

Les probiotiques et l'élevage d'holothuries

Hirimuthugoda Nalini Yasoda^{1,2,*}, Zhenming Chi¹ et Zhu Kai Ling¹

Résumé

L'essor de l'élevage d'holothuries devrait entraîner l'apparition de nouvelles maladies dans un avenir proche. Afin de prévenir les maladies liées à l'aquaculture, on utilise généralement les antibiotiques en grande quantité même si leur application illimitée se solde par l'apparition de nouveaux pathogènes virulents. La méthode consistant à utiliser des probiotiques est rapidement en train de faire de nombreux adeptes grâce à son efficacité en matière de lutte contre les microorganismes pathogènes. Cet article met l'accent sur l'utilisation des probiotiques pour lutter contre les pathogènes dans le cadre de l'élevage d'holothuries.

Introduction

L'holothurie est l'échinoderme le plus largement consommé et ce, depuis la nuit des temps. Même si la pêche de l'holothurie a une histoire ancienne, l'aquaculture des holothuries s'est seulement développée au cours des dernières décennies. Cette activité est désormais bien établie dans de nombreux pays tels que l'Australie, la Chine, les Îles Galapagos, l'Indonésie, le Japon, la Malaisie et les Philippines (voir Conand 2004 pour un tour d'horizon). Les produits bruts étaient consommés à l'intérieur des pays producteurs, alors que les produits transformés étaient pour l'essentiel exportés vers la Chine, Hong Kong, et Taiwan (Conand 2004; Vannuccini 2004).

Les bêtes-de-mer sont consommées non seulement pour leurs propriétés gustatives mais également pour leurs vertus médicinales. Elles sont en effet couramment utilisées pour traiter l'anémie, l'impuissance, la constipation et la miction fréquente (Hamel et Mercier 2004). Elles sont également très riches en vitamines, en oligo-éléments, en polysaccharides (sulfate de chondroïtine), qui soulagent les douleurs arthritiques et inhibent l'activité virale, et en glycosides saponines qui inhibent l'activité cancéreuse (Hamel et Mercier 2004).

L'augmentation rapide de la demande commerciale a débouché sur une surexploitation des populations naturelles d'holothuries dans le monde entier. Résultat: des entreprises pérennes disposant de techniques d'écloserie modernes ont été mises sur pied dans plusieurs pays. Vu la faible consommation d'oxygène des holothuries, certains entrepreneurs se sont lancés dans l'élevage mixte de crevettes et d'holothuries, rentable sur le plan économique sans avoir besoin de prévoir un système d'aération supplémentaire ni un renouvellement fréquent de l'eau (Hamel et Mercier 2004). L'essor rapide de l'élevage intensif a conduit à une augmentation des diverses maladies pathogènes qui sont devenues une contrainte majeure pour la filière. En l'absence d'informations relatives aux maladies et aux mesures préventives, il est difficile de garantir les bénéfices attendus par la filière en cas d'épidémie.

Les holothuries sont sujettes aux infections par des parasites, notamment par des protozoaires, des bactéries, et des métazoaires (Becker et al. 2003; Eeckhaut et al. 2004). La forte densité d'animaux dans les bacs d'écloserie et dans les bassins favorise la propagation des pathogènes, et le milieu aquatique (avec adjonction régulière d'aliments riches en protéines) est idéal pour le développement des microorganismes pathogènes ou non. Même en l'absence de bactéries ou de virus pathogènes, les aquaculteurs utilisent les antibiotiques en grandes quantités comme mesure de prophylaxie. Résultat: on constate une augmentation du nombre de bactéries désormais résistantes à de multiples antibiotiques et du nombre de pathogènes fortement virulents. Par conséquent, l'utilisation de bactéries bénéfiques qui ralentiraient le développement des bactéries pathogènes sous l'effet d'une concurrence directe est une meilleure solution que l'administration d'antibiotiques. Cet article a pour objet de débattre de l'opportunité d'utiliser des probiotiques, comme méthode écologique et biologique de lutte contre les maladies dans le cadre de l'élevage d'holothuries.

