

## ETUDE SUR LES AFFECTIONS BRANCHIALES DE L'HUITRE PLATE *OSTREA EDULIS* (LINNE)

par Paul GRAS et Bernadette HERRBACH

Au cours d'un examen d'huîtres plates, *Ostrea edulis*, récoltées sur un gisement naturel de la baie du Mont Saint-Michel notre attention a été attirée par la présence sur les branchies de lésions qui, macroscopiquement, s'apparentaient aux altérations précédemment décrites chez *Crassostrea angulata* (LAMARCK) par différents auteurs.

L'étude qui en a été entreprise et qui succédait à beaucoup d'autres sur des huîtres plates de diverses origines a donné lieu à des observations qu'il nous paraît intéressant de rapporter et de comparer à celles qui ont été faites, par nous et par d'autres, sur des échantillons du genre *Crassostrea*.

### Examens directs.

Les branchies de plusieurs huîtres naturelles de la baie du Mont Saint-Michel présentaient, *in vivo*, des indentations marginales, souvent très profondes, en forme de V plus ou moins ouvert ou d'U. Dans certains cas, une indentation de même forme affectait au même endroit 2, 3 ou 4 lames branchiales, elle correspondait alors à une boursouffure de la coquille provoquée par la formation d'une chambre et pouvait être considérée, de ce fait, comme un accident.

Toutefois, sur une huître bien développée et de grande taille, s'apparentant à ce qu'on appelle l'huître « Pied-de-Cheval », nous observions des perforations peu nombreuses, à contours nets, signe d'une cicatrisation bien avancée. Ces perforations voisinaient avec des zones éparses de tissu cicatriciel, témoignages d'attaques déjà anciennes.

### Frottis.

Des *frottis* de fragments de branchies altérés montraient, après coloration, la présence de cellules vacuolaires, mesurant environ 12  $\mu$  et contenant toujours une vacuole souvent de grande taille, et parfois 2 ou 3 plus petites (fig. 1). Leur cytoplasme est finement granuleux, le noyau bien visible et excentrique. Dans certains cas, la vacuole peut atteindre de grandes dimensions, réduisant alors le cytoplasme à un mince anneau accolé contre la paroi cellulaire ; le noyau, repoussé, fait saillie. L'image ressemble à une « chevalière » (fig. 2).

### Etude histologique.

Les coupes pratiquées au niveau des perforations et des indentations marginales de l'huître de la baie du Mont Saint-Michel a mis en évidence les faits suivants.

a) L'existence d'un tissu cicatriciel ou tissu régénéré, atypique, de conformation anormale, mais dérivant du tissu lésé. Il est caractérisé par l'absence d'organisation en filaments ordinaires et la présence d'une masse tissulaire conjonctive avec revêtement épithélial uniformément cilié sous lequel sont disposées quelques baguettes chitineuses plus ou moins orientées (fig. 3 et 4).

b) La présence, dans l'huître la plus atteinte, d'éléments sphériques, d'un diamètre de 4 à 11  $\mu$  situés à l'intérieur de cellules conjonctives (fig. 5), se colorant en gris à l'Azan, avec de petites granulations réfringentes. Les cellules ainsi infectées font partie d'une masse de conjonctif qui, en voie de destruction, est sur le point d'être éliminée dans le creux de la plus grande perforation.

