

Quelles stratégies alternatives aux antibiotiques en aquaculture ?

J.-L. NICOLAS¹, F.-J. GATESOUBE², S. FROUËL¹, E. BACHERE³, Y. GUEGUEN³

¹ IFREMER, UMR100 PE2M Physiologie des Invertébrés, Département PFOM, Centre de Brest, F-29280, Plouzané, France

² INRA, IFREMER, UMR1067 Adaptation Reproduction et Nutrition des poissons, Département PFOM, Centre de Brest, F-29280, Plouzané, France

³ IFREMER, CNRS, Université de Montpellier 2, UMR5119 ECOLAG Aquaculture Languedoc-Roussillon, Département BOME, F-34095, Montpellier, France

Courriel : Jean.Louis.Nicolas@ifremer.fr

Selon les prévisions de la FAO, l'aquaculture devrait jouer un rôle de plus en plus important au niveau de la satisfaction des besoins alimentaires des populations au cours des prochaines décennies. En 2030, l'aquaculture serait la principale source d'approvisionnement en poisson. Cependant, les maladies infectieuses représentent un facteur limitant majeur en aquaculture car elles sont à l'origine de pertes économiques considérables pour ce secteur d'activité. Les professionnels ont alors souvent recours à l'utilisation d'antibiotiques pour prévenir ou traiter les maladies d'origine bactérienne. Pour les maladies d'origine virale et notamment celles qui sévissent dans les élevages de crevettes, ils sont sans moyen thérapeutique ou préventif. Il est maintenant largement reconnu que l'utilisation massive d'antibiotiques peut avoir des impacts négatifs en termes d'environnement et de santé publique. La FAO a d'ailleurs qualifié le développement de la résistance des bactéries aux antibiotiques comme «un des risques les plus graves pour la santé humaine à l'échelle mondiale», et le développement des activités aquacoles contribue à l'aggravation de ce risque. Ainsi, une fréquence accrue de souches bactériennes antibio-résistantes a été observée dans les sédiments prélevés à proximité de piscicultures utilisant de grandes quantités d'antibiotiques, ainsi que dans les poissons issus de ces élevages (Harper 2002).

L'usage des antibiotiques en aquaculture est très réglementé au moins dans l'Union Européenne et dans d'autres pays (Hernández Serrano 2005). Il en résulte qu'un très petit nombre de médicaments vétérinaires destinés aux espèces aquacoles ont fait l'objet d'une autorisation de mise sur le marché

(FDA 2007). Un traitement antibiotique ne peut être administré qu'après prescription vétérinaire, pour une période de temps limitée, et uniquement lorsqu'une infection par une bactérie pathogène sensible à ce traitement a été diagnostiquée. Cependant, ils sont encore utilisés en préventif, essentiellement pendant les phases larvaires de certains élevages. Ils agissent non comme facteurs de croissance mais pour maintenir un taux de survie acceptable. Des traitements antibiotiques peuvent être appliqués à des stades critiques (passage de la métamorphose pour les bivalves) ou comme barrière sanitaire après la fécondation pour éviter la transmission de bactéries pathogènes des parents aux juvéniles.

