LE CONTROLE BACTERIEN DES ELEVAGES DE LARVES DE BIVALVES

Par

A. LUCAS et D. PRIEUR 1)

INTRODUCTION

"Bien que l'aquaculture des mollusques ait provoqué un vif intérêt dans les années récentes, il existe encore un manque de savoir-faire considérable... Beaucoup de firmes se sont aveuglément lancées dans la bataille et ont perdu d'énormes sommes d'argent". C'est en ces termes que s'exprimait William SHAW (1972) lors d'un symposium de l'American Malacological Union.

Ces brèves paroles résument la situation des écloseries commerciales, qui, crées depuis une dizaine d'années, demeurent encore marginales dans la production conchylicole. En effet, les élevages de mollusques en écloseries, sauf exception, ne sont pas rentables. Leur coût trop élevé provient d'une mortalité trop forte, dont la cause directe est l'insuffisance du contrôle des phénomènes biologiques qui entrent en jeu. L'acquisition d'une véritable maîtrise des élevages ne pourra se faire qu'en améliorant la qualité des fécondations, la qualité du milieu, la qualité de la nourriture.

Nous examinerons ici une des façons d'améliorer la qualité du milieu par le contrôle bactérien, dont l'importance est primordiale en milieu clos. Car, ne l'oublions pas, tout élevage, même de taille industrielle, est un milieu confiné, où les conditions bactériologiques et physico-chimiques sont totalement différentes de celles de la mer libre.

LA LIMITATION EMPIRIQUE DE LA FLORE BACTERIENNE

Pour limiter la prolifération bactérienne dans les élevages, on a jusqu'ici largement utilisé deux techniques empiriques : le renouvellement périodique de l'eau des élevages, l'emploi d'antibiotiques non sélectionnés.

a) Le renouvellement de l'eau

Les élevages ayant lieu en eau stagnante, les bactéries s'y développent d'autant plus vite que la température de 20-25°C généralement utilisée, leur est

¹⁾ Laboratoire de Zoologie - Univ. Bretagne Occidentale - 29 N BREST.

favorable et que la présence de matière organique, inévitable, assure leur multiplication. En outre, lorsque le rapport surface des parois augmente, cela favorise la prolifération bactérienne selon ZO BELL et ANDERSON (1936) et ZO BELL (1943). Tout ceci explique qu'en quelques jours, les élevage sont envahis par des microorganismes qui dénaturent le milieu.

D'où la pratique du renouvellement de l'eau : les larves sont filtrées sur tamis et replacées dans de l'eau fraîche préalablement épurée. En renouvelant l'eau journellement, on peut ainsi maintenir des élevages jusqu'à la métamorphose des larves. Cette pratique simple et relativement proche des conditions naturelles, a été et est encore largement utilisée, bien que les taux de mortalité très inégaux, rendent les résultats incertains.

Par exemple, c'est de cette façon que LOOSANOFF et DAVIS (1963) ont réussi leurs premiers élevages expérimentaux à Milford (U.S.A.), et que le clam Mercenaria mercenaria est industriellement produit en Virginie (U.S.A.) (PORTER 1972). En fait, la méthode est praticable localement, mais elle n'est pas généralisable.

b) - L'emploi d'antibiotiques non sélectionnés

L'idée d'employer des antibiotiques est venue tout naturellement. Les expérimentateurs ont pris, au hasard, les antibiotiques dont ils pouvaient disposer et ont constaté une amélioration ou non des élevages pour une certaine dose de produit. D'où l'apparition de recettes dans diverses publications. Prenons un exemple précis, que nous trouvons dans LOOSANOFF et DAVIS (1963). Pour eux la croissance la plus rapide des Clams, Mercenaria mercenaria, est obtenue en présence de 100 mg/l de Streptomycine ou de Combistrep, ou 33 mg/l de Sulmet ou seulement 3 mg/l d'Auréomycine. D'autre part l'Acronize (Chlorotétracycline) à 10 mg/l et la Chloromycétine à 20 mg/l sont actifs vis-à-vis de certaines bactéries pathogènes des élevages.

On constate que pour tous les antibiotiques considérés, sauf l'Auréomycine, les doses que les auteurs conseillent sont de 20 à 200 fois plus fortes que celles utilisées en thérapeutique humaine. Par ailleurs, l'Auréomycine utilisée à 3 mg/l et la Chlorotétracycline à 10 mg/l sont en réalité deux appellations d'un même antibiotique. On peut donc avoir quelques doutes sur la validité des doses conseillées, tout comme sur celui des produits retenus. En fait, ces recettes ont conduit à des résultats très aléatoires.