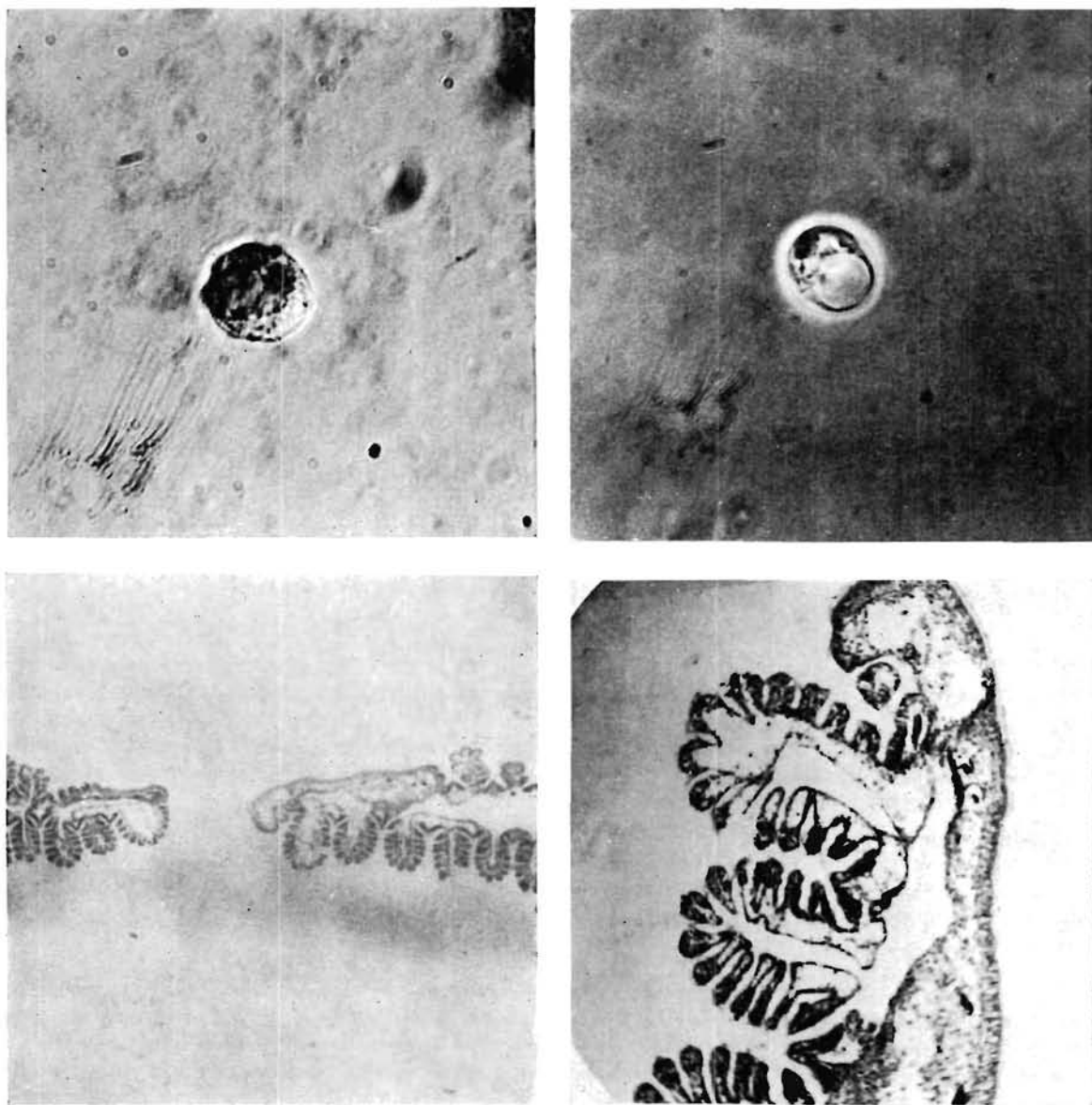


FIG. 1 à 4. — En haut, à gauche : frottis montrant une cellule à 2 vacuoles ( $G \times 1250$ ), à droite : cellule vacuolaire à 1 grande vacuole et noyau repoussé : « stade chevalière » ( $G \times 1000$ ); en bas, à gauche : coupe frontale au niveau d'une perforation (Azan) ( $G \times 10$ ), à droite : portion centrale grossie de la même coupe mettant en évidence le tissu cicatriciel ( $G \times 45$ ).

c) La concentration de nombreux leucocytes dans les espaces aquifères entourant les perforations. Ils sont chargés de corps étrangers plus ou moins sphériques ; leur noyau, sous l'effet de la surcharge, est repoussé contre la paroi cellulaire. Certains, qui atteignent un diamètre de 15  $\mu$ , semblent renfermer une masse en voie de clivage.

d) L'absence des éléments décrits précédemment par ARVY et FRANC (1968) et que nous avons en effet trouvés dans les huîtres *C. angulata* malades tant en Bretagne que dans les autres centres ostréicoles français.

