

## Un examen sanitaire externe des holothuries produites en éclosion

Steve Purcell<sup>1</sup> et Igor Eeckhaut<sup>2</sup>

### Sommaire

Que des maladies se déclarent chez les populations d'holothuries produites en éclosion et c'est toute la production et les projets de repeuplement des stocks qui en pâtissent. C'est pourquoi il a été établi un protocole d'examen externe rapide des juvéniles d'holothuries destiné à déceler des maladies et un mauvais état de santé chez les animaux. Il consiste à examiner pendant une minute, sous un microscope de faible grossissement, chaque individu pris dans un échantillon aléatoire de juvéniles. L'examen porte sur six signes externes: anomalies de la bouche, anus, papilles, couleur de la peau, excès de mucus, lésions non cicatrisées, présence de parasites et d'invertébrés macroassociés. Si plus de 5 % des animaux examinés ne semblent pas "en bonne santé" ou si plus de 2 % sont malades, il faut considérer le groupe entier où ont été prélevés les échantillons comme impropre au grossissement ou à la reconstitution du stock. Dans ce cas, il faut améliorer le milieu de vie des animaux dans l'éclosion et mettre en quarantaine et traiter le groupe tout entier. Le protocole fixe des procédures normalisées d'inspection de grands nombres de juvéniles, destinées à y déceler de nombreuses maladies infectieuses. Il sert aussi de fondement à l'élaboration de protocoles normalisés.

### Introduction

La production d'holothuries élevées en éclosion suscite aujourd'hui un grand intérêt dans le monde entier et elle est expérimentée dans plusieurs pays comme l'Australie, la Chine, l'Équateur, Kiribati, Madagascar, la Malaisie, la Nouvelle-Calédonie et le Vietnam. Quel que soit l'emploi qui sera fait des juvéniles, la reconstitution ou l'amélioration du stock, ou leur grossissement dans des bassins en terre, des maladies peuvent se déclarer chez les animaux vivant dans l'éclosion et compromettre la production. Il est impératif de savoir tout d'abord de quelle maladie il s'agit pour traiter les juvéniles avant de les lâcher dans le milieu naturel. Jusqu'à récemment, on savait peu de choses sur les maladies des holothuries.

Celles-ci peuvent avoir une base biomoléculaire (par exemple, héréditaire), être induites par des agents pathogènes ou être causées par des facteurs abiotiques (Kinne, 1980). L'atelier financé par la FAO en Chine (octobre 2003), et intitulé, "Progrès dans l'aquaculture et la gestion des concombres de mer", a accru les connaissances de la communauté scientifique au sujet des maladies biotiques et des parasites qui affectent les holothuries. Wang *et al.* (2004) ont signalé que plusieurs agents pathogènes, dont des bactéries, des champignons et d'autres parasites peuvent être présents dans les larves et les juvéniles de *Apostichopus japonicus* élevés en stations aquacoles. Les infections se manifestent par des lésions qui commencent autour de la bouche ou de l'anus, des ulcérations blanchâtres sur la peau et les papilles, un excès de mucus sur le corps, une décoloration de la peau et des changements d'aspect et de comportement (par exemple, les individus infectés peuvent maigrir, s'affaiblir et devenir léthargique). Eeckhaut *et al.* (2004) ont fourni une liste de bactéries, protozoaires et métazoaires (comme des plathelminthes, des gastro-podes et des crustacés parasites) pouvant causer des

maladies chez les holothuries. Ils ont aussi signalé l'existence d'une maladie bactérienne contagieuse touchant *Holothuria scabra*, qui commence par une lésion blanche près de l'anus qui s'étend ensuite à l'ensemble du corps. L'examen au microscope et les techniques biomoléculaires se sont avérés très précieux pour l'identification de la bactérie à l'origine de cette maladie appelée "dermatose ulcéreuse" (Becker *et al.*, 2004). Les symptômes de bon nombre des maladies signalées par Wang *et al.* (2004) et Eeckhaut *et al.* (2004) sont visibles sous microscope de faible grossissement, de sorte qu'il devrait être possible de les détecter chez les juvéniles avant de transférer ceux-ci dans les bassins de grossissement ou dans le milieu naturel.