UTILISATION EXPERIMENTALE DES ANTIBIOTIQUES ET BACTERICIDES

Pour rationaliser l'usage des antibiotiques, divers auteurs ont testé l'action des produits qualitativement et quantitativement. Rappelons que l'usage judicieux des antibiotiques doit satisfaire à deux obligations : limiter efficacement tout ou partie d'une population bactérienne ; ne pas affecter le développement larvaire.

1 - Le choix des antibiotiques

Nous allons considérer pour l'instant l'ensemble des bactéries d'un milieu. Comment choisir un antibiotique qui les élimine globalement ? Pour cela on réalise un antibiogramme sur culture mixte, dont le principe est le suivant. Divers antibiotiques, à différentes concentrations, sont mis en présence d'échantillons du milieu à purifier. Les dénombrements de bactéries après action des antibiotiques, comparés à la concentration de départ, permet de déterminer la substance la plus efficace globalement.

Cette méthode rationnelle est malheureusement longue. Pour agir plus vite les expérimentateurs ont tendance à choisir a priori les antibiotiques à spectre large (puisque les germes sont de nature variée) et à mettre à profit les indications empiriques qui se sont révélées efficaces.

2 - Détermination des doses actives non toxiques

Un certain nombre d'antibiotiques ayant été retenus, on établit un parallèle entre leurs actions à diverses concentrations. Pour illustrer cette méthode, nous analyserons deux expérimentations récentes.

WALNE, (1958) (1966) travaillant à Conway (G.B.) a montré les effets favorables, sur la croissance de larves d'Ostrea edulis, du mélange : Pénicilline (50 000 UI/litre) et Streptomycine (50 mg/litre). Le Chloramphénicol, aux concentrations de 6 mg, 12,5 mg, 25,0 mg, 37,5 mg/litre, a donné les résultats inversement proportionnels à la concentration et inférieurs au mélange Pénicilline-Streptomycine. Les résultats sont encore moins bons pour l'Auréomycine aux concentrations de 0,28 0,56, 1,12, 3,4, 5,6 mg/litre.

LE PENNEC et PRIEUR (1972), LE PENNEC et al. (1973) travaillant à Brest, ont étudié l'action de 3 antibiotiques (Erythromycine, Chloramphénicol, Auréomycine) et d'un sulfamide (Sulfamérazine) sur le développement larvaire de Mytilus edulis. Toutes les concentrations étudiées, sur des larves issues des mêmes parents, correspondaient aux concentrations minima inhibitrices déterminées pour divers germes sensibles, pathogènes de l'homme. La Sulfamérazine s'est révélée inactive ou trop peu concentrée. L'Auréomycine a permis une survie correcte à partir de 4 mg, tandis que les témoins, ne contenant pas d'antibiotiques, avaient moins de 20 % de larves vivantes après 3 semaines d'élevage. En ce qui concerne la croissance, les meilleurs résultats ont été obtenus en présence de Chloramphénicol, la croissance étant directement proportionnelle à la concentration.

Il est difficile de comparer les deux séries de résultats obtenus à Conway et à Brest car ils l'ont été sur des espèces différentes et par des méthodologies différentes. Nous pouvons cependant nous arrêter sur le cas du Chloramphénicol. Les résultats apparemment contradictoires constituent un bel exemple de lacune à combler. LE PENNEC et al. trouvent une amélioration proportionnelle à la concentration pour des doses allant de 2 à 8 mg par litre. WALNE remarque au contraire qu'une augmentation de la concentration défavorise la croissance, mais pour des doses allant de 6 mg à 37,5 mg/litre. N'y a-t'il pas une concentration optimale à déterminer ?

Quoi qu'il en soit, les résultats que nous venons d'exposer ont permis de mieux aborder le problème. D'une part ils évitent une dépense excessive du produit; en calculant au minimum les doses nécessaires. D'autre part ils se sont montrés efficaces localement, tant à Conway qu'à Brest, en assurant la réussite régulière d'élevages standardisés. Par exemple, l'emploi du Chloramphénicol à 8 mg/l a permis

dans notre laboratoire, d'expérimenter sur la valeur nutritive d'algues monocellulaires vis-à-vis des larves de moule (LE ROUX et al. 1973), ou de réussir la métamorphose d'espèces d'élevage difficile comme la coquille St. Jacques, Pecten maximus (LE PENNEC 1973).

