale) à 45 mS cm⁻¹ (salinité de 26 g l⁻¹ environ). Sur le site de Layo, les plus fortes présences correspondaient à des conductivités de l'ordre de 10 mS cm⁻¹ (soit des eaux de salinité d'environ 6 g l⁻¹). Cette salinité est plus basse que celles observées dans deux estuaires de Floride (densité maximale pour des eaux de salinité comprise entre 10 et 25 g l⁻¹, Hood *et al.*, 1984) et très inférieure à celles observées près des côtes du Japon (densités maximales pour des eaux de salinité moyenne de 28 g l⁻¹, Venkateswaran *et al.*, 1989). Cependant, les maximums rapportés par cette dernière étude concernent un site portuaire soumis à d'importants rejets domestiques et industriels,

Tableau 2 : Regroupement et ordination (ANOVA non paramétrique puis test de Tukey), pour une variable donnée, des stations ne présentant pas de différences significatives entre elles au sein d'un même cadre, les ensembles différant significativement étant dans des cadres séparés.

Grouping and ordination (non parametric ANOVA and Turkey test), for a giving variable, the stations that are not significantly different are in the same box, those that are significantly different, being in different boxes.

Température (°C)	canal étang E10 étang E4 drain Layo Jacqueline					
	28,0 29,6 29,7 30,1 30,5 31,0					
Conductivité (mS cm ⁻¹)	canal	étang E4 étang E10 drain Layo				Jacqueline
	3,32	6,40 6,97 7,61 7,71				17,65
pH	canal	drain	Layo	étang E4	étang E10	Jacqueline
	6,09	6,89	6,91	7,06	7,12	7,24
Chlorophylle "a" (µg l ⁻¹)	drain	Jacqueline	Layo	canal	étang E4	étang E10
	6,9	10,3	11,1	19,2	165,7	204,3
log des densités bactériennes	drain	canal	Layo	Jacqueline	étang E4	étang E10
	6,7	6,7	6,8	7,0	8,0	8,1
log des densités de <i>V. cholerae</i>	Layo	Jacqueline	drain	canal	étang E4	étang E10
	3,6	3,7	4,1	4,2	6,3	7,1

et cette forte abondance dans des eaux de salinité élevée pourrait à la fois correspondre au caractère euryhalin de *V. cholerae* et refléter les conditions eutrophes du milieu.

L'importance des conditions environnementales comme facteur explicatif de l'abondance de *V. cholerae* dans un site donné a été aussi observée au cours de la présente étude. En effet, les stations les plus eutrophes (étang E4 et E10) étaient caractérisées par les plus forts indices d'abondance de *V. cholerae*. Mais dans les eaux du canal du Nieki et les eaux de la lagune face à la station d'aquaculture, l'abondance de *V. cholerae* et les concentrations en chlorophylle "a" ont varié de

manière opposée. Ce phénomène pourrait être expliqué par la sensibilité de ces germes aux excréments phytoplanctoniques, constitués en majorité d'acide glycolique pouvant inhiber la croissance des vibrions (Baumann *et al.*, 1973; Bianchi, 1976).

A l'échelle annuelle, les variations saisonnières des paramètres hydroclimatiques n'ont pas influé significativement sur les abondances de *V. cholerae*. Cette absence de corrélation avec la température est un fait original, car ce paramètre est considéré comme l'un des facteurs déterminants de l'évolution saisonnière des *V. cholerae* en milieu estuarien et côtier, un optimum thermique situé entre 21

et 28°C étant généralement déterminé en milieu naturel (Seidler & Evans, 1984). Cette indépendance vis à vis des conditions thermiques observées à Layo peut résulter :

1) de la plus forte homothermie annuelle des eaux lagunaires (Cv. de l'ordre de 10%) comparativement à celle des autres milieux étudiés (par exemple Cv. supérieurs à 30% pour les eaux côtières au Japon, (Venkateswaran *et al.*, 1989),

2) des fortes températures relevées à Layo, qui se situent en général toutes au dessus de la valeur seuil de 28°C pour laquelle a été observée une très forte diminution du nombre de *V. cholerae* (Roberts *et al.*, 1984).

Les abondances élevées de *V. cholerae* présents à la surface du sédiment des étangs confirment le rôle possible de cette interface comme site de maintien, voire de prolifération de ces bactéries, en raison de sa richesse en matière organique et de l'importance de la matière particulaire qui accroît les possibilités de fixation. Cette adsorption semble en effet permettre un meilleur taux de survie des vibrionacées.

