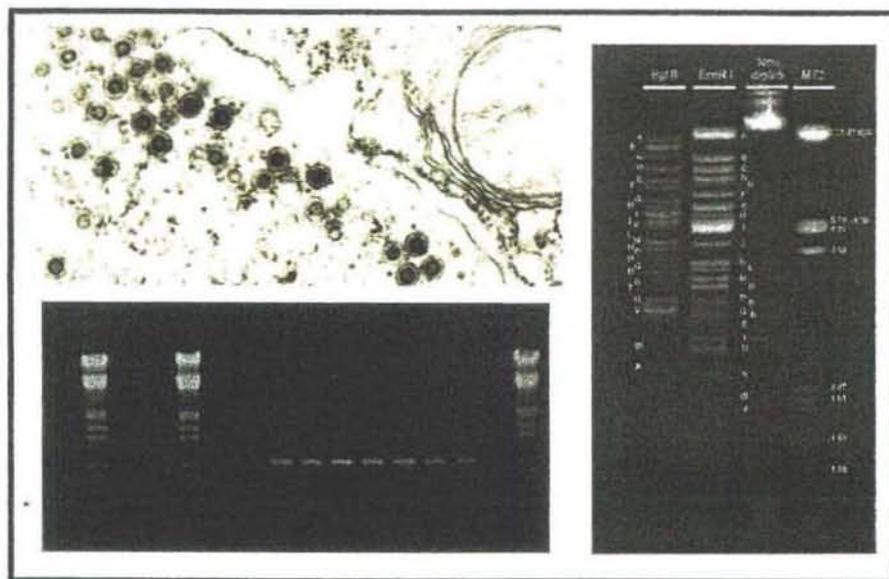


**CONTRAT DE PLAN ETAT REGION POITOU
CHARENTES 1994-1998
CONVENTION 95 RPC R 62**

**PROGRAMME PATHOLOGIE
RAPPORT SCIENTIFIQUE ANNEE 1995**

**T. Renault, F. Berthe, B. Chollet, N. Cochenec, P. Haffner , R. M.
Le Deuff et B. Thuillier**



**Laboratoire de Génétique, Aquaculture et Pathologie
Unité de Recherche en Pathologie et Immunologie Générales
B. P. 133, 17390 La Tremblade**



**CONTRAT DE PLAN ETAT REGION POITOU
CHARENTES 1994-1998
CONVENTION 94 RPC R 62**

**PROGRAMME PATHOLOGIE
RAPPORT SCIENTIFIQUE ANNEE 1995**

Responsable : T. Renault

**Laboratoire de Génétique, Aquaculture et Pathologie
Unité de Recherche en Pathologie et Immunologie Générales
B. P. 133, 17390 La Tremblade**

SOMMAIRE

I - INTRODUCTION

II - OBJECTIFS ET PROGRAMME

III - MOYENS ET EFFECTIFS

IV - RECHERCHE D'AGENTS PATHOGENES CHEZ LES BIVALVES

V - ETUDE DU VIRUS DE TYPE HERPES

**A/ ESSAIS DE REPRODUCTION EXPERIMENTALE DE
L'INFECTION VIRALE**

B/ ESSAIS DE PURIFICATION DU VIRUS

C/ EXTRACTION ET CLONAGE DE L'ADN VIRAL

**D/ MISE AU POINT D'OUTILS DE DIAGNOSTIC DE
L'INFECTION VIRALE**

VI - PUBLICATIONS

I - INTRODUCTION

Le but de ce programme pathologie est de rechercher et d'étudier les agents pathogènes connus et inconnus chez les mollusques bivalves marins, plus particulièrement chez l'huître creuse, *Crassostrea gigas*, afin d'identifier d'éventuels agents causant des mortalités, de proposer des mesures prophylactiques et de définir des conditions zootechniques permettant aux professionnels de limiter l'impact des maladies sur leur cheptel.

La présence de maladies, chez les mollusques bivalves marins dont l'impact socio-économique peut être catastrophique pour les productions conchylicoles, et l'accroissement des échanges de produits d'aquaculture entre les pays de la CEE et avec les pays tiers nécessitent le renforcement des recherches dans les domaines de la pathologie. En particulier, du fait du monoélevage de l'huître japonaise, *Crassostrea gigas*, en France, il semble aujourd'hui indispensable d'effectuer des contrôles zoosanitaires réguliers chez cette espèce.

Ces travaux ont d'autant plus d'importance qu'aujourd'hui, devant les pathologies rencontrées, les professionnels restent extrêmement démunis (traitements inapplicables ou inexistantes). Dans ce cadre, la promptitude du diagnostic ainsi que l'acquisition de données épidémiologiques et biologiques concernant les agents pathogènes impliqués sont les meilleurs moyens d'éviter leur dissémination chez les mollusques bivalves marins.

Les travaux entrepris dans ce cadre par l'URPIG, semblent d'autant plus indispensables qu'il n'existait pas jusqu'à ces dernières années de pathologies identifiées chez l'huître creuse, *Crassostrea gigas*, sur le littoral français.

Cependant depuis 1991, sont apparus dans certaines écloséries françaises des épisodes de mortalité sur des larves de cette espèce. Il a été possible de détecter un virus apparenté à la famille des *Herpesviridae* par ses caractères morphologiques (NICOLAS *et al.*, 1992) et de démontrer sa pathogénicité pour les larves (LE DEUFF *et al.*, 1994). Par ailleurs, en 1993, 1994 et 1995, un virus de même type, a été observé en association à de fortes mortalités sur différents lots de naissain de la même espèce, originaires d'écloséries et de captage naturel.

Par ailleurs, en 1993, suite à l'observation d'anomalies au niveau des branchies chez des huîtres creuses provenant de Charente Maritime et du bassin d'Arcachon associées à de médiocres performances de croissance, il a été entrepris des analyses de divers échantillons, en histologie classique et en microscopie électronique à transmission. Ces examens ont permis de révéler la présence au niveau des branchies, chez un nombre non négligeable d'animaux, d'un microorganisme de type chlamydien (RENAULT and COCHENNEC, 1995). Il a également été possible, chez cette même espèce, de détecter la présence d'un organisme de type rickettsien au niveau des branchies (RENAULT, COCHENNEC and CHOLLET, 1995).

