

Laboratoire de Biologie et d'Ecologie des
Invertébrés Marins

LABEIM

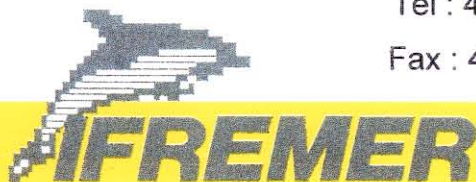
**RAPPORT D'ACTIVITE 1993 DE L'UNITE DE
RECHERCHE EN PATHOLOGIE ET
IMMUNOLOGIE GENERALES
(URPIG)**



IFREMER LA TREMBLADE
B.P. 133 - 17390 La Tremblade
Implantation de Ronce-les-Bains

Tel : 46 36 30 07

Fax : 46 36 37 51

The IFREMER logo features a stylized, pixelated graphic of a fish or a similar aquatic creature on the left, composed of horizontal lines of varying lengths. To the right of this graphic, the word "IFREMER" is written in a bold, italicized, sans-serif font. The entire logo is set against a bright yellow rectangular background.

**Laboratoire de Biologie et d'Ecologie des
Invertébrés Marins
LBEIM**

**RAPPORT D'ACTIVITE 1993 DE L'UNITE DE
RECHERCHE EN PATHOLOGIE ET
IMMUNOLOGIE GENERALES
(URPIG)**

IFREMER LA TREMBLADE
B.P. 133 - 17390 La Tremblade
Implantation de Ronce-les-Bains
Tel : 46 36 30 07
Fax : 46 36 37 51

AVANT-PROPOS

Le Laboratoire de Biologie et d'Ecologie des Invertébrés Marins, placé sous la responsabilité de Maurice HERAL, comportait, au mois de décembre 1993, quatre Unités de Recherche :

* l'Unité de Recherche des Ecosystème Aquacoles (UREA), sous la responsabilité de Maurice HERAL,

* *l'Unité de Recherche en Pathologie et Immunologie Générales (URPIG), sous la responsabilité de Tristan RENAULT,*

* l'Unité de Recherche Régionale Aquacole (URRA), placée depuis septembre 1992, sous la double responsabilité de Maurice HERAL et d' André GERARD, par intérim,

* l'Unité de recherche en Génétique et Eclosion (URGE), sous la responsabilité d'André GERARD.

Ce rapport présente le bilan des activités de l'URPIG pour l'année 1993.

**UNITE DE RECHERCHE EN PATHOLOGIE ET
IMMUNOLOGIE GENERALES**

RONCE LES BAINS

S O M M A I R E

1. - OBJECTIFS ET PROGRAMMES	1
1.1 - Objectifs	1
1.2. - Programmes	1
2. - MOYENS	2/3/4
2.1. - Infrastructures	2
2.2. - Matériels	2
2.3. - Personnel	3
2.4. - Thésards	3
2.5. - Stagiaires	3
2.6. - Budgets	4
3 - PRINCIPAUX RESULTATS ANNEE 1993	5/6
3.1. - Rappel de l'objectif général du sous projet	5
3.2. - Bilan des actions de recherches menées en 1993	5/6
4. - PUBLICATIONS ET RAPPORTS	6/7
4.1. - Publications	6
4.2. - Publication en cours	7
4.3. - Communications en congrès	7
4.4. - Rapports internes de la Direction des Ressources Vivantes	7
4.5. - Rapports de stage	7
5 - FORMATIONS	8
5.1. - Tristan RENAULT	8
5.2. - Nathalie COCHNNEC	8
5.3. - Rose marie LEDEUFF	8

1. - OBJECTIFS ET PROGRAMMES

1.1. - OBJECTIFS

Les principaux objectifs de l'URPIG, tels qu'ils ont été définis dans les «cahiers des objectifs et de programmes 1992-1995» de la DRV/RA, visent essentiellement à développer des programmes chez les mollusques bivalves marins dans les domaines de la pathologie : diagnostic, pathologie expérimentale, épidémiologie et compréhension des mécanismes de défense mis en jeu par les bivalves lors de maladies infectieuses.