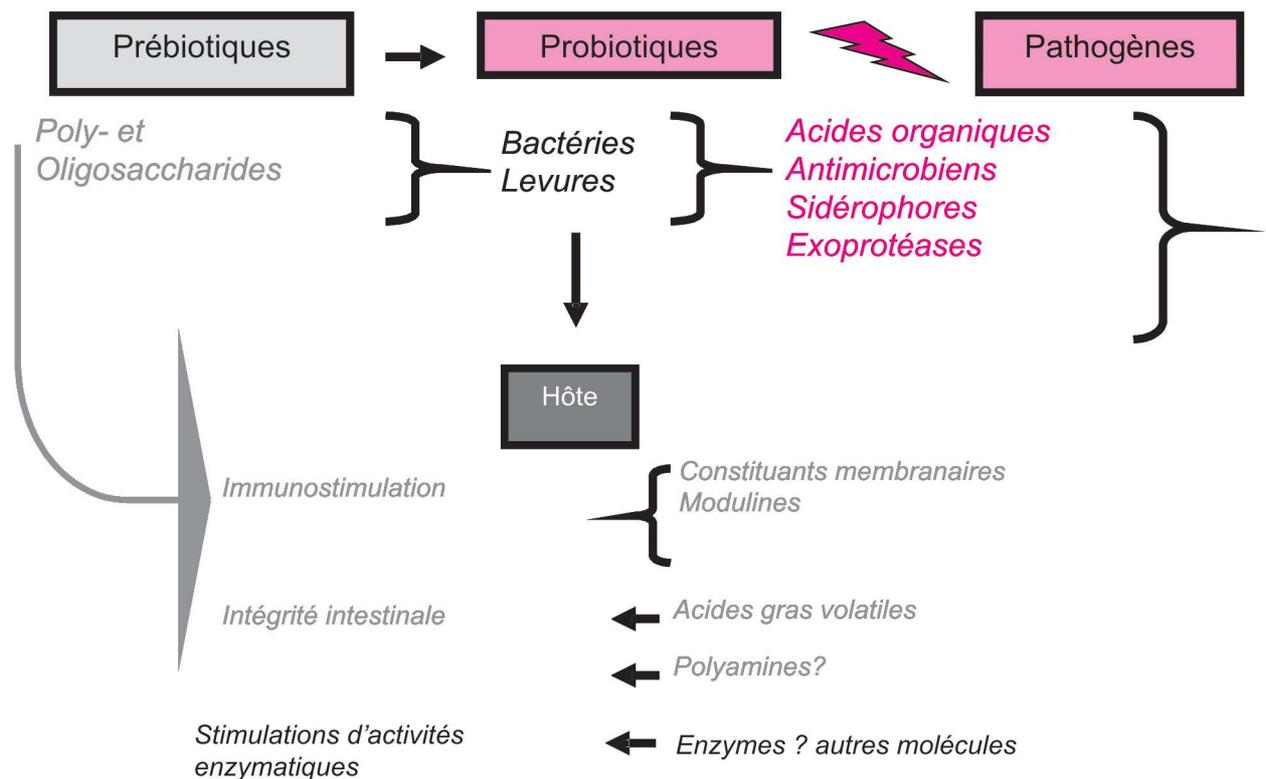
Les antibiotiques ne sont d'ailleurs pas à proscrire comme moyens thérapeutiques, mais ils devraient faire également l'objet d'études plus approfondies. Ainsi, certaines molécules (les mêmes que pour les poisons) ont été autorisées en conchyliculture par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) en 2004, alors qu'aucune expérimentation n'a été entreprise pour en connaître l'efficacité, déterminer les posologies et les temps d'attente nécessaires à leur élimination. Ils ne sont toutefois pas destinés à être utilisés sur des coquillages adultes mais à des stades précoces. Les spécialités vétérinaires qui, seules peuvent être prescrites, incluent des excipients qui peuvent avoir des effets néfastes chez les mollusques. Les produits de substitution comme les probiotiques bien qu'ils paraissent en première analyse inoffensifs pour les animaux et l'homme, demandent également des autorisations de mise sur le marché, ce qui limite le nombre de préparations utilisables (European Commission

2003, EFSA 2005). Pour chaque animal une autorisation doit être demandée avec des essais en vraie grandeur montrant outre leur efficacité, leur innocuité pour les animaux, ainsi que l'absence d'éléments transférables de résistance aux antibiotiques.

Les principales voies explorées pour rechercher des produits de substitution aux antibiotiques sont les probiotiques (microorganismes vivants : levures, bactéries), certains ingrédients (bactéries tuées avec leur milieu, immunostimulants...), les peptides antibactériens et dans une moindre mesure les prébiotiques (figure 1).

1 / Les prébiotiques

Les prébiotiques sont des additifs alimentaires non digestibles qui exercent un effet bénéfique sur l'hôte en stimulant sélectivement la prolifération et/ou l'activité d'une ou d'un nombre limité de souches bactériennes dans l'intestin, améliorant ainsi la santé de l'hôte. Les fructo-oligosaccharides provenant de l'hydrolyse de l'inuline sont un exemple de tels prébiotiques, et ils ont été introduits dans un aliment composé pour alevins de turbot, permettant ainsi d'améliorer le taux de croissance des poissons. Les souches bactériennes stimulées étaient non pathogènes, et appartenaient aux genres *Vibrio* et *Bacillus* (Mahious et al 2006). On ne peut exclure que l'usage systématique d'un prébiotique ne finisse par provoquer l'émergence de souches pathogènes capables de l'assimiler. Comme pour les probiotiques, les prébiotiques les plus intéressants seront donc ceux qui pourraient simultanément stimuler les défenses immunitaires de l'hôte, comme les manno-oligosaccharides.

Figure 1. Facteurs putatifs des modes d'action des pro- et prébiotiques.

2 / Les probiotiques

Les probiotiques sont des microorganismes vivants qui, ingérés en quantité convenable, ont des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte. Il est peu vraisemblable qu'un probiotique puisse remplacer efficacement un antibiotique lorsque l'infection s'est déclarée, mais certains de ces produits pourraient constituer une aide précieuse en matière de prophylaxie. Certaines souches de bactéries lactiques paraissent particulièrement intéressantes, car elles peuvent directement inhiber une infection par une bactérie pathogène, tout en stimulant les défenses immunitaires de l'hôte, limitant ainsi le risque que le pathogène puisse développer une résistance au traitement. Les actions bénéfiques de ces probiotiques peuvent être multiples et ils peuvent être administrés à différents stades du développement suivant des protocoles à définir précisément.