L'Unité de Recherche en Pathologie et Immunologie Générales a réalisé, en 1994, un ensemble de travaux correspondant essentiellement à l'action 1 du programme proposé dans le Contrat de Plan Etat Région Poitou Charentes (Action 1 : Recherche et purification d'agents pathogènes chez l'huître creuse. Essais de reproduction expérimentale de pathologies au laboratoire). De plus, un ensemble de travaux pour la mise au point de techniques de diagnostic rapides et fiables de l'infection à virus de type herpès des huîtres a été entrepris en 1995.

II - OBJECTIFS ET PROGRAMME

Objectifs

Les principaux objectifs de ce programme, visent essentiellement à développer des programmes chez les mollusques bivalves marins dans les domaines de la pathologie : diagnostic, pathologie expérimentale et épidémiologie.

Programme

Pour tenter de répondre à ces objectifs, trois actions de recherche ont été proposées

- *Action 1 :*

- Recherche et purification d'agents pathogènes chez les bivalves.
- Essais de reproduction expérimentale de maladies au laboratoire.

- *Action 2 :*

- Tests de conditions stressantes et contrôle sur l'expression et/ou le développement de maladies au laboratoire.

- *Action 3 :*

- Essais de traitements (pathologies bactériennes en milieu confiné : écloséries-nurseries).

III - MOYENS ET EFFECTIFS

Infrastructures

L'URPIG dispose de :

- 6 salles d'expérience (1 salle des centrifugeuses, 1 salle d'histologie, 1 salle de préparation des échantillons pour la microscopie électronique, 1 salle de cultures cellulaires et 1 salle de bactériologie/électrophorèse, 1 salle réservée à la biologie moléculaire).
- 1 salle climatisée pour le microscope électronique à transmission.
- 1 laboratoire photo.
- 1 salle de rangement des produits.
- 1 cuisine-laverie.

De plus, l'URPIG dispose d'une salle de quarantaine dans le bâtiment éclosier de Ronce les Bains et d'une salle de manipulation des agents pathogènes des mollusques bivalves.

Une salle de manipulation de radioéléments (avec agrément) est également opérationnelle.

Matériel

Le matériel scientifique principal est constitué par :

- 1 microscope électronique JEOL JEM 1200 EX.
- 2 hottes à flux lumineuse EUROFLUX.
- 1 ultracentrifugeuse BECKMAN.
- 1 centrifugeuse BECKMAN.
- 1 centrifugeuse de paillasse. Cytocentrifugeuse.
- 1 cryotome JUNG.
- 1 automate à déshydratation et imprégnation des pièces histologiques LKB.
- 1 platine inclusion paraffine pour pièces histologiques LKB.
- 4 microscopes dont un équipé en épifluorescence.
- 1 étuve CO₂ FORMA SCIENTIFIC + 3 étuves MEMMERT.
- 1 lecteur ELISA.
- Matériel électrophorèse (cuve et générateurs).
- Matériel séquençage ADN (cuves et générateur).
- 1 sécheur de gel.
- Réfrigérateurs et congélateurs -20°C.
- 1 congélateur -80°C.

- 2 conteneurs azote liquide.
- 1 appareil PCR
- 1 autoclave.
- 1 Speed Vac.
- 1 scintillateur Packard.

Personnel

L'équipe en 1995 était composée de :

Personnel scientifique

- Responsable : **Tristan RENAULT** GIE/RA
- Cadres : **Benoît THUILLIER** IFREMER (CDD jusqu' a fin octobre 1995)
Franck BERTHE IFREMER (Recrutement avril 1995)
- Techniciens : **Nathalie COCHENNEC** IFREMER
Bruno CHOLLET IFREMER
Philippe HAFFNER IFREMER (mobilité interne, arrivé avril 1995)
- Thésards : **Rose-Marie LE DEUFF** IFREMER (thèse soutenue le 21 déc. 1995)
Qinggang XUE Arrivé le 15 octobre 1995

Personnel administratif RA

- Secrétariat : **Yvette SIMIAN** (1/4 temps) IFREMER
- Comptabilité : **Martine GRASSET** (1/8 temps) GIE/RA
- Documentation : **Florence RIVET** (1/4 temps) IFREMER

Personnel administratif et logistique rattaché à la station

- Entretien : **Ginette CAILLETEAU** (1/2 temps) IFREMER
- Logistique : **Emile PLANCHE** (1/8 temps) IFREMER

IV - RECHERCHE D'AGENTS PATHOGENES CHEZ LES BIVALVES

2020 huîtres creuses provenant du littoral atlantique (sud Loire - frontière espagnole) ont été analysées sur coupes histologiques.

1 - Huître creuse : *Crassostrea gigas*.

Origine éclosionerie

BASSINS	RESULTATS NAISSAIN	RESULTATS ADULTES
VENDEE BAIE DE BOURGNEUF	447 individus analysés (20 lots) : - 114 animaux à suspicion d'infection à virus de type herpès (17 lots). - 10 animaux avec des corpuscules éosinophiles (2 lots). - 5 animaux avec des <i>Mytilicola</i> . - 5 animaux avec des ciliés.	26 individus analysés (1 lot) : - 9 animaux avec des <i>Mytilicola</i> . - 2 animaux avec des rickettsies.
CHARENTE MARITIME MARENNES OLERON	573 individus analysés (20 lots) : - 32 animaux à suspicion d'infection à virus de type herpès (6 lots). - 33 animaux avec des corpuscules éosinophiles (7 lots). - 17 animaux avec des anomalies du muscle adducteur (3 lots). - 4 animaux avec des <i>Mytilicola</i>	Pas d'analyse
GIRONDE ARCACHON	30 individus analysés (1 lot) : 2 animaux avec des dégénérescences du muscle adducteur.	Pas d'analyse
TOTAL ANIMAUX ANALYSES	1050 individus analysés (41 lots).	26 individus analysés (1 lot).