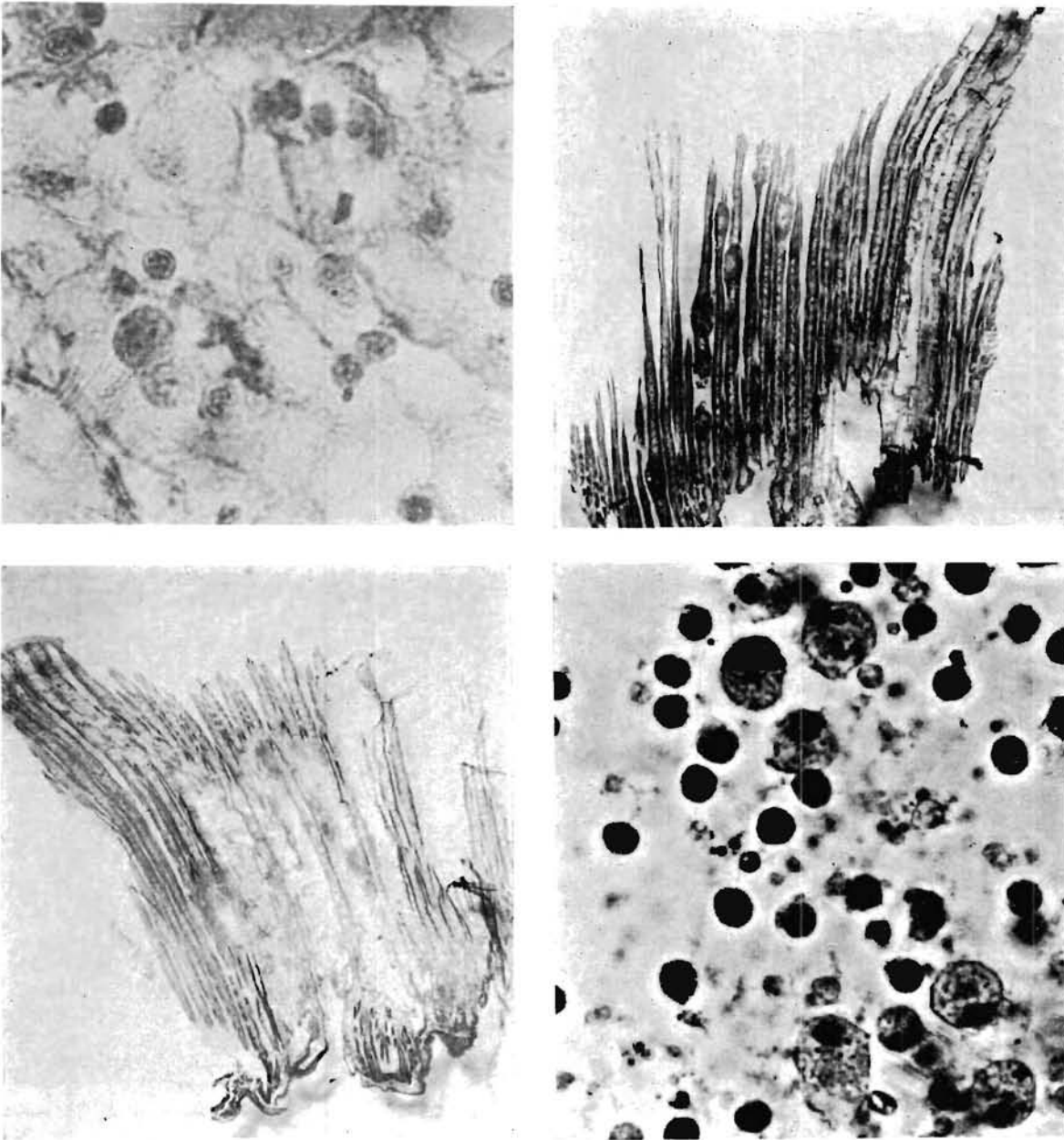


FIG. 5 à 8. — En haut, à gauche : éléments sphériques infectant les cellules conjonctives (Azan) ( $G \times 1000$ ), à droite : coupe dans le plan des branchies montrant des renflements globuleux (Azan) ( $G \times 10$ ); en bas, à gauche : coupe dans le plan des branchies passant par une perforation ( $G \times 10$ ), à droite : petites cellules obtenues en microcultures et supposées responsables de la phase active de la maladie par leur action lysante ( $G \times 1250$ ).