La plupart des essais sont effectués avec des préparations commerciales pour les raisons indiquées précédemment. Cependant, ils ne sont pas adaptés à tous les élevages et particulièrement aux larves de bivalves pour lesquelles des sélections de bactéries marines inhibant des bactéries pathogènes ont été entreprises. Reste un obsta-

cle majeur pour leur utilisation: la difficulté de conserver ces bactéries gram (-) dans une préparation commercialisable, contrairement à la plupart des probiotiques gram (+) actuellement disponibles sur le marché. Il est à noter toutefois que, dans certains pays producteurs de crevettes, une souche de *Vibrio alginolyticus* est distribuée comme probiotique dans les élevages industriels (Villamil *et al* 2003). Un test de culture d'*Artemia* a été par ailleurs mis au point permettant de sélectionner les souches probiotiques sur des critères plus larges que des effets antibactériens (survie, croissance, activités des enzymes digestives, action sur la microflore).

2.1 / Les mollusques-bivalves

Certains élevages larvaires de bivalves comme les coquilles Saint-Jacques (*Pecten maximus*) requièrent jusqu'à présent un traitement antibiotique préventif. Des essais avec des probiotiques de type *Roseobacter* ont permis d'améliorer les survies (Ruiz-Ponte *et al* 1999). Ces probiotiques peuvent se multiplier dans les cultures d'algues «axéniques» pour faciliter leur production et leur distribution mais les concentrations finales sont généralement insuffisantes pour une protection efficace. En définitive, cette méthode est encore lourde et trop peu fiable pour

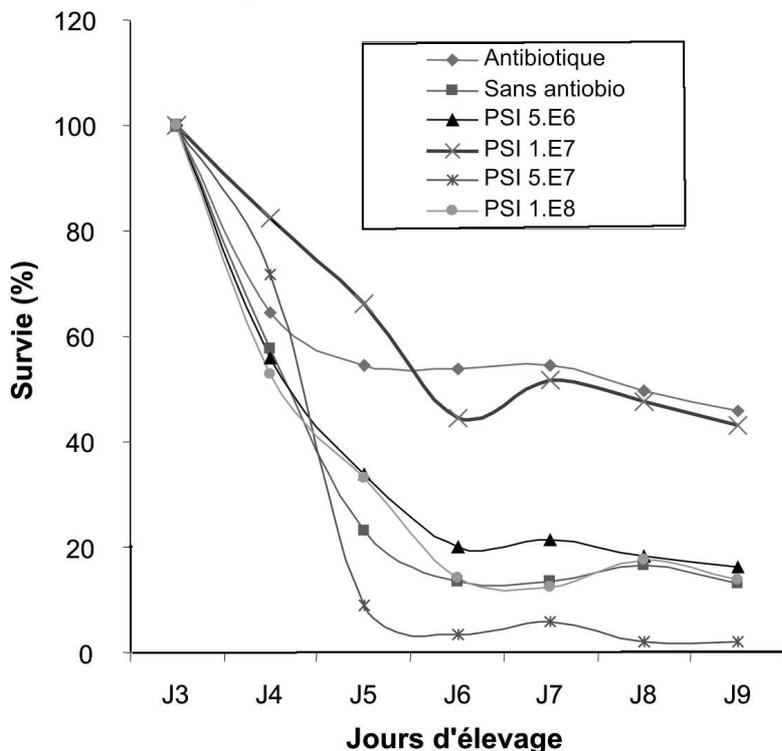
être transférable au niveau de la production. Une amélioration du contexte d'élevage semble être un préalable pour que des probiotiques puissent agir efficacement.

2.2 / Les crevettes

Les expériences réalisées à la Station IFREMER de Nouvelle-Calédonie montrent un effet très positif des probiotiques au niveau larvaire : performances équivalentes en terme de survie et meilleure croissance que les lots sous antibiotique (figure 2). Cependant les posologies doivent être déterminées d'une façon précise pour qu'ils soient efficaces. Au niveau du grossissement, la protection contre des maladies bactériennes provoquées par *Vibrio penaeicida* et *Vibrio nigripulchridito* fait l'objet de travaux, mais d'ores et déjà, des effets de croissance et d'amélioration de la survie ont été observés. La microflore *Vibrionaceae* digestive est réduite et les activités enzymatiques digestives sont stimulées, pouvant expliquer d'une part l'amélioration de la survie et d'autre part les effets de croissance.