Maladies des holothuries et microorganismes associés

Comme l'élevage d'holothuries est une activité relativement nouvelle, les connaissances relatives à l'émergence de maladies dans cette activité sont limitées par rapport à celles relatives aux maladies observées dans d'autres filières aquacoles majeures sur le plan économique. Toutefois, l'atelier sur "les progrès dans l'aquaculture et la gestion des concombres de mer" qui s'est tenu en Chine en 2003, a permis de mettre en lumière plusieurs maladies que l'on retrouve dans le monde entier et qui concernent différentes espèces.

Très peu d'études ont porté sur l'identification des agents causaux des maladies touchant les holothuries. Zhan et Yu (1993) ont identifié des sporozoaires parasites. La plupart de ces parasites sont présents dans le système hémal et dans les intestins des holothuries.

Afin de recenser les maladies microbiennes, Sun et Chen (1989) ont conduit des études sur l'île de Ling Shan (Chine) et ils ont isolé 11 genres de bactéries provenant

1. UNESCO Chinese Center of Marine Biotechnology, Ocean University of China, No. 5, Yushan Road, Qingdao, Chine
 2. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Ruhuna, Mapalana, Kamburupitiya, Sri Lanka
 * Auteur correspondant: nyhirimuthugoda@yahoo.com

de la partie antérieure et de la partie postérieure des intestins, du liquide coelomique, et du tégument de *Stichopus japonicus*. Les bactéries appartenaient aux genres suivants: *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Xanthomonas*, *Corynebacterium*, *Caulobacter*, et *Alcaligenes*. Quatre genres de levure ont également été découverts dans des holothuries (*Torulopsis*, *Rhotorula*, *Cryptococcus* et *Debaryomyces*); et, dans les milieux vaseux, *Achromobacter* et *Bacillus* étaient les genres dominants. Les souches de *Bacillus* se retrouvent communément dans la vase mais on en a retrouvées quelques unes chez l'espèce *Stichopus japonicus* (Sun et Chen 1989).

Dans l'écloserie Aqualab, à Madagascar, une dermatose ulcéreuse très contagieuse est apparue sur un juvénile d'*Holothuria scabra* et s'est rapidement propagée (Becker et al. 2003). On a également relevé cette maladie chez *Apostichopus japonicus* en Chine, chez *Isostichopus fuscus* en Équateur, et chez *H. scabra* en Australie et en Nouvelle-Calédonie (Becker et al. 2003). Les conclusions de cette étude indiquent qu'une combinaison d'événements et d'agents, notamment des bactéries, est nécessaire pour provoquer la maladie. On a identifié chez les animaux malades des espèces *Vibrio* (proche de *V. harvey* et *V. alginolyticus*), des espèces bactéroïdes et des protéobactéries "alpha".

Vu l'abondance des holothuries en Chine, des études sont fréquemment réalisées afin d'améliorer la gestion et pour lutter contre les maladies. Wang et al. (2004) ont décrit plusieurs maladies n'ayant pas fait l'objet de déclaration chez *Apostichopus japonicus*, notamment des syndromes liés à une infection des lobes larvaires, des ulcérations de l'estomac chez les larves auricularia, et l'autolyse des petits juvéniles, maladies provoquées par des agents bactériens. Lors d'élevage en extérieur, divers pathogènes, dont des bactéries, des champignons et des parasites, ont provoqué des dermatoses ulcéreuses, des érosions épidermiques, et des œdèmes du corps. Entre 2002 et 2004, les auteurs ont noté qu'un taux de mortalité élevé avait entraîné de graves pertes économiques, et ce, à cause de trois maladies à caractère épidémique, appelées "le syndrome de l'infection des lobes larvaires" ("syndrome of rotting edges"), "le syndrome de la suppression d'adhérence" ("syndrome of off-plate") et le "syndrome de l'infection tégumentaire" ("syndrome of skin erosion"). L'espèce *Vibrio* était à l'origine de toutes ces maladies, et les résultats de l'étude permettaient de conclure que la vibriose est la principale maladie affectant les holothuries d'élevage. Les auteurs recommandaient l'utilisation d'antibiotiques comme mesure préventive. Les *Vibrio* se développent en se fixant sur des algues et, pour la plupart, ils atteignent une forte densité de population après avoir été ingérés avec les algues puis expulsés des tubes digestifs avec des algues lysées dans les boulettes fécales; les *Vibrio* sont des bactéries intestinales des animaux aquatiques, dont le zooplancton (Sun et Chen 1989).