Origine captage naturel

BASSINS	RESULTATS NAISSAIN	RESULTATS ADULTES
VENDEE BAIE DE BOURGNEUF	143 individus analysés (20 lots) : - 24 animaux à suspicion d'infection à virus de type herpès (17 lots). - 4 animaux avec des corpuscules éosinophiles (2 lots). - 1 animal avec des <i>Mytilicola</i> .	28 individus analysés (1 lot) : 3 animaux avec du <i>Mytilicola</i> .
CHARENTE MARITIME MARENNES OLERON	304 individus analysés (12 lots): - 3 animaux à suspicion d'infection à virus de type herpès (3 lots). - 3 animaux avec des corpuscules éosinophiles (2 lots). - 13 animaux avec des anomalies du muscle adducteur. - 3 animaux avec des rickettsies. - 3 animaux avec des ciliés. - 5 animaux avec des <i>Mytilicola</i> - 3 animaux avec des flagellés.	325 individus analysés (14 lots): - 19 animaux avec des <i>Mytilicola</i> . - 16 animaux avec des ciliés. - 2 animaux avec des kystes. - 1 animal avec des rickettsies.
GIRONDE ARCACHON	90 individus analysés (3 lots) - 11 animaux avec des anomalies du muscle adducteur (2 lots). - 5 animaux avec des <i>Mytilicola</i> . - 1 animal avec des ciliés.	27 individus analysés (1 lot): RAS
TOTAL ANIMAUX ANALYSES	537 individus analysés (35 lots).	380 individus analysés (16 lots).

Contrôles avant importation

Les analyses effectuées concernent des individus fixés provenant de pays tiers avant introduction en France d'animaux vivants provenant des mêmes lots. Ces introductions d'animaux vivants ont été réalisées dans le cadre d'un programme de mise en place d'un conservatoire de souches, mené par l'Unité de Recherche en Génétique et Eclosion du laboratoire IFREMER de La Tremblade.

353 individus originaires de divers pays ont fait l'objet d'une analyse en microscopie photonique. Ces analyses ont concerné cinq espèces différentes : 219 *Crassostrea gigas*, 32 *Ostrea edulis*, 30 *Crassostrea angulata*, 32 *Crassostrea sikamea*, 40 *Crassostrea rivularis*.

1 - *Crassostrea gigas*

Origines	Nombre d'analyses	Résultats
IRLANDE	70	- 3 animaux à suspicion d'herpès. - 2 animaux avec des corpuscules éosinophiles. - 3 animaux avec des ciliés. - 2 animaux avec une hypertrophie de certains diverticules digestifs.
COREE DU SUD	149 7 Ax histo. 142 Ax frottis	- 3 animaux avec des parasites de type <i>Marteilioides</i> . - 2 animaux avec des ciliés.

2 - *Ostrea edulis*

32 individus en provenance d'Irlande ont été analysés sur frottis cardiaques, aucun pathogène n'a été décelé.

3 - *Crassostrea angulata*

30 individus en provenance d'Espagne ont été analysés sur coupes histologiques. Ces analyses ont révélé sur 10 animaux la présence d'images de type kystique d'origine indéterminé, dans la glande digestive.

4 - *Crassostrea sikamea*

32 individus originaire des Etats-Unis ont été analysés sur coupes histologiques.

Origine	Nombre d'analyses	Résultats
ETATS-UNIS (Bodega Bay)	20	- 2 animaux avec une prolifération de cellules brunes. - 5 animaux avec des ciliés. - 1 animal avec des rickettsies.
ETATS-UNIS (Bodega Bay) Importées à La Tremblade (URGE)	12	- 5 animaux avec des parasites de type <i>Marteilioides</i> . - 3 animaux avec des corpuscules éosinophiles.

5 - Crassostrea rivularis

40 individus, originaires des Etats-Unis et mis en eau à La Tremblade, ont été analysés sur coupes histologiques. Ces examens ont révélé la présence sur 3 animaux de parasites de type *Bonamia*.

V - ETUDE DU VIRUS DE TYPE HERPES

A/ ESSAIS DE REPRODUCTION DE L'INFECTION VIRALE

Divers essais ont été menés au cours de l'année 1995, afin de reproduire la maladie au laboratoire.

Il a été ainsi possible de reproduire comme les années précédentes, l'infection chez des larves axéniques par inoculation dans les ballons d'élevage de broyats de larves virosées. Ce résultat est intéressant dans la mesure où il montre qu'il est possible, grâce à la congélation de matériel virosé, de reproduire la maladie à tout moment. De plus, il a été possible d'infecter expérimentalement des larves conventionnelles, en inoculant dans les bacs d'élevage des larves axéniques virosées expérimentalement. Ce type d'infection permet d'obtenir de plus grandes quantités d'animaux virosés. En effet, cette approche a été développée dans le but d'avoir des quantités de matériel biologique suffisantes pour entreprendre des essais de purification.

Quelques essais ont été également réalisés sur naissains et adultes. Dans ce cas, aucune mortalité n'a été observée chez les animaux ayant subi les essais.

B/ PURIFICATION DU VIRUS

Les travaux concernant le virus de type herpes, observé chez les huîtres, ont été poursuivis en 1995 et ont été couronnés de succès. En effet, les efforts concertés de l'ensemble du personnel de l'URPIG, en 1995, ont permis d'aboutir à la mise au point d'un protocole de purification du virus, malgré les difficultés rencontrées (impossibilité de reproduire le virus sur lignées cellulaires, dépendance vis à vis des professionnels pour l'approvisionnement en matériel infecté et difficulté de planifier les expériences de ce fait).

En effet, il a été possible de purifier à plusieurs reprises des particules virales à partir de larves virosées fraîches (Figure 1). Cependant, le même protocole (Figure 2) testé sur des lots de naissains présentant des mortalités anormales n'a pas permis d'aboutir à un résultat probant. Il a, en effet, été possible d'observer quelques particules virales pour certains lots. Ces résultats peuvent s'expliquer par le fait que certains des essais ont été réalisés à partir d'animaux pour lesquels il n'y avait pas d'infection, mais seulement des mortalités non liées à la présence du virus (confirmation *a posteriori* de l'absence de suspicion d'infection virale par les analyses histologiques). Une autre hypothèse à retenir est un effet de dilution des virions par le biais de la quantité de tissus utilisée pour la purification dans ce cas.