Pour compléter cette revue des moyens utilisés contre les bactéries des élevages, signalons l'usage des bactéricides à des doses supportées par les larves, par exemple bain de 5 minutes dans de l'hypochlorite à la dose de 3 ppm (WALNE 1966). L'usage de complexants devrait aussi permettre un assainissement du milieu, mais nous ne possédons pas encore de résultats à ce sujet.

Cependant, jusqu'ici, les populations bactériennes des élevages ont été considérées d'une façon globale, or de nombreuses observations montrent que le rôle joué par les bactéries dans les élevages est très variable. Il nous faut donc les distinguer.

LA CONNAISSANCE DE LA FLORE BACTERIENNE DES ELEVAGES

1 - Origine des bactéries

Les bactéries des élevages appartiennent pour la plupart aux genres Pseudomonas, Flavobecterium, Achromobacter et Vibrio. Elles ont 4 origines principales :

- a) les récipients et l'air. Ils représentent une source constante de contamination. Rappelons en effet que la plupart des bactéries telluriques sont présentes en mer. Selon BRISOU (1970) "environ 90 % des bactéries appartenant à la biosphère se cultivent aisément sur des milieux préparés avec de l'eau de mer naturelle". Pour les éliminer il faudrait opérer aseptiquement ce qui n'est pas normalement praticable. Pour en éviter l'excès il suffit de manipuler avec soin : la propreté est la qualité première d'une écloserie.
- b) l'eau de mer. Utilisée à l'état brut, elle apporte une forte quantité de germes qui prolifèrent à la faveur du confinement. En général, elle est épurée par la filtration, les rayons ultra-violets ou l'ozone. Seul ce dernier procédé permet sa stérilisation radicale, mais l'ozone est un produit toxique pour les larves. Dans la pratique l'eau de mer est rarement stérile, elle se contamine d'ailleurs au cours des manipulations.
- c) les géniteurs. Leur flore externe est partiellement éliminée par le nettoyage, mais la flore interne de la cavité palléale, du mucus, des fèces et des pseudofèces, se mêle aux produits génitaux. On peut, avant leur reproduction, faire barboter les géniteurs dans une eau riche en antibiotiques pour atténuer les risques de contamination.
- d) la nourriture. La nourriture artificielle est généralement stérilisée, mais, matière organique inerte, elle favorise la multiplication des bactéries. La nourriture naturelle sous forme d'algues unicellulaires est contaminante, sauf si la culture d'algues est axénique, qualité qu'il est possible d'obtenir expérimentalement, mais difficilement conservable dans les écloseries, en raison de l'important volume requis journellement. A défaut de l'axénie, on s'appliquera à avoir les cultures d'algues les plus propres possibles. CALABRESE et DAVIS (1970) ont montré que les cultures d'algues "bactérisées" peuvent devenir soudainement toxiques, alors même

que leur aspect et leur croissance ne sont pas altérés. Pour tout élevage bien conduit, on ne saurait tolérer la moindre négligence dans la surveillance bactériologique des algues-fourrage.

2 - Caractères des populations bactériennes des élevages

La connaissance des bactéries d'un milieu repose sur un certain nombre de tests morphologiques, colorimétriques, physiologiques et biochimiques. Faute d'études systématiques on ne peut encore se faire une idée précise sur les caractères des populations bactériennes des élevages ou des cultures d'algues.

Ainsi les propriétés biochimiques des bactéries sont décrites de manière plus ou moins complète selon les auteurs, par exemple 15 tests biochimiques ont été réalisés par MURCHELANO et BROWN (1969) et 102 par BERLAND et al. (1969). Une telle disproportion dans les caractères étudiés rend les comparaisons difficiles entre les populations bactériennes isolées et décrites par divers auteurs.

Par contre, l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des différentes souches isolées à plus souvent retenu l'attention des expérimentateurs. Signalons quelques résultats. MURCHELANO et BISHOP (1969) ont confronté à 4 antibiotiques les bactéries isolées de Crassostrea virginica élevée au laboratoire. Le Chloramphénicol a été actif sur 93,6 % des souches, la Pénicilline sur 78,6 %, la Tétracycline sur 75,0 % et la Streptomycine sur 72,4 %. Sur des cultures d'algues, MURCHELANO et BROWN (1969) obtiennent les pourcentages suivants : Chloramphénicol 91,6 %, Tétracycline 75,0 %, Streptomycine 65,0 % et Pénicilline 37,5 %.