Outre les infections proprement biotiques, certaines maladies touchant les holothuries peuvent être d'origine virale ou chimique, ou provenir de mauvaises conditions d'élevage. Ainsi, une ventilation excessive ou des températures inappropriées peuvent causer la maladie et la mort de larves d'holothuries (Hamel *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2004). En Nouvelle-Calédonie, un fil de cuivre placé dans les cuves a suffi pour tuer des juvéniles en quelques jours (S. Purcell, données non publiées). Les signes cliniques peuvent être imperceptibles et ne montrer aucune lésion ni malformation. Les animaux malades deviennent léthargiques ou leur corps change de couleur. Les maladies résultant d'une contamination chimique leur font perdre l'appétit et les rendent plus vulnérables aux assauts des prédateurs lorsqu'ils sont relâchés dans la mer.

Les conséquences induites par le lâcher de juvéniles malades ou en mauvaise santé dans le milieu naturel peuvent être directes ou indirectes. Tout d'abord, les maladies contagieuses dont sont atteintes les holothuries élevées en éclosion peuvent s'étendre aux animaux sauvages, à leurs concurrents ou à leurs prédateurs. Par exemple, certaines

1. The WorldFish Center, c/o Secrétariat général de la Communauté du Pacifique, BP D5, 98848 Nouméa Cedex, Nouvelle-Calédonie. Mél.: [s.purcell@cgiar.org](mailto:s.purcell@cgiar.org)  
2. Laboratoire de Biologie marine, Université de Mons-Hainaut, 6 avenue du Champ-de-Mars, B-7000 Mons, Belgique

souches bactériennes peuvent infecter des poissons ou d'autres invertébrés (cf. Becker *et al.*, 2004). Ensuite, l'amaigrissement des animaux remis en liberté peut causer leur mort sans qu'on y trouve une explication, s'ils meurent juste après leur lâcher, ou les rendre plus vulnérables aux attaques des prédateurs en diminuant leurs mécanismes naturels de défense (substances chimiques dissuasives, enfouissement ou camouflage).

Il importe de suivre une procédure d'inspection avant de lâcher des individus dans le milieu naturel afin d'en réduire les risques. Nous présentons ici un protocole à utiliser pour vérifier rapidement l'état de santé de juvéniles d'holothuries sous un microscope à dissection, les observations à faire pour déterminer si les juvéniles peuvent être lâchés sans risque, et certains critères spécifiques permettant de détecter des maladies chez les holothuries de sable *Holothuria scabra*.

## Inspection sanitaire

### Avant l'examen

Afin de déceler des maladies éventuelles dans un groupe de juvéniles, il est indispensable de prélever de façon aléatoire des spécimens dans tous les stocks élevés à l'écluserie. À titre indicatif, le nombre de juvéniles à prélever ne doit pas être inférieur à la racine carrée du nombre total de juvéniles contenus dans le lot.

1. Prélever un échantillon aléatoire du lot de juvéniles élevés à la station aquacole
2. Placer chaque juvénile vivant dans une boîte de Pétri contenant de l'eau de mer et l'examiner sous un microscope à dissection (figure 1a)
3. Puis suivre les procédures ci-dessous et considérer l'un après l'autre les points à cocher dans la liste de vérification pour chaque animal; noter les anomalies dans l'une ou l'autre catégorie: "mauvaise santé" ou "malade". Les juvéniles en mauvaise santé sont ceux qui présentent des symptômes de

stress ou des séquelles de mauvaise manipulation, les juvéniles malades sont ceux qui présentent des symptômes d'infection par des agents pathogènes.

### Protocole d'inspection

Les points suivants se réfèrent à divers indicateurs de bonne santé ou de maladie. Il faut mettre une appréciation en face de chaque point. La revue de tous les points devrait prendre une minute par juvénile.