Par ailleurs, les essais effectués à partir de larves ou de naissains virosés conservés congelés à -20°C, ont été infructueux.

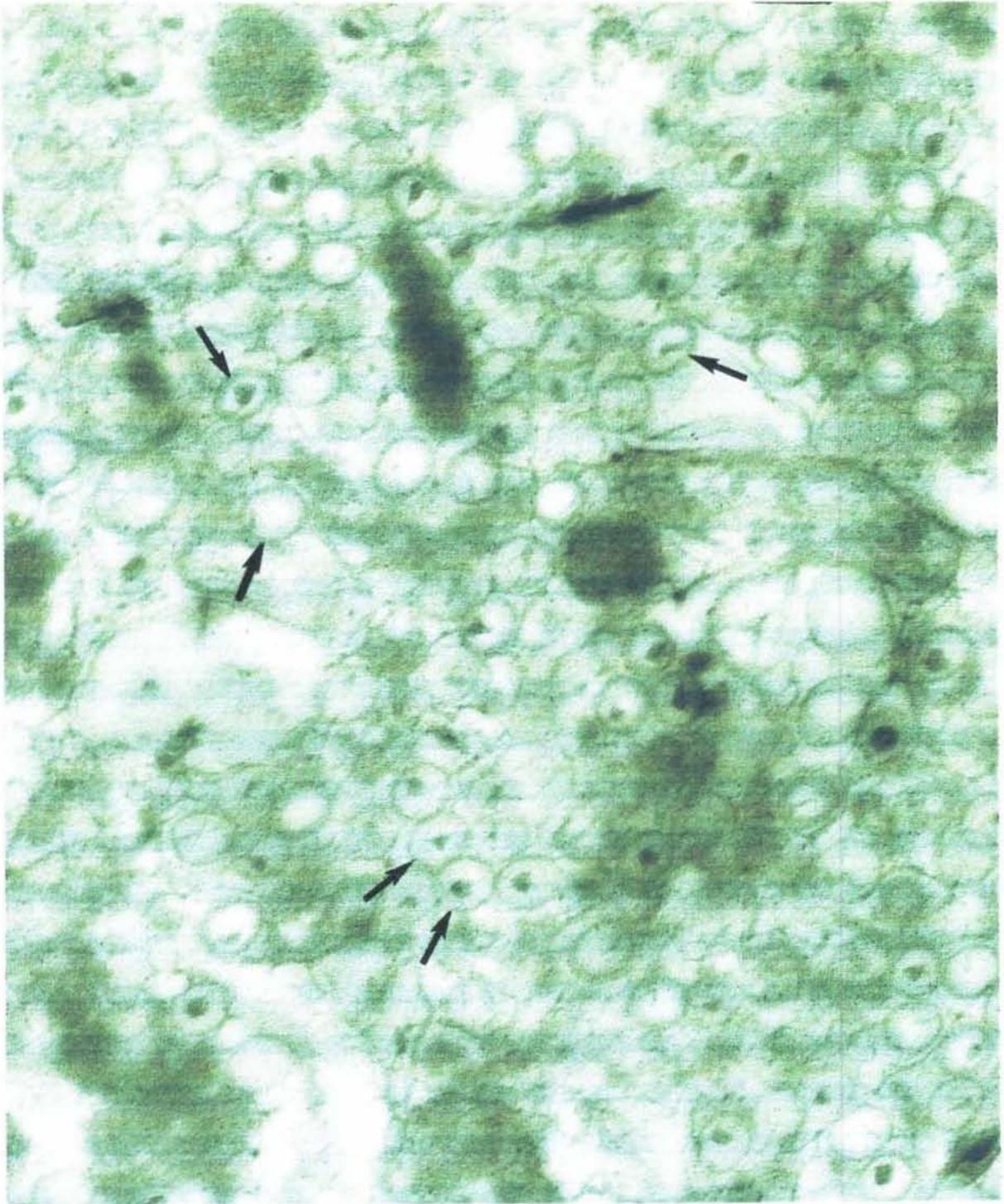
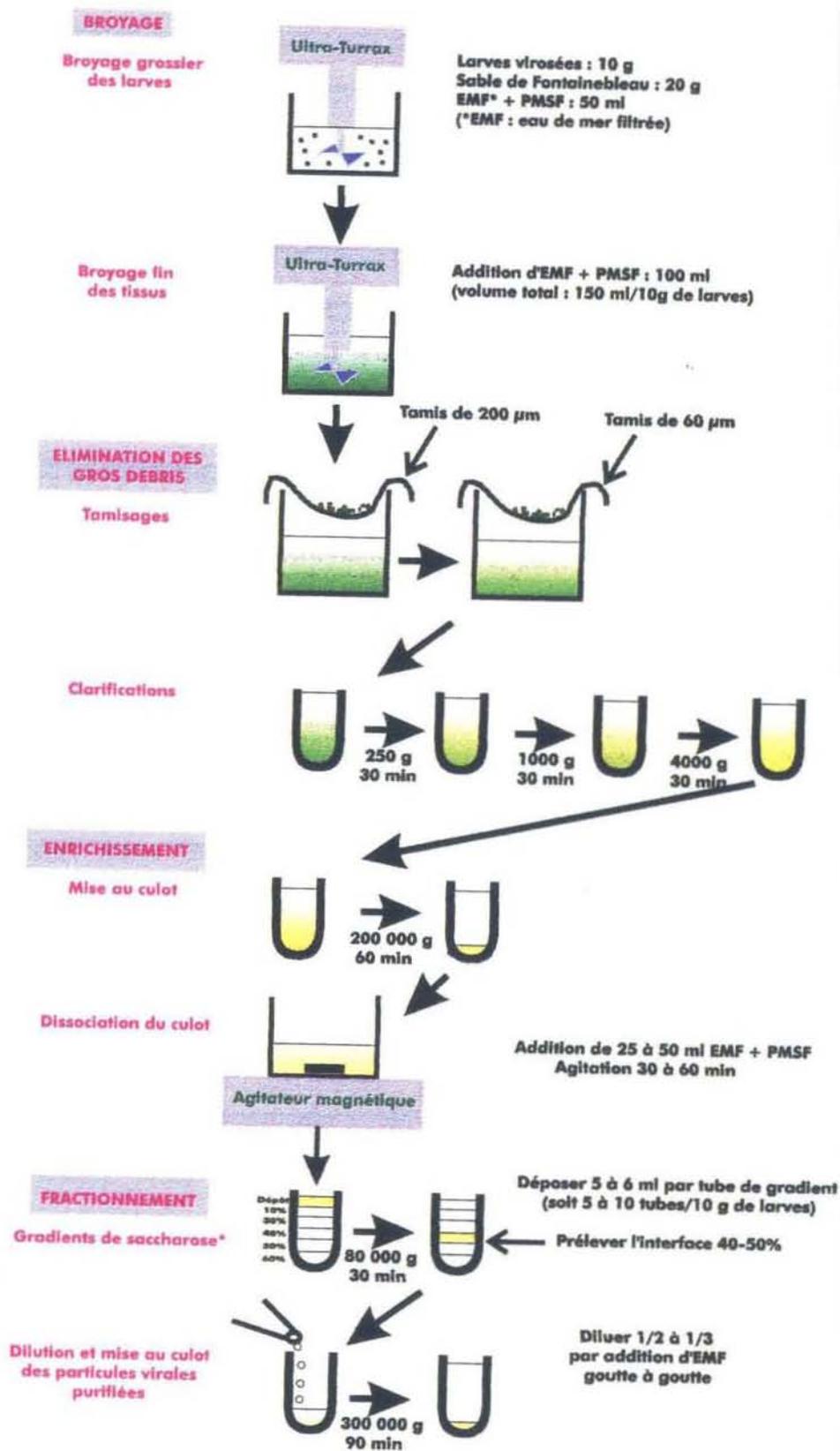