Par ailleurs, des publications sur l'effet de probiotiques sur les différentes espèces de crevettes paraissent maintenant très régulièrement, dénotant une diffusion de plus en plus large de ces probiotiques.

Figure 2. Evolution de la survie des larves de *Litopenaeus stylirostris* selon les traitements appliqués (PSI : préparation probiotique passive), le code de chaque traitement probiotique indique en notation scientifique le nombre de cellules bactériennes introduites par litre de milieu d'élevage.



2.3. Les poissons

Différents effets ont été démontrés et, en premier lieu, une protection contre les infections bactériennes. Une souche de *Lactobacillus rhamnosus*, semble efficace pour prévenir la furunculose chez la truite arc-en-ciel (Nikoskelainen *et al* 2004). Il existe des pathologies moins clairement identifiées, mais pour lesquelles on suspecte une infection bactérienne, en raison de l'efficacité préventive d'un antibiotique observée expérimentalement. Le syndrome de compression vertébrale des salmonidés est un exemple d'une telle pathologie, dont l'impact économique sur la filière est important, mais contre laquelle il n'est pas possible de prescrire d'antibiotique. Une souche probiotique de *Pediococcus acidilactici*, apportée en continu dans l'alimentation pendant les premiers stades d'élevage, a permis de réduire le taux de malformation de la colonne vertébrale de la truite arc-en-ciel, de façon comparable à un traitement antibiotique expérimental (Aubin *et al* 2005).

Chez le bar, *Dicentrarchus labrax*, une préparation probiotique à base de deux lactobacilles (*L. rhamnosus* et *L. farciminis*) réduit également, ou fait disparaître complètement les malformations. Par ailleurs, il a été mis en évidence une stimulation de la phosphata-

se alcaline et une maturation des entérocytes.

D'autres probiotiques ont été utilisés comme facteurs de croissance, et bien qu'ils ne semblent pas agir directement contre des bactéries pathogènes, leur effet sur le développement et la santé des poissons peut contribuer indirectement à réduire le recours aux antibiotiques. Ainsi une souche de levure *Debaryomyces hansenii*, isolée dans l'intestin de la truite arc-en-ciel et incorporée vivante dans un aliment pour larves de bar, a permis de stimuler la maturation de l'appareil digestif des larves, d'augmenter leurs taux de croissance et de survie, tout en réduisant l'incidence des malformations de la colonne vertébrale (Tovar-Ramirez *et al* 2004). Cette souche ne fait pas l'objet d'une production industrielle, et il est peu probable qu'elle soit commercialisée, en raison d'un marché trop restreint. Cette levure peut se développer naturellement dans l'intestin des alevins de truite, mais cette colonisation est trop tardive pour stimuler la mise en place de la fonction digestive. Une souche de levure commerciale *Saccharomyces cerevisiae* var. *bouardii* peut être introduite dans l'aliment des alevins dès l'ouverture de la bouche, et stimuler ainsi la maturation du tube digestif (Waché *et al* 2006).

3 / Les peptides antimicrobiens

3.1 / Caractéristiques et mode d'action

Les peptides antimicrobiens sont des «petites protéines» de 20 à 50 acides aminés qui possèdent un caractère cationique, dû à la charge positive apportée par les acides aminés, effecteurs ubiquistes de l'immunité innée, que l'on retrouve à l'état naturel chez les vertébrés, les invertébrés, les microorganismes et les plantes. L'activité antimicrobienne de ces molécules a été étudiée par des tests *in vitro* contre des microorganismes. Les peptides antimicrobiens possèdent un large spectre d'action. En effet, ils agissent contre les bactéries gram (-) et gram (+), contre les champignons et les virus enveloppés. Les peptides antimicrobiens désorganisent la membrane des bactéries ou des champignons pour provoquer leur mort. L'activité antimicrobienne est basée sur plusieurs mécanismes. Dans la plupart des cas, l'interaction entre le peptide et la membrane de l'organisme cible est responsable de l'activité (Koczulla et Bals 2003). La sélectivité des peptides antimicrobiens pour les cellules procaryotes semble dépendre de la composition en lipides et de la quantité de charges négatives de la membrane des microorganismes comparés à celle des cellules eucaryotes.