Des associations de type épibiontique, en particulier l'adsorption sur des organismes zooplanctoniques, ont été démontrées expérimentalement (Huq *et al.*, 1983) pour *V. cholerae* et confirmées in situ pour *V. parahaemolyticus*, en particulier lors de sa phase de diapause benthique (Kaneko, T. & Colwell, 1978). Néanmoins, il n'existe pas d'observations en milieu naturel qui permettent de conclure à cette phase de développement épibiontique pour *V. cholerae*. Au cours de la présente étude, les recherches de présence de *V. cholerae* en association avec le zooplancton se sont toujours révélées positives, comme l'association avec les racines de *S. molesta* colonisant les berges de la lagune Ebrié. A l'opposé, les enrichissements réalisés à partir des racines de *P. stratiotes* se sont tous révélés négatifs, sans qu'il soit cependant possible d'exclure un effet de la nature des eaux. Des travaux expérimentaux ayant démontré une augmentation de la survie de *V. cholerae* El Tor (et donc un accroissement de ses capacités de dissémination) lors de sa fixation sur les

racines d'*Eichhornia crassipés* (Spira *et al.*, 1981), un phénomène similaire pourrait être possible en lagune Ebrié, avec les mêmes incidences pour la santé des populations riveraines.

CONCLUSION

La présente étude suscitée par la présence de *V. cholerae* El Tor au sein d'un élevage aquacole situé en bordure de la lagune Ebrié a confirmé l'abondance de *V. cholerae* dans ce type d'environnement. La majorité des souches isolées aux différentes stations n'agglutinait pas avec l'antiserum polyvalent de *V. cholerae* 01, mais des souches de *V. cholerae* sérotype Ogawa ont été isolées de l'environnement de Layo. Les abondances les plus importantes ont été observées dans les milieux en relation avec les activités aquacoles (étangs et drain d'évacuation des eaux d'alimentation des bacs d'élevage). En outre, il semble exister pour cette bactérie des possibilités de fixation sur les matières en suspension à l'interface eau-sédiment, le zooplancton et les racines des macrophytes aquatiques flottantes qui colonisent les berges lagunaires. Des recherches complémentaires sur l'importance de ce phénomène d'adsorption et son incidence sur la survie de *V. cholerae* devraient maintenant être entreprises, car les sites étudiés paraissent 1) favorables au maintien de densités importantes de ces germes et 2) constituent des foyers d'endémisme du choléra. De ce fait, ces milieux sont susceptibles d'être périodiquement contaminés par des vibrionacées pathogènes et l'implantation d'un site d'aquaculture extensive dans un tel contexte impose donc au minimum une surveillance périodique de la qualité bactériologique des eaux et des productions aquacoles.

BIBLIOGRAPHIE

- Baumann P., L. Baumann et J.L. Reichelt, 1973. Taxonomy of marine bacteria: *Beneckea paraheamolytica* and *Beneckea alginolytica*. *J. Bacteriol.*, 113, 1144-1155.

- Bianchi A., 1971. Ecologie et taxonomie des bactéries hétérotrophes aérobies des sédiments marins. Leur participation à la dégradation des matières organiques. Thèse de Doctorat d'Etat, Université d'Aix-Marseille, n° C.N.R.S. A.O. 5223, 221 pp.
- Bianchi M., 1976. Etude taxonomique et distribution écologique des bactéries vibroïdes du milieu marin. Thèse de Doctorat d'Etat, Université d'Aix-Marseille II, n° C.N.R.S. A.O. 7981, 111 pp.
- Bruni V., Crisafi E., Maugeri L.T. et Zaccone R., 1986. Isolement et identification de vibrions halophiles d'une station expérimentale de mariculture. GERBAM. Deuxième Colloque International de Bactériologie Marine. CNRS, Brest, 1-5 octobre 1984. IFREMER, *Actes de Colloques*, 3, 475-481.
- Chamroux S., 1973. Contribution à l'étude des bactéries réduisant le nitrate dans les sédiments marins. Thèse de Doctorat d'Etat, Université d'Aix-Marseille, n° C.N.R.S. A.O. 8460, 149 pp.
- Dosso M., Duchassin M., Lombardo A., Koné M. et Edoh V., 1984. Cas sporadiques ou début d'une nouvelle épidémie de choléra ? *Bull. Soc. Path. Exot.*, 76, 121-125.
- Duchassin M., Clerc C., Bourgeade A. et Hosotte M. T., 1973. Survie du vibron cholérique El Tor dans les eaux de lagune d'Abidjan. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 66, 679-684.
- Grimes D.J., Atwell W.R., Brayton P.R., Palmer M.L., Rollins M.D., Roszak B.D., Singleton L.F., Tamplin L.M. et Colwell R.R., 1986. The fate of enteric pathogenic bacteria in estuarine and marine environments. *Microbiol. Sci.*, 3, 324-329.
- Guiral D., 1992. L'instabilité physique, facteur d'organisation et de structuration d'un écosystème tropical saumâtre peu profond: la lagune Ebrié. *Vie Milieu*, 42, 73-92.
- Hood M.A., Ness E.G., Rodrick E.G. et Blake J.N., 1984. The ecology of *V. cholerae* in two Florida estuaries. In R. R. Colwell (Ed.). *Vibrios in the environment*. John Wiley and Sons. Inc. New York, pp. 399-409.
- Huq A., Small E.B., West P.A., Huq M.I., Rahman R. et Colwell R.R., 1983. Ecological relationships between *Vibrio cholerae* and planktonic crustacean copepods. *Appl. Environ. Microbiol.*, 45, 275-283.
- Joseph S.W., Colwell R.R. et Kaper B.J. 1983. *Vibrio paraheamolyticus* and related halophilic vibrios. *Crit. Rev. microbiol.*, 10, 77-124.
- Kaneko T. et Colwell R.R., 1973. Ecology of *Vibrio paraheamolyticus* and related organisms in Chesapeake Bay. *J. Bacteriolol.*, 11, 24-32.
- Kaneko T. et Colwell R.R., 1978. The annual cycle of *Vibrio paraheamolyticus* in Chesapeake Bay. *Microbiol. Ecol.*, 4, 135-155.
- Kouassi A.K., Guiral D. et Dosso M., 1992. Ecology of halophilic vibrios in an eutrophic tropical estuary. *Rev. Int. Océanogr. Méd.*, 107-108, 24-39.
- Lanusse A. et Guiral D., 1988. Suivi annuel de la contamination bactérienne et virale des eaux et des sédiments lagunaires au niveau d'Abidjan. *Oceanis*, 14, 71-87.
- Motes Jr M.L., Zywno S.R., DePaola A., Becker R.E. et Presnell M.W., 1983. Isolation of *Vibrio cholerae* serotype Ogawa from a Florida estuary. *Appl. Environ. Microbiol.*, 45, 321-322.