- I. Confirmer que la coloration de la peau et des papilles est normale. Les juvéniles de *H. scabra* du Pacifique peuvent être de couleur noire ou avoir une peau bigarrée, beige verdâtre, brune et grise, avec de petites taches noires (figure 1b). Les papilles peuvent être hérissées de petites excroissances, ce qui est normal (Figures. 2a, b, c). La surface ventrale doit présenter de nombreux tubes ambulacraires épars, ainsi que la surface dorsale mais en moins grand nombre. Ces tubes apparaissent comme des taches noires lorsqu'ils sont rétractés et ils sont répartis irrégulièrement. Ils peuvent être de couleur jaune sombre, noire ou brun gris. D'une manière générale, la surface ventrale est plus blanchâtre ou de couleur crème (figure 2b). Les juvéniles d'holothuries qui sont pris à la main puis replacés dans l'eau de mer peuvent se gonfler d'eau. C'est un signe de léger stress mais le ballonnement doit disparaître au bout d'une heure. Les juvéniles dont le corps est inhabituellement pâle devrait être considérés comme malades, à titre de précaution.
- II. Vérifier s'il y a une quelconque malformation ou une rétraction anormale de la bouche ou de la zone entourant l'anus. Consulter les ouvrages taxinomiques pour voir comment les papilles sont disposées normalement (par exemple, Conand, 1998). La bouche et les tentacules buccaux, s'ils sont visibles, devraient avoir leur couleur normale chez *H. scabra*, à savoir gris-vert (figure 2b). Les juvéniles d'holothuries de sable ne doivent présenter aucune tache



Figure 1.

a) Chercher des signes de maladies à l'aide d'un microscope de faible grossissement (à dissection).

b) Les divers modes de coloration et couleurs de juvéniles d'holothuries de sable *Holothuria scabra* élevés à l'écluserie du Worldfish Center en Nouvelle-Calédonie (de 2 à 20 g environ)

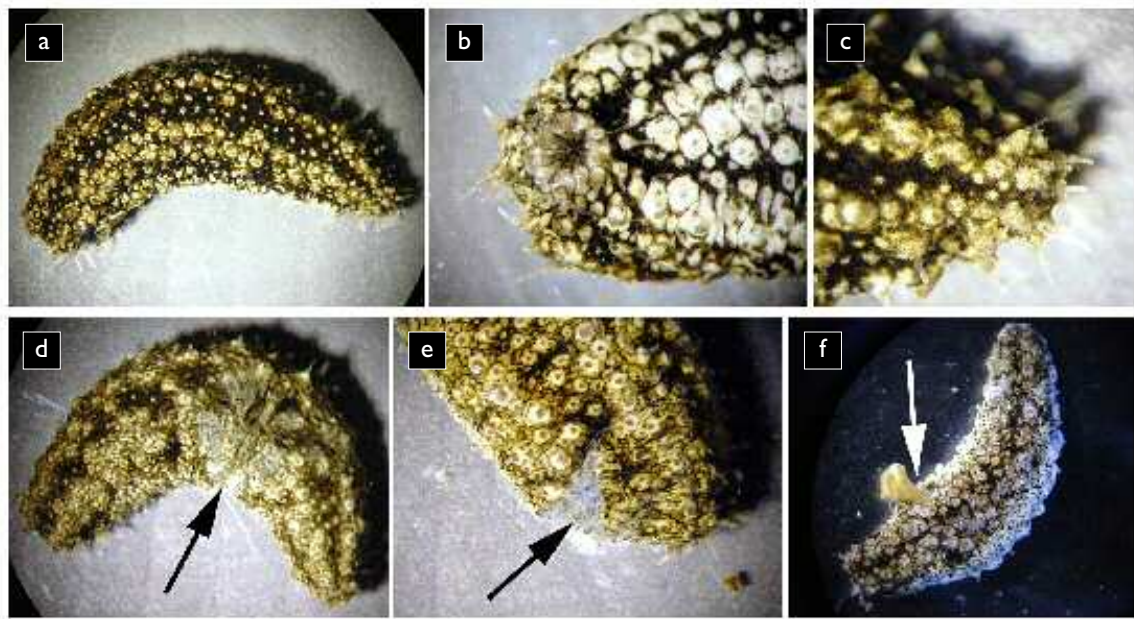


Figure 2.

- a) Un juvénile d'holothurie de sable en bonne santé (de 1 g ou de 20 mm environ) sous microscope de faible grossissement
- b) Surface ventrale et bouche d'un juvénile d'holothurie de sable en bonne santé
- c) Surface dorsale et anus d'un juvénile d'holothurie de sable en bonne santé
- d) Juvénile d'holothurie de sable présentant une lésion cicatrisée au milieu de sa surface dorsale, indiquée par une flèche
- e) Lésion ouverte, mettant à nu le tissu musculaire (indiquée par une flèche), près de l'anus d'un juvénile d'holothurie de sable
- f) Blessure profonde sur la surface dorsale d'un juvénile d'holothurie de sable, faisant sortir une partie des intestins d'une lésion ouverte, indiquée par une flèche

blanche près de l'anus (figure 2c). Si c'est le cas, les juger comme malades.