Pour BERLAND et al. (1969) Auréomicyne, Terramycine, Polymyxine B et Chloramphénicol, sont les antibiotiques les plus actifs, mais leurs doses efficaces sont incompatibles avec le développement correct des algues monocellulaires en culture.

Dans le cadre d'une étude approfondie des bactéries d'un milieu d'élevage, ou en relation avec ce milieu, nous avons isolé 80 souches bactériennes et soumis chacune d'elles à 120 tests d'identification. Parmi ces tests, nous avons réalisé des séries d'antibiogrammes spécifiques, dont les résultats pour 37 souches sont consignés dans le tableau 1. Sur les 11 antibiotiques considérés, 6 sont actifs sur plus de la moitié des souches testées, les plus actifs étant la Polymyxine B (72 %) et le Chloramphénicol (70 %). Au contraire, la Streptomycine et la Pénicilline ne sont actives que sur 18,9 et 13,5 % des souches. Mais le détail de la méthode nous permet de nuancer notre appréciation. Nous constatons par exemple que la souche DP01 est insensible aux 11 antibiotiques éprouvés, que EM23 n'est sensible qu'à la Néomycine et DP04 à la Novobiocine. Enfin, l'Auréomycine, efficace sur toutes les souches de type ME, ne l'est que sur 3 souches sur 13 isolées de Duna-liella primolecta. Nous sommes persuadés qu'une telle connaissance analytique des bactéries d'un milieu constitue un préalable à l'emploi rationnel des antibiotiques.

| | Eau de mer filtrée | | | | | | | | Dunaliella primolecta | | | | | | | | | | | * | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------|--------------------|------------------|---|------------------|----|---|-------------|-------------|-----------------------|-------------|------------------|-------|------------------|------------------|------------------|-------------|-------|-----|--|---|--|-------|--|-----|--|---------|-------------|------------------|------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | 0 | E M O B | 0 | E M D 7 | ol | 1 | E M 1 | E M 2 | E M 2 | E M 2 | E M 2 5 | D P 0 | D P 0 2 | D P 0 3 | D P 0 4 | D P 0 | P 0 7 |) F | | | | D E | | D 0 | | M E O 6 | M E 0 | M E 0 8 | M E O 9 | M E 1 | M E 1 | M E 1 | M E 1 | M E 1 | M E 1 | M E 2 | M E 2 | M E 2 |
| CHLORAMPHENICOL | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ERYTHROMYCINE 5 mcg. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| KANAMYCINE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| NEOMYCINE 10 mcg. | | | | | Į | | į | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| NOVOBIOCINE 10 mcg. | | | | | | Ĺ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| PENICILLINE 5 UI | Ц | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | : :i | | | | | |
| STREPTOMYCINE 5 mcg. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AUREOMYCINE 10 mcg. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| COLYMYCINE 5 mcg. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| OLEANDOMYCINE 5 mcg. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| POLYMYXINE B | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

<u>Tableau 1</u>: Sensibilité à 11 antibiotiques de souches bactériennes isolées à partir :

- d'eau de mer filtrée sur filtre Millipore 0,2 µ (notées EM) ;
- d'une culture de Dunaliella primolecta (notées DP);
- de ponte et d'éjaculat de Mytilus edulis (notée ME) ; Les cases noircies indiquent la sensibilité d'une souche à un antibiotique.

Les antibiogrammes ont été réalisés par la méthode de diffusion. Disques (Difco-medium concentration) sur gélose nutritive.

Par ces premiers résultats, nous pensons avoir montré l'intérêt des études approfondies sur les bactéries d'un élevage. Il serait souhaitable que de telles investigations soient entreprises dans des laboratoires différents, car les variations locales semblent assez considérables, si l'on se réfère aux rares travaux publiés. Cependant, de telles recherches ne peuvent s'engager à la légère : elles nécessitent une infrastructure appropriée et elles représentent un énorme travail de manipulation, dont le dépouillement ne se conçoit que sur ordinateur.

