

CONTROLE BACTERIEN DES ELEVAGES DE MOLLUSQUES

- CONTRAT 80/2308 -

- RAPPORT D'ACTIVITE AU 31 AOUT 1981 -

Le contrôle bactérien des élevages de mollusques bivalves a été entrepris dans notre laboratoire depuis 1972 avec l'aide financière du C.N.E.X.O. (Contrats 72/489, 73/725, 74/794, 75/1198, 76/1434, 77/1626, 78/1835, 79/2048, 80/2308).

Un bref rappel des résultats obtenus de 1972 à 1979 a été présenté en préambule au programme scientifique du contrat 80/2308. Ce rappel avait pour but de tracer l'évolution des axes de recherche et la progression des connaissances depuis le début de ce travail. Ces résultats obtenus ont permis la rédaction de vingt deux articles et communications à divers congrès, la soutenance d'une thèse de 3ème cycle et d'une thèse de Doctorat d'Etat. La liste complète de ces publications est jointe en annexe à ce document.

Nous ne donnons dans le présent rapport que les résultats obtenus dans le cadre du contrat 80/2308. Nous envisageons par ailleurs la rédaction d'un document complet reprenant l'ensemble des informations obtenues depuis 1972, une appendice technique très détaillée et une bibliographie complète. Une demande de financement pour la publication de ce document est adressée, simultanément à ce rapport, au responsable du Département "Ressources vivantes".

Les résultats obtenus dans le cadre du contrat 80/2308.

Un premier aperçu des résultats obtenus a été donné dans le rapport sur les recherches engagées au 19 mars 1981. Nous présentons ici une synthèse de l'ensemble des résultats.

1. RAPPEL DES RESULTATS ANALYTIQUES

Les études analytiques réalisées de 1976 à 1979 ont permis d'établir les faits suivants :

Chez les adultes, comme chez les larves de bivalves marins, une microflore riche en bacilles Gram négatif, à métabolisme fermentatif, appartenant essentiellement au genre *Vibrio*, a été mise en évidence. L'abondance de cette microflore semble dépendre de la richesse initiale de l'eau de mer en bactéries de ce type.

Bien que cette microflore se trouve à la fois chez les adultes et les larves, la transmission par l'intermédiaire des gamètes ne paraît pas intervenir. Les résultats obtenus sur des animaux produits au laboratoire ne sont pas faussés par les traitements divers subis par l'eau de mer qui conserve des caractéristiques voisines de celles de l'eau de mer naturelle. Les algues unicellulaires utilisées comme nourriture, ne jouent pas non plus un rôle dans l'acquisition de cette microflore car les bactéries fermentatives qui leur sont parfois associées sont différentes de celles hébergées par les mollusques. Ces conclusions sont à l'origine de l'étude expérimentale commencée à la fin de 1979.

2. ETUDE EXPERIMENTALE

2.1. Hypothèses de travail et méthodologie.

A l'issue de l'étude analytique, les questions suivantes ont été formulées :

- Les mollusques peuvent-ils ingérer et digérer les bactéries ?
- Cette ingestion est-elle sélective ?
- Les bactéries de différents types sont-elles toutes digérées par le mollusque, ou bien ont-elles une résistance au système digestif du mollusque ?
- A quel niveau du tractus digestif peut-on observer des bactéries vivantes ?

Afin de répondre à ces questions, plusieurs séries expérimentales ont été réalisées chez des juvéniles (préfigurant les adultes) et des larves de *Mytilus edulis*. Après un jeûne préalable, les animaux, répartis en divers lots, ont été nourris de suspensions bactériennes préparées à l'aide de six souches pures, isolées lors de l'étude bactériologique, et appartenant à des groupes taxonomiques différents. A des intervalles précis, des animaux ont été prélevés et fixés en vue d'une observation en microscopie photonique et en microscopie à balayage dans le cas des juvéniles, ou en microscopie à transmission, dans le cas des larves. Des animaux témoins, c'est-à-dire, soumis au même jeûne préalable, mais non nourris, ont été fixés de façon identique.

2.2. Résultats des expérimentations sur les juvéniles.

Toutes les souches bactériennes utilisées (coque Gram⁺, bacille Gram⁺, bacille Gram⁻ non fermentatif, bacilles Gram⁻ fermentatifs) sont ingérées par les juvéniles de *Mytilus edulis*. Le tube digestif se remplit très vite (5 à 10 minutes) jusqu'à sa partie postérieure. Les cellules bactériennes digérées sont observées à partir de la 3ème heure suivant l'ingestion, au niveau de l'estomac uniquement. L'intestin postérieur reste rempli au moins pendant vingt heures et l'on peut y observer des cellules bactériennes intactes. Ces derniers résultats sont particulièrement nets en ce qui concerne les souches de *Vibrio* utilisées.

Pendant le transit digestif, à la sortie de l'estomac, les particules alimentaires peuvent adhérer à la surface du stylet cristallin, ou être englobées à l'intérieur du stylet lui-même. A ce niveau également, les cellules bactériennes apparaissent intactes.