3.2 / Propriétés des peptides antimicrobiens caractérisés chez les crevettes pénéides et l'huître *C. gigas*

Dans le cadre de nos travaux, des peptides antimicrobiens ont été isolés et caractérisés chez *Litopenaeus vannamei*, la crevette pénéide blanche du Pacifique. La production de la pénécidine 3 de *L. vannamei* (*Litvan PEN3-1*) recombinante chez *Saccharomyces cerevisiae* a permis d'établir son spectre d'activité. Elle possède une activité antimicrobienne dirigée essentiellement contre des champignons filamenteux et contre des bactéries gram (+) (Destoumieux *et al* 1999, tableau 1). Des polypeptides ALF «*Anti-LPS factor*» originellement caractérisés chez la limule ont été identifiés chez des crevettes pénéides. Ainsi des ALF ont été caractérisés chez *Penaeus monodon* (Somboonwivat *et al* 2005), ainsi que par notre équipe chez *L. stylirostris* (de Lorgeril *et al* 2005). Afin de déterminer les activités biologiques du peptide, ALFPm3, celui-ci a été produit en sys-

Tableau 1. Spectre d'activités antimicrobiennes des peptides antimicrobiens Litvan PEN3, Penmon ALF3 et Cg-Def.

Microorganismes	Concentration minimale inhibitrice (MIC) (μM) La MIC est exprimée par l'intervalle a-b, où a est la plus haute concentration pour laquelle la croissance des microorganismes n'est pas inhibée, et b est la plus faible concentration qui cause 100 % d'inhibition de la croissance		
	Litvan PEN3	Penmon ALF3	Cg-Def
Bactéries Gram (+)			
<i>Micrococcus luteus</i>	1,25-2,5	1,56-3,12	0,005-0,01
<i>Bacillus megaterium</i>	2,5-5	0,19-0,39	>20
<i>Aerococcus viridans</i>	0,3-0,6	1,56-3,12	nd
Bactéries Gram (-)			
<i>Escherichia coli</i> 363	5-10	0,095-0,19	35
<i>Vibrio anguillarum</i>	nd	0,78-1,56	nd
<i>Vibrio harveyi</i>	>40	0,78-1,56	nd
<i>Enterobacter cloacae</i>	>40	3,12-6,25	nd
<i>Salmonella thyphimurium</i>	>40	6,25-12,5	>20
Champignons filamenteux			
<i>Neurospora crassa</i>	1,25-2,5	nd	nd
<i>Fusarium oxysporum</i>	5-10	1,56-3,12	9-4,5
<i>Botrytis cinerea</i>	5-10	nd	>20

nd : non déterminé

tème recombinant *Pichia pastoris*. ALFPm3 présente un large spectre d'activités antifongiques et antibactériennes vis-à-vis de bactéries à gram (+) et à gram (-) associées à un effet bactéricide. En particulier, ALFPm3 est actif vis-à-vis de diverses espèces de *Vibrio* (tableau 1).

Plus récemment, chez l'huître, une approche génomique a permis d'identifier un peptide antimicrobien de type défensines. Nous avons entrepris au

laboratoire la caractérisation de cette molécule, nommée Cg-Def. Pour cela, le peptide a été produit sous forme recombinante chez *E. coli*. Cg-Def présente de fortes activités antimicrobiennes envers les bactéries gram (+) et une activité plus modérée envers les bactéries gram (-) et les champignons (Gueguen *et al* 2006, tableau 1).

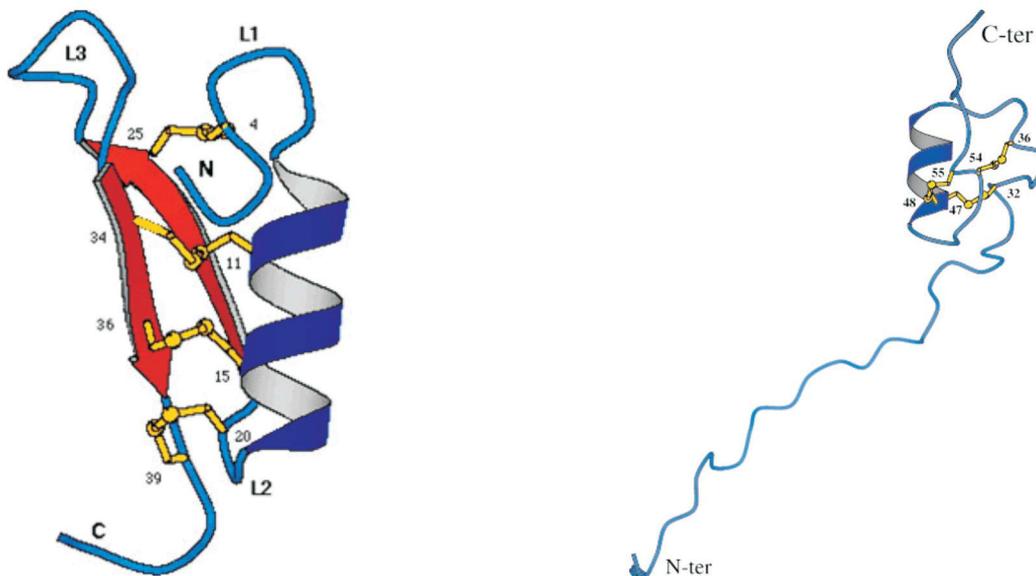
La structure des peptides antimicrobiens a une implication directe sur la complexité de leur fonction, de leurs

propriétés et de leur mode d'action. Afin d'appréhender ces aspects, la structure tridimensionnelle de la penacidine-3 et de Cg-Def a été déterminée par RMN et dichroïsme circulaire dans le cadre de collaborations avec l'équipe de A. Aumelas (Centre de Biochimie Structurale, CNRS Montpellier) (figure 3).