La même absence a été constatée chez les huîtres plates provenant de divers secteurs où les sujets altérés présentaient des indentations marginales mais pas de perforations. Nous n'avons pas davantage retrouvé le protiste signalé dans les huîtres plates, *O. edulis*, importées en 1968 de l'Adriatique,

et reparquées pendant un an en Morbihan, dont les branchies présentaient à la fois des indentations et des perforations différentes de celles de l'huître de Cancale. Chez les huîtres italiennes, en effet, les perforations avaient les bords émoussés et certains filaments branchiaux montraient des élargissements à leur extrémité ainsi que des renflements globuleux dispersés sur toute leur longueur

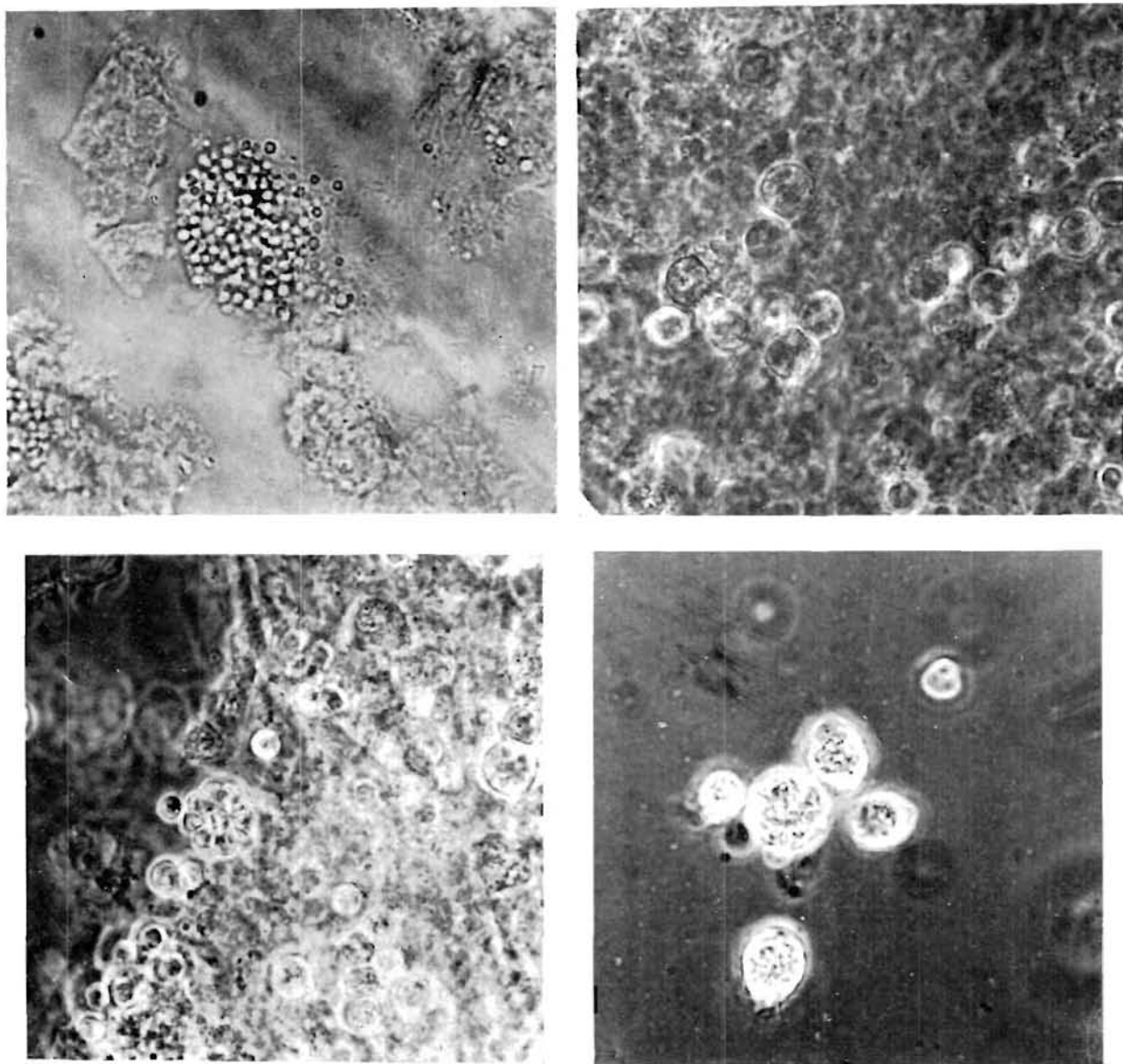


FIG. 9 à 12. — En haut, à gauche : sphérules observées en cultures et libérées par éclatement de la paroi (G  $\times$  1000), à droite : population dense de cellules obtenues en subcultures (G  $\times$  750); en bas, à gauche : stade « rosette » à 10 cellules-filles (G  $\times$  650); à droite : formations sphériques à cytoplasme très réfringent ressemblant à des sphères « morula » (G  $\times$  1000).

(fig. 6 et 7). Ces renflements distendus paraissaient devoir éclater et pourraient être à l'origine des perforations. L'étude histologique montrait l'existence d'un tissu dense très riche en noyaux et, dans le conjonctif de certains filaments, la présence de cellules particulières à cytoplasmes granuleux, se colorant en brun-jaune à l'Azan, dont le noyau était plus particulier, ne témoigneraient-elles pas d'un dérèglement métabolique ?

### Microcultures et cultures.

Des microcultures sur lames, en atmosphère humide, de fragments de branchies d'huîtres *O. edulis* de Cancale ont mis en évidence, après coloration, l'existence de nombreuses petites cellules de 1 à 4  $\mu$  de diamètre (fig. 8).

Les cultures pratiquées sur divers milieux (extrait de levure + peptone, thioglycolate, sérum de bœuf + agar), après addition de fortes concentrations de pénicilline et de streptomycine qui inhibaient tout développement bactérien, ont permis d'obtenir après incubation :