Figure 1 : Particules virales purifiées à partir de larves virosées d'huître creuse, *Crassostrea gigas*. Cliché de microscopie électronique à transmission.

Figure 2 : Protocole de purification du virus de type herpès observé chez les huîtres.



* Préparation des solutions de saccharose :
 60% : 60 g de saccharose + 40 ml EMF
 50% : 50 g saccharose + 50 ml EMF
 etc...

C/ EXTRACTION ET CLONAGE DE L'ADN VIRAL

Les quantités de virus purifiés ainsi obtenues ont permis d'entreprendre divers travaux :

- De réaliser l'extraction de l'ADN viral et d'effectuer une première caractérisation de ce matériel par digestion avec des enzymes de restriction et électrophorèse en gel d'agarose. Il a été ainsi possible de démontrer que les particules virales purifiées contiennent un acide nucléique de type ADN, double brin (Figure 3). Cet ADN a une taille d'environ 180 Kpb. Ce résultat étaye l'hypothèse de l'appartenance de ce virus à la famille des *Herpesviridae*, virus à ADN double brin dont la taille du génome varie de 120 à 220 Kpb.

- De cloner des fragments de l'ADN extrait des particules virales purifiées, après digestion par l'enzyme EcoRI (Figure 3). Le clonage a été réalisé en plasmide Bluescript II KS (-). Le choix d'un clonage en plasmide et non en phage a été dicté par des raisons pratiques. En effet, ce type de clonage permet d'obtenir relativement rapidement des sondes nucléiques adéquates pour réaliser des outils spécifique de diagnostic.

Les plasmides recombinants ont été produits en bactéries XL1 Blue, ils sont au nombre de 300 environ. Quatre de ces fragments clonés ont été choisis en fonction de leur longueur différente, afin de vérifier leur spécificité. Les premiers essais d'hybridation sur membrane ont donné des résultats très positifs. En effet, les quatre fragments testés donnent un marquage net sur les ADN extraits de larves et de naissains virosés et pas de marquage sur de l'ADN extrait d'huîtres creuses adultes saines.

D/ MISE AU POINT D'OUTILS DE DIAGNOSTIC DE L'INFECTION VIRALE

Séquencage et dessin d'amorce pour la PCR

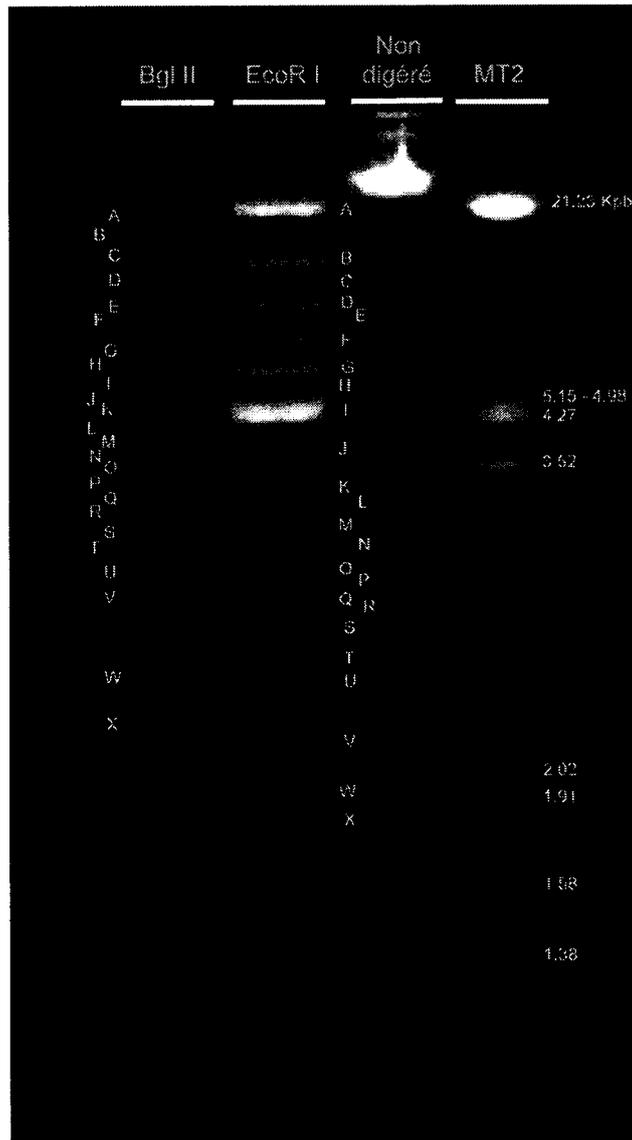
Suite à ces résultats, le séquençage de ces quatre fragments clonés a été entrepris par C. Delsert (IFREMER/GAP - Sète) afin de pouvoir définir des zones propices à la construction de couples d'amorces pour la PCR. Nous disposons à l'heure actuelle d'amorces qui nous permettent d'obtenir une amplification claire sur ADN viral purifié, sur ADN extrait de larves virosés, sur broyats de larves et de naissains infectés et une absence d'amplification sur ADN d'huîtres adultes saines (Figures 4 et 5).