1.2. - PROGRAMMES

Pour tenter de répondre à ces objectifs généraux, quatre programmes sont en cours de réalisation :

- la mise au point de nouvelles méthodologies de diagnostic des maladies des mollusques bivalves marins;

- Le développement de la pathologie expérimentale en relation avec l'épidémiologie descriptive;

- la réalisation d'un atlas d'histologie et cytologie des principales espèces de mollusques bivalves élevées en Europe;

- l'acquisition de connaissances sur les mécanismes de défense mis en jeu par les bivalves lors de maladies infectieuses.

Enfin, est ajouté à ces quatre programmes, l'étude des cas de mortalités anormales pouvant survenir dans les différents bassins ostréicoles.

2. - MOYENS ET EFFECTIFS

2.1. - INFRASTRUCTURES

L'URPIG a à sa disposition :

- 5 laboratoires (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 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 écloserie de Ronces-Bains.

Par ailleurs, l'installation d'une pièce pour la manipulation des éléments radioactifs et d'un local de sécurité pour manipuler les agents pathogènes des mollusques bivalves est prévue en 1994.

2.2. - MATERIELS

- 1 microscope électronique JEOL JEM 1200 EX.
- 2 hottes à flux laminaire EUROFLUX.
- 1 ultracentrifugeuse BECKMAN.
- 1 centrifugeuse BECKMAN.
- 1 cryotome JUNG (acquis début 1994).
- 1 automate à deshydratation et imprégnation des pièces histologiques LKB.
- 1 platine inclusion paraffine pour pièces histologiques LKB.
- 3 microscope dont un équipé en épifluorescence.
- 1 ultracryotome NOVA LKB + système cryoultramicrotome.

- 1 étuve CO2 FORMA SCIENTIFIC INC + 3 étuves MEMMERT.
- 1 lecteur ELISA.
- Matériel électrophorèse (cuve et générateurs).
- Matériel séquençage ADN (cuve et générateur, matériel acquis début 1994).
- 1 sécheur de gel (matériel acquis début 1994).
- Réfrigérateurs et congélateurs -20°C.
- 2 congélateurs - 80°C.
- 2 conteneurs azote liquide.

2.3. - PERSONNEL

- Scientifiques :

Tristan RENAULT : Responsable unité.

Nathalie COCHENNEC.

Bruno CHOLLET : Contrat de qualification (cellule de veille zoosanitaire).

Patricia MAFFART : CDD (cellule de veille zoosanitaire).

- Administratifs :

Yvette SIMIAN : Secrétaire (1/3 temps).

Martine GRASSET : Agent comptable (1/3 temps).

Ginette CAILLETEAU : Agent d'entretien (1/2 temps).

2.4. - THESARDS

Rose-Marie LE DEUFF, Bourse IFREMER, Université de Bordeaux.

2.5. - STAGIAIRES

Séverine DESCHANDELLIER, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, 2^{ème} année.

Cécile LIPART, Lycée Technique Saint-Louis, Bordeaux, formation post-BTS.

Rafika BEDOUI, Institut National Scientifique et Technique d'Océanographie et de Pêche, Tunisie.

Slahdine DHAOUI, Maître assistant Ecole Vétérinaire de SIDI-THABET, Tunisie.

6. - BUDGETS 1993

- Crédits d'investissement : **Infrastructure** **Equipement** **Incitation**

URPIG 140 461/441 50KF 107KF 150KF

URPIG 149 900 0KF 150KF 0KF

- Crédits de fonctionnement : **IFREMER** **GIE**

URPIG 140 461/441 63KF 48.5KF

URPIG 140 900

3. - PRINCIPAUX RESULTATS ANNEE 1993

3.1. - Rappel de l'objectif général du sous projet

L'unité de Recherche en Pathologie et Immunologie Générales (URPIG) au sein du LBEIM est dédiée aux recherches en pathologie et immunologie chez les mollusques bivalves marins.