Efficacité des probiotiques dans la lutte contre les maladies

On peut définir un probiotique comme un complément alimentaire microbien vivant ou issu de l'élevage, exerçant une action bénéfique sur l'animal hôte en améliorant

son équilibre intestinal (microbien) (Fuller et al. 1989). Verschuere et al. (2000) ont élargi la définition pour inclure un complément microbien vivant qui exerce une action bénéfique sur l'hôte en modifiant la communauté microbienne ambiante ou associée, en optimisant l'utilisation de la nourriture ou en augmentant sa valeur nutritionnelle, et en améliorant la qualité du milieu ambiant.

Sur la base d'éléments probants recueillis au cours des dernières décennies, Irianto et Austin (2002) ont révélé que des microalgues (tétrahémites), des levures (*Debaryomyces*, *Phaffa* et *Saccharomyces*), des bactéries à gram positif (*Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Micrococcus*, *Streptococcus* et *Weissella*), des bactéries à gram négatif (*Aeromonas*, *Alteromonas*, *Photobacterium*, *Pseudomonas* et *Vibrio*) et des immunostimulants (polysaccharides, glycanes) peuvent être utilisés comme des probiotiques avec succès. Malheureusement, aucune recherche n'a porté sur l'application des probiotiques à l'élevage d'holothuries.

Les substances humiques que l'on trouve dans les sédiments de fond, en mer ou dans les lacs, dans le sol, dans la tourbe ou les charbons, et qui proviennent de la décomposition de matières organiques, notamment de végétaux morts, sont constituées d'un mélange de macromolécules complexes présentant des structures phénoliques polymériques (Flaig et al. 1975; Kupryszewski et al. 2001). Kupryszewski et al. (2001) ont analysé les propriétés microbiennes de 12 préparations de substances humiques isolées provenant d'eau de mer, de sédiments de fonds marins, et d'eau de lac. L'analyse des substances humiques, des acides humiques et des acides fulviques a mis en évidence des activités antimicrobiennes variées que l'on peut exploiter avec succès dans la lutte contre les maladies. Verschuere et al. (2000) ont indiqué que l'utilisation d'antibiotiques non seulement ne permet pas de lutter contre les microbes, mais qu'elle peut entraîner des modifications nuisibles du microbiote. L'établissement d'un microbiote intestinal normal peut être considéré comme complémentaire à l'établissement de l'appareil digestif, et, dans des conditions normales, le microbiote sert de barrière contre les pathogènes envahissants.

Récemment, Gorski et al. (2003) ont observé que les bactériophages se fixent sur les cellules animales, notamment les lymphocytes, et qu'ils exercent peut-être une action immunomodulatrice. Les bactériophages auraient un effet spectaculaire sur l'infection, produisant une réduction de 98 % de la teneur en bactéries. On pourrait utiliser ces bactériophages dans le cadre d'une simple stratégie de vaccination, consistant dans l'administration orale de bactériophages sous forme de comprimés ou de suspensions liquides (Gorski et al. 2003). Verschuere et al. (2000) ont indiqué que la plupart des probiotiques proposés dans les mesures de lutte biologique sont des bactéries lactiques (par exemple *Lactobacillus*, *Carnobacterium*), des *Vibrio* (par exemple *V. alginolyticus*), des *Bacillus* et des *Pseudomonas*. Une variété de *Vibrio* phages est prédominante dans le Golfe du Mexique (Kellogg et al. 1995). Moebus et Nattkemper (1983) ont révélé que 362-366 bactéries sensibles aux phages, prélevées dans l'Atlantique, appartenaient à la famille des Vibrionaceae et que 280 d'entre elles appartenaient à l'espèce *Vibrio*.