- III. Au toucher, les juvéniles paraissent parfois légèrement visqueux. Toutefois, ceux qui le sont trop devraient être considérés comme en mauvaise santé.
- IV. Chercher sur tout le corps (y compris la région buccale et l'anus) des signes d'infection fongique ou bactérienne. Les juvéniles présentant des taches blanches, des plaques ou des kystes couverts d'un duvet blanchâtre doivent être considérés comme malades.
- V. Il n'est pas rare que les juvéniles élevés en écloserie aient des plaies causées par leur transfert d'une cuve à l'autre ou à un enclos extérieur. Si ces plaies sont cicatrisées (voir figure 2d) il faut considérer les animaux comme en bonne santé. Observer le corps entier de l'individu pour y chercher des lésions ouvertes (voir figures 2e et 2f). Si la peau est altérée et ne s'est pas refermée, considérer l'animal comme en mauvaise santé.
- VI. Vérifier que les juvéniles ne sont pas infestés d'invertébrés macroassociés, tels que des polychètes, des nématodes marins (ascaris), des crabes, des eulimides ou des copépodes. On peut trouver quelques copépodes sur des individus sains mais une densité de plus de cinq copépodes ou nématodes sur un petit juvénile (1-5 cm de long) est anormale. Considérer ces animaux comme en mauvaise santé s'ils en sont infestés.

### Liste de vérification par individu

Il faut employer une fiche du protocole d'inspection comportant des cases face à chaque point pour y inscrire la date de l'examen, le nombre de juvéniles inspectés et les appréciations concernant chaque critère. Donner une appréciation pour chaque critère (en inscrivant un trait si tout est normal et une croix si le signe de mauvaise santé ou de maladie est présent). C'est un moyen de vérifier que tous les points ont été examinés. Les individus pour lesquels ne serait-ce qu'un seul critère de la liste de vérification suivante est assorti de la marque dénotant une mauvaise santé ou une maladie, sont à exclure de la population saine.

#### Absence de maladie

- La couleur de la peau et des papilles est "normale" et saine.
- On ne remarque aucune tache blanche, malformation ou rétraction anormale de la bouche ou de l'anus.
- Les tentacules buccaux, s'ils sont visibles, sont de couleur gris jaune.
- La surface ventrale est plutôt de couleur blanchâtre ou crème.
- Pas de signe d'infection fongique ou bactérienne, se manifestant par des taches blanches ou des plaques duveteuses sur le corps.

#### Bonne santé

- Pas de couche de mucus excessive sur la peau

- Pas de lésions ouvertes ou de plaies non cicatrisées
- Pas de signe d'infestation par des invertébrés macroassociés

### Marche à suivre après l'inspection des animaux

Lorsque tous les juvéniles de l'échantillon ont été examinés et leur état de santé consigné point par point, il reste à évaluer la bonne santé du groupe entier élevé à l'écloserie, d'après les résultats de l'examen de l'échantillon de juvéniles, et à prendre des mesures si l'examen a révélé un nombre de juvéniles en mauvaise santé ou malades dans une proportion inacceptable.

1. Calculer la proportion de chaque appréciation donnée à l'ensemble des individus du groupe. Si pas plus de 5 % des animaux examinés ont été considérés comme en mauvaise santé et pas plus de 2 % comme malades, considérer le groupe entier comme sain. Cette directive admet la possibilité que quelques juvéniles aient subi un stress, ce qui est parfois inévitable lors de la manipulation des animaux à l'écloserie, mais elle est plus rigoureuse quant au risque de maladies.
2. Si possible, prendre à travers le microscope des photos de tout juvénile jugé en mauvaise santé ou malade. Conserver les juvéniles malades dans un flacon contenant de l'alcool pur de qualité analytique et étiqueter le flacon. Ces spécimens seront analysés ultérieurement.
3. Si l'examen laisse penser que le groupe est en mauvaise santé, améliorer les méthodes de manipulation et les conditions de vie des animaux à l'écloserie et laisser à ceux-ci suffisamment de temps pour qu'ils se rétablissent. Si l'examen a révélé un nombre inacceptable de juvéniles malades, il faut mettre le groupe entier en quarantaine et lui appliquer un traitement thérapeutique. Ce traitement devrait commencer par l'amélioration de la qualité de l'eau et de l'environnement des animaux (cf. Battaglione *et al.*, 1999); puis envisager d'y appliquer des substances chimiques, telles que des produits formolés faiblement dosés, ou des antibiotiques, comme de l'oxytétracycline à 1-5 ppm. Ne pas employer de remède à base de cuivre. Faire un nouvel examen d'un autre échantillon aléatoire de juvéniles, mais pas avant deux semaines de traitement.
4. Ne pas essayer de lâcher dans le milieu naturel des juvéniles provenant d'un groupe où sont survenues des morts inexplicables. Ces morts sont peut-être dues à des maladies, et les animaux survivants, même s'ils paraissent sains, peuvent être porteurs de la maladie.