3.2. - Bilan des actions de recherches menées en 1993

1° Etude des cas de mortalité anormale en bassins ostréicoles et écloseries

L'étude des cas de mortalités survenues dans différents bassins ostréicoles et écloserie a constitué un volet important du travail de l'URPIG au cours de cette année, ces travaux étant encore à la charge de cette unité, la cellule de veille zoosanitaire n'ayant pas encore été créée à la station de La Tremblade.

Les travaux concernant l'herpes-like virus observé chez les larves d'huître creuse, *Crassostrea gigas*, ont été poursuivis (thèse de R-M. LE DEUFF). Il a été possible de détecter, au cours de l'été 1993, ce virus chez des larves présentant des mortalités et provenant de l'écloserie IFREMER de Ronce-les-Bains

Par ailleurs, ce même virus a été observé sur du naissain, originaire d'écloserie, élevé en milieu naturel et présentant des mortalités massives (80 à 90% des effectifs), à la même période. Des essais de purification de ce virus sont en cours.

Par ailleurs, un suivi régulier, en histologie classique et en microscopie électronique a été mis en place pour les huîtres creuses du bassin de Marennes - Oléron depuis le début de l'année 1993, suite à la constatation du mauvais état général des animaux et de l'observation de lésions branchiales étendues chez un certain nombre d'individus. La mise en évidence d'un procaryote intracellulaire, à cycle de type chlamydien, a été réalisée en microscopie électronique à transmission. Une caractérisation plus complète de cet éventuel agent pathogène est en cours (utilisation d'anticorps polyclonaux et monoclonaux, essais de purification,...).

Des analyses de lots de palourdes ayant présenté d'importantes mortalités (Bouin, Marennes-Oléron) ont également été réalisées.

2° Pathologie expérimentale

L'URPIG collabore au programme de l'URGE concernant la sélection de populations d'huître plate, *Ostrea edulis*, résistantes au parasite *Bonamia ostreae*, en assurant la purification de ce parasite, l'inoculation des animaux pour reproduction expérimentale de la bonamiose ainsi que d'obtenir et de maintenir des lots d'animaux infestés en salle de quarantaine à l'écloserie de Ronce les Bains.

Par ailleurs, des premiers essais expérimentaux de reproduction de la marteillose ont été entrepris au laboratoire.

3° Analyse de la spécificité d'anticorps monoclonaux anti-Vibrio P₁

Différents anticorps monoclonaux anti-VP₁, produits par l'URPIGM, ont été testés selon différentes techniques (immunodiffusion, Western blotting et Immunogold) afin de préciser leur spécificité. Ce travail a été réalisé dans le cadre d'un CDD (T. GUYOT) financé dans le contexte du programme FAR 3 Maladie de l'anneau brun.

4° Atlas d'histologie, cytologie et hispanologie

Les diversess équipes travaillant dans ce domaine ont été contactées (Cf. H. GRIZEL). Par ailleurs, il a été précisé que l'URPIG devait intervenir plus particulièrement dans l'acquisition des données manquantes pour l'huître plate, *Ostrea edulis*. Pour cela, des échantillons de différents organes ont été prélevés et traités pour l'observation en microscopie électronique à transmission.

5° Etudes des mécanismes de défense de l'huître plate, *Ostrea edulis*, dans le modèle de la bonamiose

Des travaux préliminaires ont été entrepris concernant l'étude du parasite *Bonamia ostreae* (quantification des protéines parasitaires et analyses électrophorétiques de ces protéines). Des profils électrophorétiques en SDS-PAGE ont ainsi été obtenus pour la première fois pour un parasite de mollusque bivalve marin.