Tableau 1. Hôtes des grands groupes de phages (Ackermann 2003)

Groupe de phages	Groupe ou genre bactérien
<i>Caudovirales</i>	<i>Eubacteria, Euryarchaeota</i>
<i>Microviridae</i>	<i>Enterobacteria, Bdellovibrio, Chamydia, Spiroplasma</i>
<i>Cotcoviridae</i>	<i>Alteromonas</i>
<i>Tectiviridae</i>	(a) <i>Enterics, Acinetobacter, Pseudomonas, Thermus, Vibrio</i> (b) <i>Bacillus, Alicyclobacillus</i>
<i>Leviviridae</i>	<i>Enterics, Acinetobacter, Caulobacter, Pseudomonas,</i>
<i>Cystoviridae</i>	<i>Pseudomonas</i>
<i>Inoviridae</i>	
(a) <i>Inovirus</i>	<i>Enterics, Pseudomonas, Thermus, Vibrio, Xanthomonas</i>
(b) <i>Plectrovirus</i>	<i>Acholeplasma</i>
<i>Plasmaviridae</i>	<i>Acholeplasma</i>
<i>Lipothrixviridae</i>	<i>Crenarchaeota: Acidians, Sulfolobus, Thermoproteus</i>
<i>Rudiviridae</i>	<i>Crenarchaeota: Sulfolobus</i>
<i>Fuselloviridae</i>	(a) <i>Crenarchaeota: Aciiaians, Sulfolobus</i> (b) <i>Euryarchaeota: Methanococcus, Pyrococcus</i>

Verschuere et al. (2000) et Irianto et Austin (2002) ont décrit les activités des microorganismes utilisés comme probiotiques ou comme agents de lutte biologique. Par exemple l'utilisation de probiotiques dans l'élevage des crevettes, particulièrement efficace, est monnaie courante dans le monde entier. Ackermann (2003) a montré qu'on pouvait lutter contre la plupart des bactéries pathogènes à l'aide de leur phage hôte (tableau 1).

Tovar et al. (2002) ont signalé que certaines souches de levures produisent des polyamines qui permettent à la levure d'adhérer au mucus intestinal. Dans cette étude, il s'est avéré que la levure *Debaryomyces hansenii* HF1 (DH), isolée dans les intestins de poissons, peut sécréter des polyamines en quantités significatives.

Villasin et Pomory (2000) ont mis au point une méthode d'extraction de substances présentant des activités antibactériennes chez les holothuries. Ainsi, un extrait d'acétone méthanol issu du tégument de l'holothurie *P. parvimensis* présentait des propriétés antibactériennes contre deux espèces de bactéries (*Bacillus subtilis* et *Enterococci coli*). Ridzman et al. (1995) ont testé des extraits provenant de *H. atra*, *H. scabra* et *Bohadshia argus* contre sept espèces de bactéries, et ils ont découvert que les extraits de lipide et de méthanol n'avaient pas d'effet inhibiteur, alors qu'un soluté salin tamponné aux phosphates en avait un. Comme les holothuries ne sont pas dotées d'un système immunitaire très développé et qu'elles peuvent ingérer des bactéries pathogènes avec leur nourriture, certaines substances antibactériennes actives doivent être présentes sous une forme ou une autre dans leur corps à des fins de défense (Ridswan et al. 1995).

Discussion

Les océans couvrant les trois-quarts de la planète, les phages marins sont probablement la forme de vie la plus répandue. En 1981, on a recensé près de 2 100 bac-

tériophages, auxquels on en ajoute une centaine tous les ans, ce qui donne actuellement un total de plus de 4 000. Plusieurs bactériophages ont fait l'objet d'études moléculaires intensives, et on comprend bien les relations existant, en laboratoire, entre ces bactériophages et leurs hôtes (Frank et Russell 2000). La majorité des bactéries pathogènes associées aux holothuries sont des espèces pathogènes communes et les bactériophages potentiels ont fait l'objet de recherches. Des recherches complémentaires devraient se concentrer sur l'utilisation des probiotiques dans la lutte contre les maladies touchant les holothuries. L'utilisation de désinfectants et de médicaments antimicrobiens a connu un succès limité dans la prévention et la guérison des maladies bactériennes, car ils sont susceptibles de produire des gènes résistants et de transférer des gènes d'une génération à une autre. Cependant le succès de la lutte contre les maladies grâce à la production et à l'utilisation

de probiotiques dépend des informations dont on dispose sur la relation entre une espèce donnée et différentes souches de bactéries.