2.3. Résultats des expérimentations sur les larves.

Comme dans le cas des juvéniles, toutes les souches bactériennes utilisées ont été ingérées par les larves. On constate également que le tube digestif se remplit rapidement et jusqu'à sa partie postérieure. A l'exception d'une souche Gram positif de forme coccoïde, toutes les bactéries distribuées ont été observées, lysées. Cette lyse commence dans l'estomac et l'on trouve ensuite dans l'intestin, à la fois des cellules intactes et des membranes bactériennes vidées de leur cytoplasme. L'enrobage

des particules alimentaires dans l'épaisseur du stylet cristallin a également été observé. Les membranes des cellules bactériennes digérées et non encore évacuées, s'accumulent à la périphérie du stylet cristallin, au contact des cils de la paroi stomacale.

2.4. Conclusions de l'étude expérimentale.

Les résultats obtenus lors de l'étude expérimentale permettent de répondre aux questions posées. Les juvéniles et les larves de *Mytilus edulis* ingèrent et digèrent les bactéries qui leur sont proposées. La possibilité de relations trophiques entre mollusques et bactéries est donc vérifiée. Cependant, l'examen en microscopie électronique à balayage de juvéniles récoltés dans la nature et fixés dès la récolte, montre que les bactéries ne constituent pas la totalité du bol alimentaire. Des fragments de diatomées, très nombreux, sont le plus souvent observés.

A l'exception d'une souche non digérée par les larves (mais ceci ne modifie pas les conclusions) toutes les souches bactériennes utilisées ont été ingérées, puis trouvées en cours de digestion au niveau de l'estomac. Une ingestion et/ou une ingestion sélective ne peut donc pas être envisagée pour expliquer la présence dans le tractus digestif d'une microflore d'une composition différente de celle de l'eau de mer.

Par contre la séjour prolongé d'une partie du bol alimentaire dans l'intestin postérieur permet de proposer une autre explication. La durée de ce séjour (une vingtaine d'heures au moins dans le cas des juvéniles) est suffisante pour permettre la multiplication de bactéries adaptées à un milieu vraisemblablement anaérobie et à P^H faible. Les *Vibrio* mis en évidence au cours de l'étude analytique sont tout à fait adaptés à ces conditions.

Conclusions générales

Dès les jeunes stades larvaires, les bivalves marins hébergent une microflore riche en bactéries Gram négatif à métabolisme fermentatif, parmi lesquelles le genre *Vibrio* est le plus représenté.

Cette microflore est dépendante de celle de l'eau de mer environnante, mais indépendante des algues unicellulaires dont sont nourris les mollusques. Les gamètes ne jouent aucun rôle dans la transmission de ces bactéries entre adultes et larves.

L'acquisition de cette flore bactérienne peut s'expliquer par la lenteur du transit intestinal. Dans l'intestin postérieur, les bactéries qui ont échappé à la digestion se multiplient, dans la mesure où les conditions du tractus digestif leur conviennent. C'est en particulier le cas des *Vibrio*.

Ce mécanisme pourrait aussi expliquer la concentration des bactéries d'origine fécale par les bivalves des zones polluées, bactéries également adaptées aux conditions particulières du tractus digestif.

L'installation d'une microflore intestinale n'exclut pas la possibilité de relations trophiques entre les bivalves et les bactéries. Ces dernières peuvent être ingérées, et lysées au niveau de l'estomac. Cependant, dans le milieu naturel, le bol alimentaire des juvéniles est très varié, et les bactéries ne semblent pas dominantes.

Il est enfin intéressant de confronter ces résultats aux données obtenues par les pathologistes. Les derniers travaux publiés par LEIBOVITZ et BROWN, aux U.S.A., indiquent une relation entre la présence de *Vibrio* dans l'eau de mer et le déclenchement des maladies. Compte tenu de la tendance naturelle des larves bivalves à "accumuler" des bactéries de ce type, une recherche systématique des bactéries de ce type pourrait être entreprise dans les installations aquacoles. Cette recherche ne saurait être limitée à une localité type, mais devrait être menée dans chaque installation, en continu. En effet, plusieurs travaux ont mis en évidence un cycle annuel de ces bactéries en mer, cycle en relation avec la température de l'eau et comprenant des phases d'échange entre l'eau et le sédiment. Il est très vraisemblable que même si l'on peut établir un cycle théorique, les conditions locales sont susceptibles de le modifier, soit par l'intermédiaire de facteurs thermiques, soit de facteurs mécaniques (tempête) qui provoquent des remises en suspension du sédiment.

Le document technique que nous préparons permettra aux installations aquacoles qui le désirent de réaliser un contrôle bactériologique systématique de leurs installations. Au niveau de la recherche, il est désormais nécessaire d'étudier plus en détail les phénomènes bactériologiques dans le milieu naturel. Parmi ces phénomènes, les relations entre bactéries et matières particulières semblent primordiales. Leur étude vient de commencer dans le cadre du contrat 81/2514 consacré aux communautés bactériennes de l'eau et du sédiment sur les sites de salmoniculture de Bretagne.

Brest, le 30 novembre 1981.

Daniel PRIEUR



Vu le responsable scientifique,
Professeur A. LUCAS