de nombreuses petites sphères de 1 à 2  $\mu$ , soit groupées à l'intérieur d'une formation plus ou moins sphérique de taille parfois supérieure à 20  $\mu$ , soit libres dans la culture ; ces formations, aux parois très fines, éclataient souvent sous l'effet de la pression exercée par la lamelle (fig. 9) ;

des structures sphériques dont le cytoplasme paraît en voie de segmentation et qui pourraient donner naissance aux sphérules décrites ci-dessus ;

des cellules nombreuses de 5 à 10  $\mu$ , à noyau bien visible et à cytoplasme granuleux ;

des cellules vacuolaires semblables à celles que nous avons trouvées par ailleurs sur les frottis ;

des cellules sphériques, d'apparence vide, ne semblant être constituées que d'une grande vacuole, associées parfois en grappes lorsqu'elles sont de petite taille. Au sein du milieu, elles peuvent grandir considérablement et leur diamètre atteindre 100  $\mu$ , même en l'absence de dextrose, contrairement à ce que supposaient RAY et CHANDLER (1955) cités par MACKIN (1961-62).

Les subcultures ont permis d'obtenir des populations très denses de cellules de 10  $\mu$  au maximum (fig. 10), constituant, en l'absence de tout contaminant, une culture pratiquement pure de l'organisme. Deux stades dits « en rosette », l'un à 5 cellules-filles, l'autre à 10, pourraient être l'ébauche d'un futur sporange (fig. 11). Les repiquages en stries sur milieu au sérum de bœuf, à partir des subcultures, ont conduit à l'obtention de structures pouvant être considérées comme des sporanges ; elles mesuraient de 7 à 9  $\mu$  et renfermaient de nombreuses spores plus ou moins piriformes de 1 à 2  $\mu$  dans leur plus grande dimension, disposées radialement. De plus, voisinant avec ces sporanges, on notait la présence de nombreuses formations sphériques à cytoplasme très réfringent et granuleux, ressemblant à des sphères « morula » (fig. 12).