### Discussion

Ce protocole ne prétend pas permettre une certification définitive ni sans réserve que les holothuries sont exemptes de maladies. Des parasites protozoaires et métazoaires peuvent encore se trouver dans le tube digestif et le colon sans que des symptômes externes clairs le signalent (Eeckhaut *et al.*, 2004). Néanmoins, il est utile de suivre ce protocole pour examiner rapidement un grand nombre de juvéniles afin d'y dépister un grand nombre

de maladies infectieuses. Il peut servir de fondement à l'établissement de protocoles normalisés.

Il n'est pas conseillé aux aquaculteurs de ne se fier qu'à ces seuls protocoles pour éviter le transfert d'holothuries malades ou en mauvaise santé. C'est tout au long du cycle d'élevage qu'ils doivent prendre des précautions pour réduire le risque de maladies. Parmi ces précautions citons les suivantes: 1) maintenir le nombre d'animaux et la biomasse dans des proportions raisonnables (Eeckhaut *et al.*, 2004); 2) veiller à ce que l'eau reste de bonne qualité et éviter les températures extrêmes pour réduire au minimum le stress que subissent les juvéniles; et 3) manipuler délicatement les juvéniles lors de leur transfert pour réduire au minimum les frottements qui abrasent la couche de mucus externe et l'épiderme, exposant ainsi les tissus au risque d'infection. Certaines infections surviennent également lorsque des bactéries prolifèrent et que les holothuries sont stressées ou blessées. Ainsi, des lésions sur les animaux et des morts de juvéniles et d'adultes d'holothuries de sable *H. scabra* sont survenues dans des bassins en terre en Nouvelle-Calédonie où il était impossible de réguler la température et la concentration d'oxygène dissous.

Si l'on a détecté des maladies, il faut isoler les animaux infectés et les traiter, ou les détruire. Les pathologistes que nous avons consultés ont tous insisté sur la nécessité de constituer une base de données sur les agents pathogènes des holothuries. À cet égard, une étude des maladies et de leur prévalence chez les populations sauvages d'holothuries serait un apport inestimable. Un autre besoin exprimé est celui de rassembler des ouvrages de référence décrivant l'histologie normale des holothuries saines. À cette fin, Pierre Becker (Université de Mons-Hainaut, Belgique) souhaite qu'on lui envoie des échantillons d'individus infectés pour qu'il puisse identifier les agents infectieux au microscope et/ou suivant des méthodes biomoléculaires. L'existence d'une base de données répertoriant les agents pathogènes et les maladies qu'ils provoquent sera un outil d'une grande utilité pour progresser dans l'étude des maladies des holothuries d'élevage.

### Remerciements

Nous remercions J. Bell et W. Nash pour leurs précieux avis au sujet du texte de cet article. Les conseils sur les examens de pathologie ont été fournis par Mark Crane, de l'*Australian Animal Health Laboratory*. Cette étude a bénéficié du concours financier de l'ACIAR (Centre australien pour la recherche agricole internationale) et des trois Provinces de Nouvelle-Calédonie. Le présent article figure dans les articles du WorldFish Center sous le numéro 1752.