3.3 / Evaluation de l'utilisation de peptides antimicrobiens en aquaculture.

Notre objectif de recherche est de développer une approche proactive alternative à l'utilisation des antibiotiques dans les élevages afin de réduire le développement d'antibiorésistances bactériennes. En effet, les peptides antimicrobiens représentent des candidats particulièrement prometteurs pour le développement de «nouveaux antibiotiques». Il s'agit de molécules dont le large spectre d'activité permet d'envisager des applications pour le traitement des infections bactériennes et fongiques. De plus, leur mode d'action sur les membranes est susceptible de générer moins de résistance de la part des microorganismes. Du fait de leurs propriétés, les peptides antimicrobiens sont considérés comme «la famille la plus originale d'agents anti-infectieux découverte au cours de ces vingt cinq dernières années» (Dimarcq et Hoffmann 1998, 2001).

Dans le cadre d'un projet européen (IMMUNAQUA, ICA4-2001-10023, *Antimicrobial immune effectors in marine invertebrates: characterisation*

Figure 3. Structure 3D de la défensine Cg-Def (à gauche) et de la pénaéidine Litvan PEN3-1 (à droite).

(image reproduite avec autorisation des auteurs)

and application for disease control in aquaculture, <http://www.immunaqua.com>), nous avons montré que les peptides antimicrobiens représentaient de bons candidats pour un développement en tant qu'agents thérapeutiques applicables au contrôle des maladies en aquaculture. En effet, les résultats préliminaires obtenus *in vitro* à l'échelle du laboratoire montrent que les «peptides antimicrobiens» pourraient se substituer aux antibiotiques et ainsi réduire à terme l'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques dans l'environnement aquacole. De par leurs propriétés, ces molécules possèdent les mêmes effets positifs que les antibiotiques concernant l'effet protecteur sur les animaux et ne semblent pas démontrer d'effets cytotoxiques. De plus, ces molécules ont des temps de demi-vie assez réduits (quelques heures) et du fait de leur nature protéique, il n'y a pas ou peu de risque d'accumulation de résidus dans l'environnement ou l'animal.

Conclusion et Perspectives

Les traitements avec des probiotiques et prébiotiques n'en sont encore qu'au stade expérimental dans la plupart des cas, et il faudra beaucoup d'essais complémentaires avant de parvenir à une

application généralisée en fermes aquacoles. Il importe de définir avec précision la dose et les périodes de traitement les plus efficaces. Les recherches en laboratoire se développent suivant plusieurs axes. La recherche appliquée s'appuie sur des tests de différentes préparations prébiotiques ou probiotiques afin de les sélectionner, puis d'en optimiser les effets. Les combinaisons de traitements devraient également être étudiées, en associant par exemple un traitement probiotique et/ou prébiotique lors de la première période d'alimentation, suivi par une phase de vaccination lorsqu'elle devient possible (chez les poissons uniquement). Ces recherches sur différentes méthodes d'administration et sur différents produits devaient permettre de résoudre des problèmes d'élevage, comme les mortalités larvaires qui entravent la production de certaines espèces. Une approche analytique doit accompagner ces essais pratiques, car il est essentiel de caractériser la microflore induite, d'étudier le comportement des probiotiques chez l'hôte (viabilité, adhésion, activité *in situ*...), et d'apprécier les effets sur la physiologie de l'hôte (activité des enzymes digestives, expression des gènes indicateurs de la réponse immunitaire...). Enfin une approche plus cognitive devrait permettre d'appréhender les modes d'action, grâce à

la purification de molécules actives comme des substances antibactériennes, des bactériocines, ou d'autres effecteurs agissant sur l'hôte, tout en recherchant chez l'hôte les récepteurs de ces molécules actives.