- Nalin D.R., Daya V., Reid A., Levine M. M. et Cisneros L., 1979. Adsorption and growth of *Vibrio cholerae* on chitin. *Infect. Immun.*, 25, 768-770.
- Peto A., 1953. Dose-response equation for the invasion of micro-organisms. *Biometrics.*, 9, 320-335.
- Porter K.G. et Feig S.Y., 1980. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol. Oceanogr.*, 25, 943-948.
- Roberts N.C., Siebeling J.R., Kaper B. et Bradford B., 1982. Vibrios in the Louisiana Gulf Coast environment. *Microb. Ecol.*, 8, 299-312.
- Roberts, N.C., Bradford B.H. Jr et Barbay R.J., 1984. Ecology of *V. cholerae* serovars from surface waters in Western Colorado. *Appl. Environ. Microbiol.*, 51, 1216-1219.
- Sakazaki R. et Balows A., 1981. The genera *Vibrio*, *Plesiomonas*, and *Aeromonas*. A Handbook on Habitats, Isolation, and Identification of Bacteria. In: Starr, P.M, Stolp, H., Trüper, G.H., Balows, A. & Schlegel, G.H. (Ed.), The Prokaryotes, vol II, Springer-Verlag, Berlin., pp.1272-1301.
- Sarkar B.L., Balahrish Nair G., Banerje A.K. et Pal S.C., 1985. Seasonal distribution of *Vibrio paraheamo-lyticus* in freshwater environs and in association with freshwater fishes in Calcutta. *Appl. Environ. Microbiol.*, 49, 132-136.
- Seidler R.J. et Evans M. T., 1984. Computer assisted analysis of *Vibrio* field data: four coastal areas. In R.R. Colwell (Ed.). Vibrios in the environment. John Wiley and Sons. Inc. New York., pp. 411-425.
- Siebert J. Mc N., 1971. Distribution and activity of oceanic bacteria. *Deep Sea Res.*, 18, 1111-1122.
- Singleton F.L., Atwell R., Jangi S. et Colwell R.R., 1982. Influence of salinity and organic nutrient concentrations on survival and growth of *Vibrio cholerae*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 44, 1047-1058.
- Spira M.W., Huq A., Ahmed S.Q. et Saeed A.Y., 1981. Uptake of *V. cholerae* biotype El Tor from contaminated water by water hyacinth (*Eichornia crassipes*). *Appl. Environ. microbiol.* 42, 550-553.
- Sorokin Y.I. et Kadota H., 1972. The determination of microbial numbers and biomass. In: Techniques for the assessment of microbial production and decomposition in freshwaters. *IBP handbook*, 23, Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 40-76.
- Stevensen L.H., Millwood C.E. et Heberler B.H., 1974. Aerobic, heterotrophic, bacterial populations in estuarine water and sediments. In: Effects of ocean environment on microbial activities. Colwell, R.R. & Morita, R.Y. (Ed.), University Park Press, Baltimore, pp. 268-285.
- Venkateswaran K., Takai T., Navarro M.I., Nakano H., Hashimoto H. et Siebeling J.R., 1989. Ecology of *Vibrio cholerae* non-01 and *Salmonella spp.* and role of zooplankton in their seasonal distribution in Fukuyama coastal waters, Japan. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55, 1591-1598.
- Williams L.A. et LaRock P.A., 1985. Temporal occurrence of *Vibrio* species and *Aeromonas hydrophila* in estuarine sediments, *Appl. Environ. Microbiol.*, 50, 1490-1495.

Adingra A.A., Guiral Daniel, Arfi Robert (1998)

Variations temporelles de *Vibrio cholerae* NON 01 et conditions environnementales dans un site aquacole (lagune Ebrié, Côte d'Ivoire)

Journal Ivoirien d'Océanologie et de Limnologie, 3 (1), 1-15

ISSN 1018-0354