### Discussion.

En dehors de leur intérêt sur le plan écologique, les huîtres de la baie du Mont Saint-Michel provenant d'un *gisement naturel* éloigné de 10 à 15 km des zones d'élevage, les observations faites sur *O. edulis* confirment l'importance des constatations notées l'an dernier par l'un de nous (GRAS, 1969) sur *C. angulata*, et soulèvent le rôle éventuel de divers agents pathogènes dans la formation des lésions et des perforations des branchies et des palpes.

Si l'on constate, en effet, sur les coupes de tissus lésés provenant d'*O. edulis*, l'absence du protiste décrit par ARVY et FRANC, les cultures que nous avons pratiquées ont, par contre, mis en évidence la présence de structures que nous avons déjà rencontrées et que nous rencontrons encore chez *C. angulata*, souvent concurremment avec l'organisme observé par FRANC. Les formations décrites dans cette note, offrent de grandes analogies avec plusieurs stades du cycle de *Labyrinthomyxa marina* (MACKIN et RAY), *Dermocystidium marinum* (MACKIN, OWEN et COLLIER) champignon étant jugé responsable des mortalités constatées aux U.S.A. chez *Crassostrea virginica* GMELIN ; les stades préhyphospores, en « chevalière », en « rosette », et ceux que nous avons mentionnés dans un travail précédent, présentent en effet, de grandes similitudes avec des descriptions faites par MACKIN et autres. La découverte chez *O. edulis* de la baie du Mont Saint-Michel, de structures semblables à des sporanges, vient à l'appui de cette hypothèse, d'autant qu'une formation similaire avait été trouvée, *in vivo*, dans les tissus branchiaux lésés d'huître *Crassostrea gigas* THUNBERG, arrivée directement du Japon au laboratoire de La Trinité-sur-Mer au début de 1968. Il n'est pas exclu, enfin, que les petites cellules de 1 à 4  $\mu$ , obtenues en microcultures, ne constituent la phase active de l'affection et ne soient responsables des perforations constatées, par la sécrétion d'exoenzymes qui lyseraient les cellules épithéliales. Il y a là, semble-t-il, une voie de recherches méritant d'être explorée plus avant.

BIBLIOGRAPHIE

- ALDERMAN (D.J.) et GRAS (P.), 1969. — « Gill disease » of portuguese oysters. — *Nature*, Londres, **224**, n° 5219, nov. 8, p. 616-617.
- ARVY (L.) et FRANC (A.), 1968. — Sur un protiste nouveau, agent de la destruction des branchies et des palpes de l'huître portugaise. — *C.R. Acad. Sci.*, Paris, **267**, sér. D, p. 103-105.
- BESSE (P.), 1968. — Résultats de quelques observations sur une affection branchiale des huîtres (*Crassostrea angulata* LMK). — *Bull. Acad. Vet.*, **41**, p. 87-91.
- COMPS (M.), 1969. — Observations relatives à l'affection branchiale des huîtres portugaises (*Crassostrea angulata* LMK). — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **33** (2), p. 151-160.
- FRANC (A.) et ARVY (L.), 1970. — Données sur l'évolution de la « maladie des branchies » chez les huîtres et son agent causal : *Thanatostrea polymorpha* FRANC et ARVY. — *Bull. biol.*, **104** (1), 1<sup>er</sup> trim.
- GRAS (P.), 1969. — Recherches sur l'organisme responsable de la maladie des branchies. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **33** (2), p. 161-164.
- MACKIN (J.G.), 1961-62. — Oyster disease caused by *Dermocystidium marinum* and other microorganisms in Louisiana. — *Publ. Inst. mar. Sci. Texas*, **7**, p. 132-229, bibl.
- MARTEIL (L.), 1968. — La « maladie des branchies ». — *Cons. int. Explor. Mer*, n° k 5 (ronéo).