6° Formation de Bruno CHOLLET

L'URPIG assure la formation de B. CHOLLET depuis janvier 1993, aux techniques d'histologie classique et de diagnostic des principales pathologies rencontrées chez les mollusques, dans le cadre d'un contrat de qualification (inscription à l'IUT de La Rochelle).

4. - PUBLICATIONS ET RAPPORTS

4.1. - Publications

Le Deuff R. M., Renault T., 1993. Lymphocytis outbreaks in farmed sea bream, *Sparu aurata*, first report on french mediterranean coast. Bull. Eur. Fish Pathol., **13 (4)**, 130-133.

Renault T., Le Deuff R. M., Cochenec N., Chollet B., (in press). Herpes-like virus infecting pacific oyster young spat, *Crassostrea gigas*, Bull. Eur. Fish Pathol.

Le Deuff R. M., Nicolas J. L., Renault T., Cochennec N., (in press). Experimental transmission of Herpes-like virus to axenic larvae of Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, Bull. Eur. Fish Pathol.

Renault T., Haffner P., Malfondet C., Weppe M. (in press). *Vibrio damsela* as a pathogenic agent causing mortalities in cultured sea bass (*Lates calcarifer*), Bull. Eur. Fish Pathol.

4.2. - Publication en cours

Renault T., Cochennec N. Chlamydia-like organisms in gill mantle cells of the Japanese oyster, *Crassostrea gigas*, from the French Atlantic coast. Soumis Dis. aquat. Org., déc. 1993.

Renault T., Cochennec N. Rickettsia-like Organisms in the Cytoplasm of Gill Epithelial Cells of the Pacific Oyster, *Crassostrea gigas*. Soumis J. Invertebr. Pathol., déc 1993.

4.3. - Communications en congrès

Nicolas J. L., Corre S., Ansquer D., Renault T., Le Deuff R.M., 1993. Microbial sampling in hatchery. Sixth International Conference - «Diseases of fish and shellfish» - Book of abstracts - Brest - France. September 5-10.

Maffart P., Le Bris H., Bocquene G., Buchet V., Galgani F., 1993. Experimental study of the influence of a dichlorvos treatment on the acetylcholinesterase activity of sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Sixth International Conference. «Diseases of fish and shellfish». Book of abstracts - Brest - France - September 5-10.

4.4. - Rapports internes de la Direction des Ressources Vivantes

Renault T., Le Deuff R.M., Cochennec N., 1993. Contribution à l'étude de virus de mollusques marins : iridovirus-like et herpesvirus-like. Description et caractérisation biochimique, cycle de multiplication viral, diagnostic et étude épidémiologique, 44p.

Gérard A., Naciri Y., Peignon J.M., Ledu C., Phelipot P., Baud J.P., Nourry M., Renault T., Cochennec N., 1993. Essai d'acclimation de *Crassostrea virginica* et performances biologiques comparées avec *Crassostrea gigas* (1ère partie), 19p.

4.5. - Rapports de stage

Deschandelliers S., 1993. Rapport de stage de deuxième année Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort. *Bonamia ostrea*, parasite de l'huître plate : connaissances générales et techniques de purification.

Chollet, B., 1993. Rapport de stage de première année DUT de Biologie Appliquée - IUT La Rochelle. Présentation de l'IFREMER - Pathologie des mollusques bivalves marins.

Lipart C. 1993. Rapport de formation complémentaire - Lycée Technique Saint-Louis - Bordeaux. Contribution à l'étude d'agents pathogènes de l'huître creuse, *Crassostrea gigas* : histologie classique, microscopie électronique et culture cellulaire.