Rappelons que les bactéries peuvent avoir un rôle favorable et même indispensable au cours du développement des Invertébrés marins. Ainsi, le rôle primorprimordial du film bactérien lors du settlement des larves a été mis en évidence pour des Echinodermes, des Cirripèdes, des Annélides, en particulier J. GRAY (1967) a décrit un cortège de bactéries attractif pour les larves de *Protodrilus* (Archiannelide). Les études équivalentes n'existent pas pour les Mollusques, mais de nombreuses observations suggèrent l'existence du même phénomène. Le rôle nutritif de bactéries absorbées par les larves, sous forme de seston, est aussi généralement admis.

Dans d'autres cas, les bactéries peuvent avoir un rôle pathogène caractérisé. Nous en citerons deux exemples : GUILLARD (1959), observe des bactéries grouillantes, dans les coquilles de larves moribondes de Venus mercenaria. A partir d'une larve malade transportée aseptiquement dans un tube de milieu stérile, il isole une douzaine de souches bactériennes. L'inoculation de ces souches à des élevages sains révèle la présence de deux pathogènes appartenant aux genres Vibrio et Pseudomonas. La mortalité des larves est due à une action directe des bactéries et non à une toxine résultant du métabolisme microbien. Plus récemment, TUBIASH, CHANLEY et LEIFSON (1965) ont décrit une maladie qu'ils nomment : "Bacillary Necrosis". Les souches pathogènes proviennent de larves moribondes de Venus mercenaria. Ces souches sont virulentes sur diverses larves telles que Venus mercenaria, Ostrea edulis, Aequipecten irradians, Teredo navalis. Elles appartiennent aux genres Vibrio et Aeromonas. Dans toutes les infections expérimentales, une mortalité massive est observée 16 à 20 heures après l'infection.

Pour notre part, nous avons recherché, parmi les 80 souches isolées, d'éventuels pathogènes. Toutes ces souches ont donc été inoculées à plusieurs reprises à des élevages apparemment sains de *Mytilus edulis*.

Sur les 80 souches testées, au cours de 6 expérimentations différentes, 24 d'entre elles ont provoqué au moins une fois plus de 60 % de mortalité dans les élevages, 7 souches provoquant plus de 90 % de mortalité.

La cause de cette mortalité est bien la souche inoculée, puisque d'une part les lots témoins (non inoculés) sont en bonne santé et que d'autre part des élevages ayant reçu d'autres souches sont également en bonne santé. Il apparaît donc que dans les apports faits à chaque élevage, il y a inoculation de souches ayant des possibilités pathogènes. Mais diverses observations nous font penser qu'elles ne peuvent exprimer leur virulence que dans certaines conditions.

En conclusion, nous pouvons dire que, désormais, des méthodes de contrôle bactérien ont été mises au point pour les élevages de Bivalves, mais qu'il ne s'agit là que d'une première approche.

En effet, les élevages de mollusques marins ont tous été jusqu'ici agnotobiotiques selon la terminologie de DOUGHERTY (1959), c'est-à-dire que les larves ont été associées à un certain nombre d'espèces inconnues. Dans l'avenir, au niveau du laboratoire de recherche, l'obtention d'élevages synxéniques, où le nombre et la nature des espèces associées seraient connus, permettrait d'énormes progrès dans le contrôle microbiologique. Parmi ces progrès, le plus souhaitable serait la réalisation d'un environnement bactérien propice aux larves par élimination spécifique des pathogènes et préservation, sinon ensemencement, des bactéries favorables.

Dès à présent, au niveau des écloseries industrielles, il n'est pas question d'envisager des méthodes aussi élaborées. Toutefois, le contrôle bactérien est une nécessité. Plus la flore bactérienne est abondante, plus les élevages sont mauvais. Un élevage envahi par toutes sortes de bactéries, de microorganismes et conséquemment de protozoaires, est pollué. A un faible taux, cette pollution est tolérable, mais il y a un seuil à ne pas dépasser. Comme l'a montré WALNE (1958) l'indice de réussite des élevages varie en fonction inverse de leur degré de pollution microbiologique.

Dans l'état actuel de nos connaissances et dans la pratique deux règles s'imposent : réduire la contamination, limiter la multiplication bactérienne. Si l'on utilise des antibiotiques, il faut le faire judicieusement et très modérément. A cette fin, les méthodes combinées des antibiogrammes et du testage des doses actives des produits, sont des moyens commodes, utilisables par toute écloserie pour surmonter la plupart des difficultés locales, suscitées par des microorganismes. La modération de l'emploi des antibiotiques est essentielle, car les doses massives et aveugles créent d'insolubles problèmes : celui des souches résistantes, celui des accoutumances et, pour les mollusques, celui d'un passage difficile à la vie en mer libre.