Une gestion appropriée de la qualité de l'eau améliore la santé des animaux d'élevage. Dans une ferme piscicole installée dans les terres, les méthodes de désinfection que l'on utilise pour traiter les eaux usées sont les suivantes: exposition à des rayons ultraviolets, ozonation, et chloration. Comme les effluents piscicoles sont généralement constitués de substances solides en suspension, de matières organiques et de différentes souches de microorganismes dangereux, il est indispensable de mettre l'accent sur la désinfection des effluents et de l'environnement des bassins afin de garantir l'absence de tout microorganisme pathogène, ce qui permet d'éviter l'apparition de maladies. Bomo et al. (2003) ont décrit l'utilisation de systèmes de filtration bon marché, comme les filtres à sable, qui peuvent se substituer à l'utilisation de produits chimiques dangereux pour l'environnement lors de la désinfection des eaux usées provenant d'une ferme piscicole.

Certains microorganismes associés trouvés chez les holothuries présentent la capacité de sécréter de la chitinase (Sun et Chen 1989) et d'autres polysaccharides. La chitine est un polymère naturel qui exerce une action antibactérienne, et il serait bon de prêter une plus grande attention à l'utilisation de substances naturelles comme agents de lutte contre les maladies. De nombreux autres extraits d'holothuries révèlent une activité antimicrobienne qui peut être mise à profit dans les méthodes de lutte contre les maladies.

Il y a lieu de penser qu'il est possible de lutter de façon écologique contre les maladies qui se déclarent dans cette nouvelle filière afin d'éviter les accès de maladie et de ne pas créer de pathogènes résistants aux antibiotiques à l'avenir. Les auteurs de cette étude ont isolé plusieurs bactéries marines et espèces de levure associées aux holo-

thuries: des recherches taxonomiques ont permis d'identifier deux souches de levure, *Yarrowia lipolytica* et *Candida tropicalis*, capables de produire de la phytase. Les souches de levure identifiées ont été déposées auprès du *National Center for Biotechnological Information* (Centre national pour l'information biotechnologique), situé aux États-Unis, sous les numéros d'accès suivants: DQ438177 et DQ515959 respectivement. Les auteurs réalisent actuellement des recherches complémentaires sur ces microorganismes.