Au niveau des peptides antimicrobiens, le concept est actuellement en phase d'évaluation dans le cadre d'un projet financé par l'ANR. Trois partenaires travaillent pour réaliser les différentes phases expérimentales du projet : l'unité mixte de recherche (UMR IFREMER-CNRS-Université de Montpellier II), une équipe de la Station expérimentale IFREMER de Palavas ainsi qu'une équipe du CIRAD Montpellier. Le projet se décompose en 2 étapes : (1) une phase de production des peptides antimicrobiens, (2) une 2^{ème} phase pendant laquelle des essais expérimentaux sont réalisés en bassin à la station expérimentale IFREMER de Palavas et pendant laquelle sont analysés : l'effet protecteur des peptides antimicrobiens sur les poissons d'élevage, l'effet du traitement peptidique sur la microflore des animaux, la qualité microbiologique de l'eau du bassin d'élevage. L'objectif final du projet est de convaincre un partenaire industriel de s'investir dans le développement et de transférer cette innovation au secteur aquacole.

Références

- Aubin J., Gatesoupe F.J., Labbé L., Lebrun L., 2005. Trial of probiotics to prevent the vertebral column compression syndrome in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquac. Res.*, 36, 758-767.
- De Lorgeril J., Saulnier D., Janech M.G., Gueguen Y., Bachère E., 2005. Identification of genes that are differentially expressed in hemocytes of the Pacific blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) surviving an infection with *Vibrio penaeicida*. *Physiol. Genomics*, 21, 174-183.
- Destoumieux D., Bulet P., Strub J.M., Van Dorsselaer A., Bachère E., 1999. Recombinant expression and range of activity of penaeidins, antimicrobial peptides from penaeid shrimp. *Eur. J. Biochem.*, 266, 335-346.
- Dimarq J.L., Hoffmann J., 1998. Les peptides antimicrobiens d'insectes. *Bull. Soc. Fr. Microbiol.*, 13, 339-345.
- Dimarq J.L., Hoffmann J.A., 2001. Peptides antimicrobiens : les antibiotiques du futur ? *Biofutur*, 212, 21.
- EFSA, 2005. Applications under Regulation (EC) No 1831/2003 on additives for use in animal nutrition. http://www.efsa.europa.eu/fr/science/feedap/an_applications.html
- European Commission, Health and Consumer Protection Directorate-General, 2003. On a generic approach to the safety assessment of micro-organisms used in feed/food and feed/food production, a working paper open for comment, 10p. http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out178_en.pdf
- FDA Center for Veterinary Medicine, 2007. Drugs approved for use in aquaculture. <http://www.fda.gov/cvm/drugsapprovedaqua.htm>
- Gueguen Y., Herpin A., Aumelas A., Garnier J., Fievet J., Escoubas J.M., Bulet P., Gonzalez M., Lelong C., Favrel P., Bachère E., 2006. Characterization of a defensin from the oyster *Crassostrea gigas*: recombinant production, folding, solution structure, antimicrobial activities and gene expression. *J. Biol. Chem.*, 281, 313-323.
- Harper C., 2002. Chemical resistance of pathogens in aquaculture. *Aquac. Mag.*, 28 (1), 51-55.
- Hernández Serrano, P., 2005. Responsible use of antibiotics in aquaculture. *FAO Fish. Tech. Pap.*, 469, 110 p. http://www.globefish.org/files/a0282e001_332.pdf
- Koczulla A., Bals R., 2003. Antimicrobial peptides. *Drugs*, 63, 389-346.
- Mahious A.S., Gatesoupe F.J., Hervi M., Métailler R., Ollevier F., 2006. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima* (Linnaeus, C. 1758). *Aquac. Int.*, 14, 219-229.
- Nikoskelainen S., Ouwehand A., Salminen S., Bylund G., Lilius E.M., 2004. Trout health gets a boost from probiotic *Lactobacillus*. *Fd Mix*, 12 (2), 18-21.
- Ruiz-Ponte C., Samain J.F., Sanchez J.L., Nicolas J.L., 1999. The benefit of a *Roseobacter* species on the survival of scallop larvae. *Mar. Biotechnol.*, 1, 52-59.
- Somboonwiwat K., Marcos M., Tassanakajon A., Klinbunga S., Aumelas A., Romestand B., Gueguen Y., Boze H., Moulin G., Bachère E., 2005. Recombinant expression and antimicrobial activity of anti-lipopolysaccharide factor (ALF) from the black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Dev. Comp. Immunol.*, 29, 841-851.
- Tovar-Ramirez D., Infante J.Z., Cahu C., Gatesoupe F.J., Vazquez-Juarez R., 2004. Influence of dietary live yeast on European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larval development. *Aquaculture*, 234, 415-427.
- Villamil L., Figueras A., Planas M., Novoa B., 2003. Control of *Vibrio alginolyticus* in *Artemia* culture by treatment with bacterial probiotics. *Aquaculture*, 219, 43-56.
- Waché Y., Auffray F., Gatesoupe F.J., Zambonino J., Gayet V., Labbé L., Quentel C., 2006. Cross effects of the strain of dietary *Saccharomyces cerevisiae* and rearing conditions on the onset of intestinal microbiota and digestive enzymes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fry. *Aquaculture*, 258, 470-478.