BIBLIOGRAPHIE

BERLAND B.R., BIANCHI M.G. et MAESTRINI S.Y. 1969

Etude des bactéries associées aux algues marines en culture. Marine Biology, 2 : 350-355.

BRISOU J. 1970

La vie des microbes dans les mers et pollution. Situation actuelle. Perspectives. Rev. Intern. Oceanogr. Med., 17: 127-145.

CALABRESE A. et DAVIS H.C. 1970

Tolerances and requirements of embryos and larvae of bivalve molluscs. <u>Helgol. Wiss.</u> Meeresunters, 20: 553-564.

DOUGHERTY E.C. 1959

Introduction to axenic culture of invertebrate metazoa : a goal. Ann. N.Y. Acad. Sci., 77 : 27-54.

GRAY J.S. 1967

Substrate selection by the archiannelid *Protodrilus rubropharyngeus*. <u>Helgolander</u> Wiss. Meeresunters, 15: 253-269.

GUILLARD R.R.L. 1959

Further evidence of the destruction of Bivalve larvae by bacteria. <u>Biol. Bull.</u> Woods Hole, 55: 260-282.

LE PENNEC M. 1973

Morphogenèse de la coquille de *Pecten maximus* (L.) élevée au laboratoire. Sous presse.

LE PENNEC M. et PRIEUR D. 1972

Développement larvaire de *Mytilus edulis* (L.) en présence d'antibiotiques. 1ère partie : Détermination des concentrations actives non toxiques de quatre antibiotiques : Auréomycine, Erythromycine, Chloramphénicol et Sulfamérazine. Rev. Intern. Océanogr. Méd., 28 : 167-179.

LE PENNEC M., PRIEUR D. et CHARDY P. 1973

Développement larvaire de *Mytilus edulis* (L.) en présence d'antibiotiques. 2ème partie : action sur la croissance de quatre antibiotiques : Auréomycine, Erythromycine, Chloramphénicol et Sulfamérazine. Rev. Intern. Océanogr. Méd., 30 : 23 p.

LE ROUX S., LUCAS A., NEUVILLE D. et DASTE P.H. 1973 Influence d'une diatomée, Amphora perpusilla (Grunow) sur la croissance de Mytilus edulis (L.) en élevage expérimental. En préparation. LOOSANOFF V.L., et DAVIS H.C. 1963

Rearing of bivalve molluscs. In: Advances in Marine Biology, F.S. Russel Ed. Academic Press, Inc., London, 1: 1-136.

MURCHELANO R.A. et BISHOP J.L. 1969

Bacteriological study of laboratory reared juvenile American oysters (Crassostrea virginica). J. Invert. Path., 14: 321-327.

MURCHELANO R.A. et BROWN C. 1969

Bacterial flora of some algal foods used for rearing Bivalve Larvae. <u>J. Fish. Res.</u> Bd. Can., 26: 2760-2764.

PORTER H.J. 1972

Recent advances in clam aquaculture. Bull. Amer. Malacol. Union Inc.: 16-17.

TUBIASH H.S., CHANLEY P.E. et LEIFSON E. 1965

Bacillary necrosis, a Disease of larval and juvenile Bivalve Molluscs. 1. Etiology and Epizootiology J. Bact., 90 (4): 1036-1044.

WALNE P.R. 1958

The importance of bacteria in laboratory experiments on rearing the larvae of Ostrea edulis. J. m. b. Ass. U.K., 37: 415-425.

WALNE P.R. 1966

Experiments in the large scale culture of the larvae of Ostrea edulis. <u>Fish.</u> <u>Invest. London</u> (2), 25 (4): 1-53.

ZO BELL C.E. and ANDERSON D.Q. 1936

Observations on the multiplication of bacteria in different volumes of stored sea water and the influence of oxygen tension and solid surfaces. <u>Biol. Bull. Woods</u> Hole, 71: 324-342.

ZO BELL C.E. 1943

The effect of solid surfaces upon bacterial activity. J. Bact., 46: 39-56.

DISCUSSION

LE BITOUX: Ne pensez-vous pas que les techniques de stérilisation par l'ozone pour limiter les bactéries sans les éliminer seraient préférables? Cela aurait l'intérêt certain de réserver les antibiotiques à un autre but, thérapeutique entre autres. Parce que vous risquez de créer des souches antibiorésistantes que l'on aura du mal à combattre après, et qui, elles, peuvent se révéler un jour pathogènes.