### Bibliographie

- Battaglione S.C., Seymour, J.E. and Ramofafia C. 1999. Survival and growth of cultured juvenile sea cucumbers, *Holothuria scabra*. *Aquaculture* 178:293-322.
- Becker P., Gillan D., Lanterbecq D., Jangoux M., Rasolofonirina R., Takotovao J. and Eeckhaut I. 2004. The skin ulceration disease in cultivated juve-

- niles of *Holothuria scabra* (Holothuroidea, Echinodermata). *Aquaculture* 242:13–30.
- Conand C. 1998. Holothurians. p. 1157–1190. In: Carpenter K.E. and Niem V.H. (eds). *The living marine resources of the Western Central Pacific, Volume 2: Cephalopods, crustaceans, holothurians and sharks*. FAO Species Identification Guide for Fishery Purposes. FAO, Rome. 1396 p.
- Eeckhaut I., Parmentier E., Becker P., Gomez da Silva S., 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.
- Hamel J.-F., Conand C., Pawson D. and Mercier A. 2001. The sea cucumber *Holothuria scabra* (Holothuroidea: Echinodermata): its biology and exploitation as beche-de-mer. *Advances in Marine Biology* 41:129–223.
- Kinne O. 1980. Diseases of Marine Animals: General Aspects. p. 13–73. In: O. Kinne (ed). *Diseases of Marine Animals*. John Wiley & Sons, Chichester, New York.
- Wang, Y.G., Zhang C.Y., Rong X.J., Chen J.J. and Shi C.Y. 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.

## Incidence d'une infestation parasitaire dans *Holothuria atra* Jaeger

M.K. Ram Mohan<sup>1</sup> et D.B. James<sup>2</sup>

Le cycle de reproduction de l'holothurie *Holothuria atra* a été étudié à Tuticorin, sur la côte sud-est de l'Inde (8°45'N, 78°12'E). À cette fin, on a prélevé des spécimens dans la baie de Tuticorin de novembre 1997 à avril 1999. On a ensuite ouvert les spécimens recueillis en faisant une incision à la partie anale, afin d'ouvrir la cavité du coelome et de sortir les viscères, y compris les gonades, pour étudier le stade de reproduction des gonades. Au cours de l'examen, on a trouvé deux gastéropodes parasites dans le cloaque d'un spécimen, qui était à un stade de maturité sexuelle indéterminée.

D'après Waren (1983), ce gastéropode appartiendrait au genre *Megadenus* sp., dont la classification est la suivante: classe: Gastéropodes; sous-classe: Prosobranchia; ordre: Caenogastropodes; superfamille: Eulimoides; famille: Eulimidés; genre: *Megadenus*.

Les parasites qui ont été observés en septembre 1998 étaient incrustés dans la paroi de la chambre cloaquale. La largeur de coquille des gastéropodes était de 2,8 mm et 2,2 mm, le plus petit étant le mâle. L'holothurie pesait 160 grammes. L'examen a porté sur 994 spécimens au total, et des parasites n'ont été trouvés dans le cloaque que d'un seul animal. On peut donc supposer qu'environ 0,1 % de la population était infestée par le parasite susmentionné.

Jones et James (1970) ont signalé la présence d'un gastéropode parasite, *Stilifer* sp. dans le cloaque de *H. atra*. Après avoir examiné 1 359 spécimens, ils ont enlevé 13

gastéropodes présents dans 8 spécimens infestés. Le taux d'infestation était donc de 0,58 %. Il est nécessaire de conduire d'autres études sur les conséquences physiologiques des infestations parasitaires car des effets tels que la castration pourraient influencer les caractéristiques d'une population d'holothuries dans une localité particulière.

### Bibliographie

- Jones S. and James D.B. 1970. On the stiliferid gastropod in the cloacal chamber of *Holothuria atra* Jaeger. *Proceedings of the Symposium on Mollusca Organised by CMFRI, Cochin, India*. Pt. 3:799–804.
- Ram Mohan M.K. 2001. Annual reproductive cycle of *Holothuria (Halodeima) atra* Jaeger (Holothuroidea: Aspidochirota) at Tuticorin, Southeast coast of India. PhD thesis, Central Institute of Education, Mumbai, India. 111 p.
- Waren A. 1983. A generic version of the family Eulimidae (Gastropoda, Prosobranchia). *Supplement 13, Journal of Molluscan Studies*. 53–54.

1. Directeur adjoint, Marine Products Export Development Authority, Veraval-362-269, Gujarat (Inde)  
2. Directeur de recherche (à la retraite), No.37, Sadsivam Mehta Street, Mehta Nagar, Chennai-29 (Inde)