Obtention d'anticorps spécifiques du virus

Trois souris BalbC ont été immunisées avec du virus purifié. Les sérums et les ascites (contenant des anticorps spécifiques) ont été récupérés après sacrifice des animaux. L'une des ascites montre une réactivité claire sur coupes histologiques de tissus d'huîtres infectées (Figure 6). Par ailleurs, les animaux immunisées ont également servis à réaliser une fusion lymphocytaire dans le but d'obtenir des anticorps monoclonaux spécifiques du virus. Les analyses pour cette dernière expérimentation sont en cours.

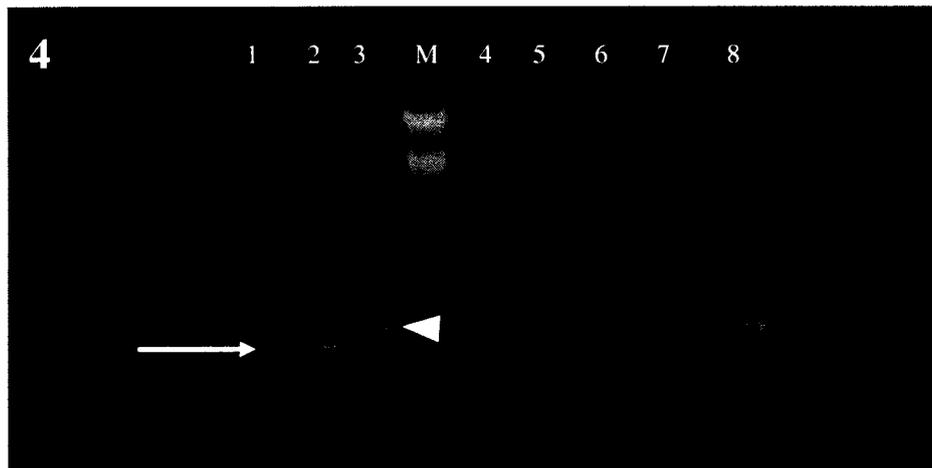
Figure 3 : ADN extrait de particules virales purifiées - Analyse en gel d'agarose.

Bgl II, EcoR I : Profils électrophorétiques obtenus après digestion de l'ADN viral respectivement par les enzymes de restriction EcoR I et Bgl II. Non digéré : Profil électrophorétique de l'ADN viral non digéré. MT2 : Marqueur de taille MT2, Eurogentech.

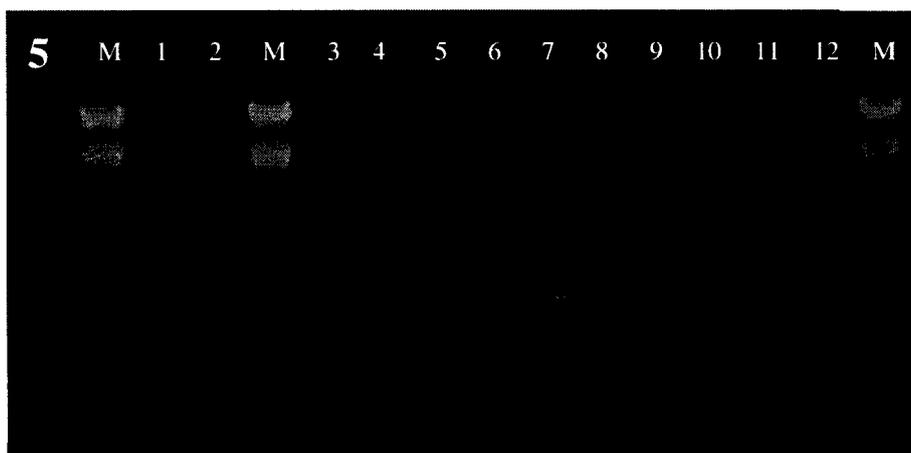


Figures 4 et 5 : Analyses d'échantillons en PCR.

M : Marqueur de taille 2, Eurogentech. Flèche : Fragment amplifié après la première PCR.
Tête de flèche : Fragment amplifié après la deuxième PCR. 4 à 7 : Echantillons de larves saines. 8 : Echantillons de larves virosées.



M : Marqueur de taille 2, Eurogentech. 1, 2, 3, 4 et 12 : Echantillons sains. 5 à 11 : Echantillons virosés.