LUCAS: Je crois l'avoir dit : chaque fois que l'on fait un élevage, on emploie une eau de mer qui n'est pas stérilisée mais qui est épurée. Et c'est suffisant, parce que peu importe les bactéries, même les bactéries pathogènes si elles ne sont pas nombreuses. Il y a le problème de la dose contaminante. Pour qu'il y ait un effet des bactéries sur les élevages, il faut qu'elles soient assez nombreuses. C'est une question non pas qualitative, mais quantitative. On peut donc les éliminer de différentes façons. On peut ainsi développer les méthodes où l'on n'emploie pas du tout d'antibiotiques.

LE BITOUX : N'est-ce pas préférable ?

LUCAS: Cela peut être préférable, mais vous ne pouvez être sûr de votre élevage si vous ne le contrôlez pas complètement. Vous allez réussir une fois sur trois par exemple en n'utilisant pas du tout d'antibiotique. Mais j'avais une autre préoccupation: celle d'avoir des élevages standardisés qui réussissent à cent pour cent. On peut voir dans ces conditions quelle est l'algue qui est le meilleur fourrage. Je dois dire aussi que je fais des élevages confinés, très petits, de l'ordre de 1 à 2 litres. Ce n'est évidemment pas la même chose qu'avec des élevages de 30 ou 500 litres.

RENE : Est-ce que vous ne craignez pas de supprimer une certaine pression de sélection en favorisant la survie d'animaux qui par la suite, remis dans le milieu naturel, succomberont à certaines infections ?

LUCAS: C'est là le problème des écloseries. L'huître pond 10 millions d'oeufs, dans la nature il y en a peut-être 10 qui vont résister. Si l'on arrive, en écloseries, à en faire subsister 1 000 et peut être même 10 000, il est vraisemblable qu'il y aura des individus faibles et peut-être même génétiquement plus ou moins bien conformés, qui vont subsister. Mais je crois que l'écloserie ne peut fournir que de la chair de consommation, tout ce qu'on arrive à avoir en écloserie doit être vendu. Les géniteurs doivent provenir de bancs naturels ou de parcs traditionnels. Il y a aussi l'autre côté du problème, on peut aussi imaginer que l'on sélectionne; mais je crois que l'on n'en est pas encore à la sélection et les travaux de MENZEL, qui sont très douteux, sont prématurés.

MARTEIL : Je reviens à ce problème, car l'un des avantages que l'on reconnaît généralement au procédé des écloseries, c'est de permettre une certaine sélection et vous n'en avez pas l'air absolument persuadé, du moins dans l'immédiat.

LUCAS : Il pourrait y avoir des écloseries de sélection et des écloseries de

production. Dans les écloseries de production, on fait vivre tout ce qui peut vivre, et on voit le tonnage à la fin. Dans les écloseries de sélection, le but est différent, et je ne pense pas que l'on puisse se passer du milieu naturel, de son épreuve et de sa sélection.

MARTEIL: On le voit d'ailleurs jusqu'à un certain point dans le comportement des larves ou de jeunes nés en écloseries et que l'on remet dans le milieu naturel. On commence à avoir quelques données assez contradictoires sur ce problème, mais dans un certain nombre de cas, il semble que la mortalité ou que le taux de mortalité de ces jeunes nés en écloseries et remis dans le milieu naturel atteint parfois des proportions assez grandes. On manque encore de recul pour juger sainement. Mais dans un certain nombre de cas, et nous avons des données précises, on atteint tout de même en quelques mois des taux de 70 à 80 % de mortalité. Cela tient d'ailleurs au mode de travail. Il est difficile de juger car les soins que l'on peut prendre dans une écloserie expérimentale, on ne peut pas les prendre dans une exploitation de type commercial. Là, nous avons des chiffres qui montrent qu'il y a une mortalité relativement importante.

LUCAS: Je pense qu'il y a un palier qui n'a pas été suffisamment étudié, c'est ce passage délicat entre le petit naissain de 1 millimètre et le naissain de l'ordre du centimètre, c'est-à-dire de la taille du naissain qu'on détroque sur les collecteurs. Il faut trouver une technique dans les écloseries qui corresponde à cette période. Je pense que l'écloserie devrait fournir le petit naissain que des nurseries prendraient en charge par la suite avec des méthodes moins sophistiquées; je ne pense plus à ce moment-là à l'emploi d'antibiotique, mais peut-être à un apport de nourriture et une défense contre les prédateurs, de façon, à permettre à ces individus de croître rapidement avec une survie élevée.