Résumé

Malgré des réglementations contraignantes, l'usage des antibiotiques en préventif est encore répandu en aquaculture, particulièrement pendant les phases critiques (stades précoces, métamorphose, transferts d'animaux), mais aussi chez des animaux en croissance. En plus des améliorations que l'on peut encore apporter en matière de zootechnie et de prophylaxie traditionnelle, des méthodes alternatives sont maintenant disponibles ou en développement.

Les préparations microbiennes commercialisées pour les élevages terrestres sont de plus en plus utilisées pour les élevages de crevettes et de poissons, mais chaque espèce ou élevage demanderait des expérimentations particulières pour déterminer les produits et les doses les plus efficaces. En effet, les réponses des animaux à l'ajout des probiotiques peuvent être variables et l'absence de données fiables freine leur application en routine. Les probiotiques d'origine terrestre contenant des *Lactobacillus*, des *Bacillus* ou d'autres bactéries de genres connexes, ou bien encore des levures, ne conviennent pas pour les mollusques bivalves comme les huîtres, les coquilles St Jacques, les palourdes. Seules quelques bactéries marines sélectionnées protègent les larves de bivalves contre les infections bactériennes. Cependant, l'utilisation pratique de ces bactéries gram (-) pose de nombreux problèmes d'autorisation légale, de production, de conservation et de distribution. L'intérêt des probiotiques réside dans leurs effets multiples, qui associent à des activités antibactériennes, des effets sur l'hôte telles que la stimulation de la réponse immunitaire ou celle de la croissance, bien que les mécanismes d'action ne soient pas clairement identifiés. Par contre ils n'ont pas la même efficacité que les antibiotiques pour stopper une infection.

Les prébiotiques comme les fructo-oligosaccharides constituent une autre possibilité d'améliorer la santé des animaux, et des essais ont montré leur efficacité chez les alevins de turbot par exemple.

Une troisième alternative est représentée par les peptides antimicrobiens. Ces molécules ont un large spectre d'activité antimicrobienne. Ils peuvent tuer des bactéries gram (-) et gram (+), des champignons ou des virus enveloppés. Plusieurs de ces peptides viennent d'être découverts chez les invertébrés marins (crevettes et huîtres), où ils sont un élément essentiel de la défense de ces animaux sans immunité acquise. Ils pourraient remplacer avantageusement les antibiotiques à terme. Ils devraient générer moins de résistances chez les microorganismes cibles, car ils agissent sur les membranes cellulaires et ils devraient être plus vite dégradés sans produire de résidus.

Abstract

What alternatives to antibiotics are conceivable for aquaculture?

In spite of restricting rules, antibiotics are still used in aquaculture for prevention, especially during critical phases (early stages; metamorphosis; transfer), but also during on-growing. Besides improving husbandry techniques and prophylaxis, which is still possible, alternative methods are now available or in progress. Commercial probiotics for land animals are increasingly used for shrimp and fish farming, though every species or rearing condition should require particular experiments to determine the most suitable microbial preparations and doses. The variability in response to probiotics, and the lack of reliable data hinder the use of such practices in routine, indeed.

These commercial preparations contain *Lactobacillus*, *Bacillus*, or other bacteria belonging to related genera, or yeast. They are not suitable for bivalve molluscs like scallops, oysters, and clams. Only few marine bacteria have been documented to protect efficiently larval bivalves against infection. However, many problems remain unsolved regarding legal authorization, production, preservation, and retailing of such preparations with gram-negative bacteria. Probiotics may display multiple effects, possibly combining bacterial antagonism to some effects on the host, e.g. stimulating immunity, or growth, though the modes of action are not fully understood. Probiotics are not as efficient as antibiotics in case of bacterial infection, however.

Prebiotics like fructo-oligosaccharides (FOS) may also improve animal health, since they favor the establishment of commensal or beneficial gut microbiota. For instance, an experiment showed that FOS could increase growth of turbot fry.

A third alternative may come from antimicrobial peptides, which have been described in many organisms. These peptides have wide spectra of action. They can kill gram negative and gram positive bacteria, envelop viruses, yeasts, and moulds. Several peptides were recently discovered in shrimp and oysters, where they are essential elements of innate defense, in the absence of acquired immunity. These molecules could advantageously replace antibiotics, since they are less susceptible to cause resistance in the target microorganisms, due to their direct action on membranes, and to their fast degradability, which avoid the accumulation of residues.

NICOLAS J.-L., GATESOUBE F.-J., FROUËL S., BACHERE E., GUEGUEN Y., 2007. Quelles stratégies alternatives aux antibiotiques en aquaculture ? *INRA Prod. Anim.*, 20, 253-258.