5. - FORMATIONS

5.1.- Tristan RENAULT

- * Stage «Gestion» IFREMER Nantes 15-16 juin 1993.
- * Stage enseignement post-universitaire de formation continue «Regain». Institut Pasteur, 26-28 mai 1993. «Amplification enzymatique de gène (PCR) à but diagnostic. Mise en place de cette technique au laboratoire. Exemple d'application à *Chlamydia trachomatis*».
- * Stage enseignement post-universitaire de formation continue «Regain». Institut Pasteur, 23-25 juin 1993. «Toxoplasmose : diagnostic immunologique et amplification génique par PCR».
- * Cours de Génie génétique «PCR, clonage, séquençage et expression de gènes dans les cellules eucaryotes». Institut Pasteur, 23 août - 3 septembre 1993.
- * Formation d'une journée sur cryoultramicrotome NOVA LKB par M. PILET de la Société LEICA. Novembre 1993.

5.2.- Nathalie COCHENEC

- * «Personne compétente en radioprotection en milieu industriel avec option sources non scellées».
3 modules du 29 novembre au 03 décembre 93 et 1 module du 13 au 14 décembre 93, APAVE de l'Ouest - St Herblain.
- * Formation d'une journée sur cryoultramicrotome NOVA LKB par M. PILET de la Société LEICA.

5.3.- Rose Marie LE DEUFF

- * Séminaire «Pratiques d'analyse des gels d'électrophorèse» (analyse et utilisation du logiciel dimage Bio Image, Millipore) - Paris, 4 mai 1993.
- * Formation à l'utilisation d'un logiciel d'analyse d'image ELECTRO 2.00 d'Alcatel - Ronces les Bains - 1 journée 1993.

6. - VISITES ET MANIFESTATIONS

- 4-8.01.1993 : Guenaëlle WHILEM (travaux sur *Hemotodinium*).
- 13.01.1993 : Visite de Marcel LE PENNEC, Professeur UBO Brest.
- 28.01.1993 : Visite de Grace KRASKA, Responsable pédagogique IUT La Rochelle.
- 02.02.1993 : ALCATEL, mise en place d'un logiciel d'analyse d'électrophorèse.
- 09.02.1993 : NIKON, démonstration système Vidéo.
- 03.05 1993 : Visite P. PAPON, PDG IFREMER.

- 04.05.1993 : Visite M. BERTOLOTTI, IFREMER Nantes.
- 21.06.1993 : Visite M. VERNEY, Professeur Lycée St Louis, Bordeaux.
- 30.06.1993 : Visite Dr. F. CHARLET, Direction Départementale Des Affaires Sanitaires et Sociales.
- 18-19-20.10.1993 : Mme PONS, Professeur IUT La Rochelle, Démonstration des techniques utilisées au laboratoire pour les primocultures de cellules de mollusques.
- 25.11. 1993 : Visite MM THIBODON et DAVEZE, Société AXELLBIOTECHNOLOGIE
- 15-16.06.1993 : Catherine VERSERIE - IFREMER Palavas les Flots.
- 16.09.1993 : Visite Ronald HEDRICK (Fish Pathology Laboratory) Department of Medecin School of Veterinary Medecin - Université de Californie - DAVIS) et Stéphan CHILKONCZIK (INRA - Jouy en Josas)
-
- 15-19.04.1993 : Salon ostréicole de La Tremblade.
- 17-18.04.1993 : Journées Portes ouvertes - Laboratoire IFRMER - Ronce les Bains.

LISTE DES DESTINATAIRES

Pour attribution

DRV/D
DRV/RA
DRV/PUB.

Laboratoires RA pour diffusion

IFREMER Porte-en-Bessin
IFREMER Brest
IFREMER La Trinité/Mer
IFREMER Nantes
IFREMER Bouin
IFREMER L'Houmeau
CREMA L'Houmeau
IFREMER UREA La Tremblade
IFREMER URGE La Tremblade
IFREMER URRRA La Tremblade
IFREMER Arcachon
IFREMER Palavas
IFREMER Tahiti.

Responsable Secteur Mollusques : Henri GRIZEL
Responsable Secteur Poissons : Yves HARACHE
Responsable Secteur Crustacés : Jean-Louis MARTIN.

Pour information

Directeur Centre de Nantes
IFREMER DEL La Tremblade.