LUBET: Je voudrais signaler un autre aspect. On nous a beaucoup parlé d'antibiotiques sur les bactéries, c'est parfait, mais quelle est l'action des antibiotiques sur les larves? Evidemment il y a deux types d'action possible et quelquefois la même action avec le même antibiotique. Il y a certains antibiotiques qui peuvent agir comme facteur de croissance à certaines concentrations et qui à d'autres concentrations peuvent bloquer la synthèse des ARN. Certains antibiotiques peuvent agir pour bloquer certaines affections, mais il n'est pas sûr que, pour les larves, ces phénomènes apparaissent aux mêmes concentrations. Il y a là tout un champ d'investigations qui me semblent extrêmement longues et très difficiles, mais c'est très important : on parlait tout à l'heure de sélection naturelle, mais finalement ce que l'on va faire, c'est une sélection par rapport aux antibiotiques que l'on donne pendant la période où s'effectue l'embryogenèse. Là il n'y a pas forcément une sélection en fonction des conditions naturelles. Je crois que ce problème doit être posé.

LUCAS : Nous l'avons étudié pour la croissance, nous avons essayé de voir l'influence des antibiotiques sur la croissance.

DRACH: Quels sont économiquement les avantages comparés de la lutte par antibiotiques et de la lutte par les ultraviolets? il y a une dizaine d'années, j'ai passé quelques jours au laboratoire de Milford, chez le Professeur LOOSANOFF. Le laboratoire pratiquait de très grands élevages de *Venus mercenaria*. Pouvez-vous me dire si c'est seulement expérimental, ou si cela frôle les quantités nécessaires en écloserie : 40 bacs de 10 litres contenant chacun environ de 500 000 à 1 million de véligères. Là, l'effet des U.V. était tout à fait suffisant à une dose relativement faible, et pourtant il s'agissait d'une eau de mer très polluée.

LUCAS: En effet, je l'ai signalé en disant que dans leurs premières expériences, LOOSANOFF et DAVIS n'employaient pas d'antibiotiques. Ils faisaient une oeuvre de pionniers, et c'est à la suite de leurs travaux dans des bacs de 10 litres et de 30 litres qu'il y a eu des écloseries commerciales. Les plans des premières écloseries commerciales ont été dessinés dans ce laboratoire mais les résultats qu'ils obtenaient étaient irréguliers; il y avait des mortalités inexplicables, il y avait aussi d'ailleurs beaucoup d'individus qui étaient anormaux à tel point que l'on comptait les vivantes, les mortes et les anormales quand on faisait les comptages de larves dans les élevages. LOOSANOFF et DAVIS ont utilisé les antibiotiques de façon brutale et sans sélection. L'on a tendance maintenant à affiner, à chercher quelque chose qui élimine vraiment les bactéries nocives et encore en employant le minimum de produits. C'est là le but, mais c'est vraiment artificiel et ce n'est pas une sélection naturelle.

LE BORGNE: Vous avez parlé de variations locales mais je crois qu'on constate aussi des variations saisonnières dans la qualité de l'eau de mer et s'il fallait faire des antibiogrammes, il faudrait en faire pratiquement chaque semaine. Avec le problème des souches résistantes qui apparaissent aux antibiotiques, se pose le problème de la rentabilité de ces antibiotiques qui sont d'un coût élevé. Surtout que, lorsque l'on passe au stade de l'écloserie, ce n'est plus par litre qu'il faut compter, mais par dizaines de mètres cubes par jour, et même avec des doses faibles, quand on examine le prix de revient, on s'aperçoit que l'emploi d'antibiotiques est vraiment coûteux. Je pense que l'emploi des antibiotiques est une méthode expérimentale, mais pas véritablement pratique.

LUCAS: J'ai dit, textuellement d'ailleurs qu'il faut employer les antibiotiques quand il y a des difficultés et il faut savoir lesquels employer dans les écloseries commerciales. Mais c'est là un problème de rentabilité "à rebours": il n'y a pas de rentabilité quand il y a une forte mortalité mais si, pour empêcher la forte mortalité, on emploie beaucoup d'argent, ce n'est pas rentable non plus.