Bibliographie

- Ackermann H.W. 2003. Bacteriophage observations and evolution. *Research in Microbiology* 154:245–251.
- Becker P., Gillan D., Lanterbecq D., Jangoux M., Rasolofonirina R., Rakotovo J., Eeckhaut I. 2003. The skin ulceration disease in cultivated juveniles of *Holothuria scabra* (Holothuroidea, Echinodermata). *Aquaculture* 242:13–20.
- Bomo A.M., Husby A., Stevik T.K. and Hanssen F.J. 2003. Removal of fish pathogenic bacteria in biological sand filters. *Water Research* 37:2618–2626.
- Conand C. 2004. Present status of world sea cucumber resources and utilization: An international overview. p. 13–25. In: Lovatelli A., Conand C. Purcell S., Uthicke S., Hamel J.-F. and Mercier A. (eds). *Advances in sea cucumber aquaculture and management*. FAO Fisheries Technical Reports No. 463, FAO, Rome. 425 p.
- Eeckhaut I., Parmentier E., Becker P., Gomez da Silva S. and Jangoux M. 2004. Parasites and biotic diseases in field and cultivated sea cucumbers. p. 311–325. In: Lovatelli A., Conand C. Purcell S., Uthicke S., Hamel J.-F. and Mercier A. (eds). *Advances in sea cucumber aquaculture and management*. FAO Fisheries Technical Report No.463, FAO, Rome. 425 p.
- Flaig W., Beutelspracher H. and Rietz E. 1975. Chemical composition and physical properties of humic substances. In: Gieseking J.E. (ed). *Soil components*. New York: Springer. 1211 p.
- Frank T.R. and Russell T.H. 2000. Bacterial viruses and hosts: Influence of culturable state. In: Colwell R.R. and Grimes D.J. (eds). *Non-culturable microorganisms in the environment*. Washington. D.C: ASM press,.
- Fuller R. 1989. A review: Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology* 66: 365–378.
- Gorski A., Nowaczyk M., Weber-Dabrowska B., Kniotek M., Boratynski J., Ahmed A., Dabrowska K., Wierzbicki P., Switala-Jelen K. and Opolski A. 2003. New insights into the possible role of bacteriophages in transplantation. *Transplantation Proceedings* 35: 2372–2373.
- Hamel J.F. and Mercier A. 2004. Synchronous gamete maturation and reliable spawning induction method in holothurians. p. 359–372. In: Lovatelli A., Conand C., Purcell S., Uthicke S., Hamel J.-F. and Mercier A. (eds). *Advances in sea cucumber aquaculture and management*. FAO Fisheries Technical Reports No. 463, FAO, Rome. 425 p.
- Irianto A. and Austin. B. 2002. Probiotics in aquaculture. *Journal of Fish Diseases* 25:1–10.
- Kellogg C.A., Rose J.B., Jiang S.C., Thurmond J.M. and Paul J.H. 1995. Genetic diversity of related vibriophages isolated from marine environments around Florida and Hawaii, USA. *Marine Ecology Progress Series* 120:89–98.
- Kupryszewski G., Pempkowiak J. and Kedzia A. 2001. The effect of humic substances isolated from a variety of marine and lacustrine environments on different microorganisms. *Oceanologia* 43(2):257–261.
- Moebus K. and Nattkemper H.1983. Taxonomic investigations of bacteriophage sensitive bacteria isolated from marine waters. *Helgoland. Meeresunters* 36:357–373.
- Ridzwan B.H., Kaswandi M.A., Azman Y. and Fuad M. 1995. Screening for antimicrobial agents in three species of sea cucumbers from coastal areas of Sabah. *General Pharmacology* 26(7):1539–1543.
- Sun Y. and Chen D. 1989. Study of in vitro and in vivo physical characters of different types of microbes in sea cucumber. *Oceanologia et Limnologia Sinica* 20:300–307. (in Chinese).
- Tovar D., Zambonino-Infante J.L., Cahu C., Gatesoupe F.J., Vazquez-Juarez R. and Lesel R. 2002. Effect of live yeast incorporation in compound diet on digestive enzyme activity in sea bass larvae. *Aquaculture* 204:113–123.
- Vannuccini S. 2004. Sea cucumbers: A compendium of fishery statistics. p. 399–414. In: Lovatelli A., Conand C., Purcell S., Uthicke S., Hamel J.-F. and Mercier A. (eds). *Advances in sea cucumber aquaculture and management*. FAO Fisheries Technical Report No. 463, FAO, Rome. 425 p.
- Verschuere L., Rombaut G., Sorgeloos P., and Vertraete W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64:655–671.
- Villasin J. and Pomory M.C. 2000. Antibacterial activity of extracts from the body wall of *Parastichopus parvimensis* (Echinodermata: Holothuroidea). *Fish and Shellfish Immunology* 10:465–467.
- Wang Y.G., Zhang C.Y., Rong X.J., Chen J.J., Shi C.Y., Sun H. L. and Yan J.P. 2004. Diseases of cultured sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) in China. p. 297–310. In: Lovatelli A., Conand C., Purcell S., Uthicke S., Hamel J.-F. and Mercier A. (eds). *Advances in sea cucumber aquaculture and management*. FAO Fisheries Technical Report No. 463, FAO, Rome. 425 p.
- Zhan W.B. and Yu K.K. 1993. Diseases of sea cucumber and sea urchin. *Journal of Oceanology and Limnology* 1:95–100. (in Chinese).