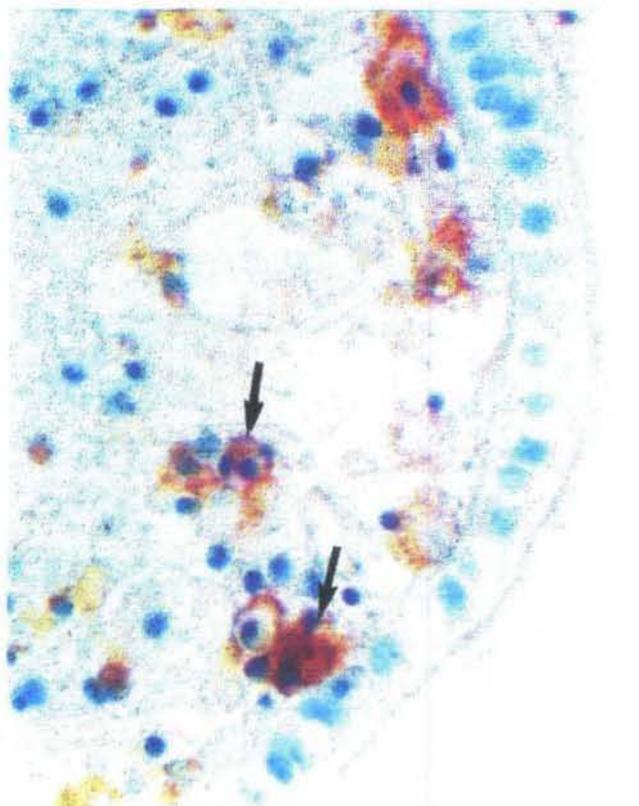
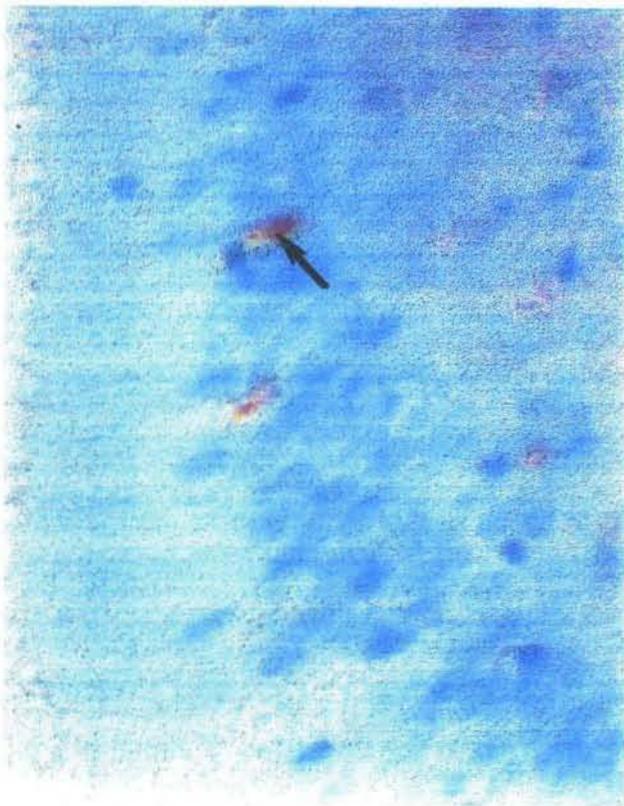
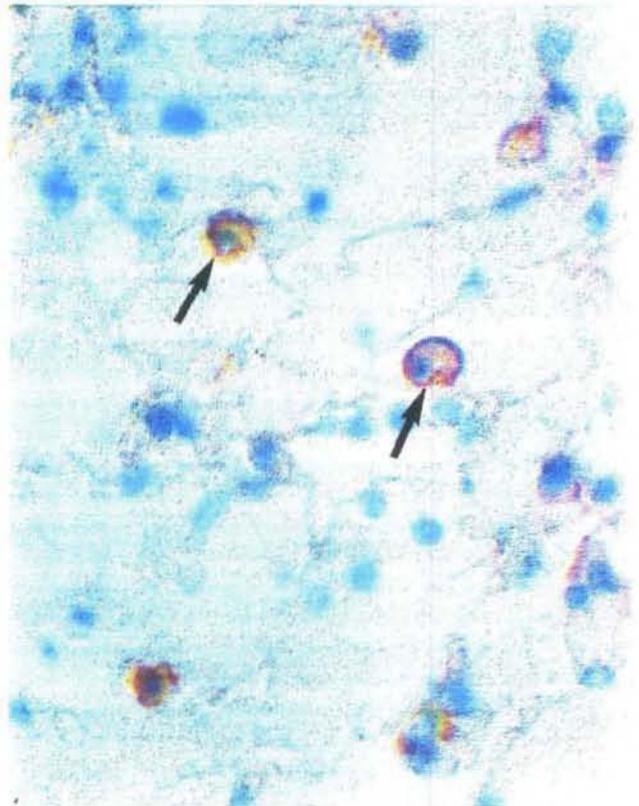
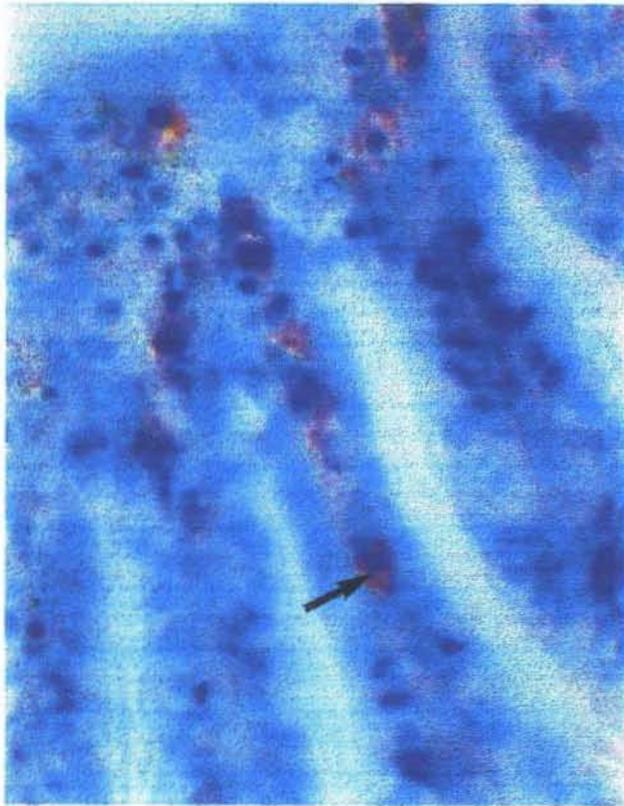


Figure 6 : Immunomarquages (immunoperoxidase) sur coupes paraffine d'animaux infectés.

En conclusion, il est clair que la mise au point d'un protocole de purification du virus de type herpès observé chez les huîtres correspond à la levée d'un point de blocage. En effet, grâce à ce protocole, il a été possible de purifier des quantités non négligeables de particules virales et de préparer des réactifs de diagnostic spécifiques. Nous disposons donc à l'heure actuelle d'outils qui vont nous permettre de préciser l'implication possible de l'herpèsvirus dans les phénomènes de mortalité observés chez le naissain de *Crassostrea gigas*. Cependant, des travaux au laboratoire sont encore nécessaires pour démontrer le réel pouvoir pathogène du virus sur les stades naissain.

VI - PUBLICATIONS 1995

Revue à comité de lecture

- Le Deuff R.M., Renault T. and Cochenec N., 1995.** Antibodies specific for channel catfish virus cross-react with Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, herpes-like virus. *Vet. Res.*, 26 : 526-529.
- Le Deuff R.M., Renault T. and Gérard A., 1996.** Effects of temperature on herpes-like virus detection among hatchery-reared larval Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Dis. aquat. Org.*, 24 : 149-157.
- Renault T. and Cochenec N., 1995.** Chlamydia-like organisms in ctenidia and mantle cells of the Japanese oyster *Crassostrea gigas* from the French Atlantic coast. *Dis. aquat. Org.*, 23 : 153-159.
- Renault T., Cochenec N. and Chollet B., 1995.** Marteiliosis in American oysters *Crassostrea virginica* reared in France. *Dis. aquat. Org.*, 23 : 161-164.
- Renault T., Flaujac G. and R.M. Le Deuff, 1995.** Isolation and culture of heart cells from the European flat oyster, *Ostrea edulis*. *Meth. Cell Sci.*, 17 : 199-205.
- Renault T., Le Deuff R.M., Cochenec N., Chollet B. and Maffart P., 1995.** Herpes-like viruses associated with high mortality levels in larvae and spat of Pacific oysters, *Crassostrea gigas* : a comparative study, the thermal effects on virus detection in hatchery-reared larvae, reproduction of the disease in axenic larvae. *Vet. Res.*, 26 : 53

Revue sans comité de lecture

- Renault T., Cochenec N., and Grizel H., 1995.** *Bonamia ostreae*, parasite of the European flat oyster, *Ostrea edulis*, does not experimentally infect the Japanese oyster, *Crassostrea gigas*. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 15(3) : 78-80.

Communications

Colloques

- Cochenec N., Renault T., Chollet B. and Maffart P., 1995.** Comparison of haemograms from resistant and susceptible European flat oysters, *Ostrea edulis*, exposed to the parasite *Bonamia ostreae*. European Association of fish Pathologists, Seventh International Conference "Diseases of Fish and Shellfish", Palma de Mallorca, 10-15 septembre 1995.
- Renault T., 1995.** Pathogens in aquaculture : specific pathogens or human contamination risks. Colloques Internationaux de l'Année Pasteur. Microbes, Environnement, Biotechnologies. Institut Louis Malardé, Tahiti, Polynésie Française, 8-12 mai 1995.

Renault T., 1995. Disease appearance and spread among bivalve molluscs in the North Hemisphere related to international trade. Conférence Internationale sur la prévention des maladies des animaux aquatiques liées aux échanges internationaux, Office International des Epizooties, Paris, 7 - 9 juin 1995.

Berthe F., Renault T., Grizel H. et Cochennec N., 1995. *Bonamia ostreae*, parasite de l'huître plate, *Ostrea edulis*, n'infecte pas l'huître japonaise, *Crassostrea gigas*. Séminaire franco-canadien sur les maladies et les problèmes environnementaux liés à l'aquaculture des mollusques, Arcachon, France, 12 et 13 septembre 1995.

Le Deuff R. M., Renault T., Cochennec N., Chollet B. et Maffart P., 1995. Virus apparentés aux Herpes, associés à des mortalités de larves et de naissains d'huître japonaise, *Crassostrea gigas* : étude comparative et reproductin expérimentale de la maladie sur des larves de *C. gigas* axéniques. Séminaire franco-canadien sur les maladies et les problèmes environnementaux liés à l'aquaculture des mollusques, Arcachon, France, 12 et 13 septembre 1995.

Poster

Le Deuff R.M., Renault T. and Cochennec N., 1995. Antibodies specific for channel catfish virus cross-reactive with Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, herpes-like virus. INRA, Third International Symposium on viruses of Lower Vertebrates, Jouy en Josas, 14-17mars 1995.

Renault T., Le Deuff R.M., Cochennec N., Chollet B. and Maffart P., 1995. Herpes-like viruses associated with high mortality levels in larvae and spat of Pacific oysters, *Crassostrea gigas* : comparative study, thermal effects on virus detection in hatchery-reared larvae, reproduction of disease in axenic larvae. INRA, Third International Symposium on viruses of Lower Vertebrates, Jouy en Josas, 14-17mars 1995.

Berthe F., Legroumellec M., Haffner P. and Renault T., 1995. Histological abnormalities related to mortality in penaeid shrimp (*Pen²aeus stylirostris*) reared in New Caledonia. European Association of fish Pathologists, Seventh International Conference "Diseases of Fish and Shellfish", Palma de Mallorca, 10-15 septembre 1995.

Renault T., Cochennec N., Chollet B. et Maffart P., 1995. Juveniles oyster disease (JOD) in American oysters, *Crassostrea virginica*, reared in France, detection of abnormal calcium deposits in gill and mantle tissues. European Association of fish Pathologists, Seventh International Conference "Diseases of Fish and Shellfish", Palma de Mallorca, 10-15 septembre 1995

Thèse

Le Deuff R.M., 1995. Contribution à l'étude de virus de mollusques marins apparentés aux *Iridoviridae* et aux *Herpesviridae*. Thèse pour le Doctorat de l'Université de Bordeaux II, U.F.R. de Biochimie et de Biologie Cellulaire, Mention Sciences Biologiques et Médicales, Option Biologie-Santé, Thèse N° 389 : 1-235.