

Découvrez un ensemble de documents, scientifiques ou techniques,
dans la base Archimer : <http://www.ifremer.fr/docelec/>

ifremer

Direction de l'environnement et de l'aménagement littoral

R.INT.DEL /97.01/ La Tremblade

État des connaissances sur la pathologie chez les mollusques bivalves



Par Dominique FOUCHE
Avec la collaboration de Tristan RENAULT, Rose-Marie LE DEUFF
et Henri GRIZEL

FICHE DOCUMENTAIRE

Type de rapport : RDN	
Numéro d'identification du rapport : DEL / LT / RDN / R. INT 1997.01 Diffusion : libre <input checked="" type="checkbox"/> restreinte <input type="checkbox"/> interdite <input type="checkbox"/> Validé par : Pierre Maggi, secrétaire du Comité de lecture des rapports internes DEL Adresse électronique : - chemin UNIX : - adresse WWW :	date de publication nombre de pages 25 pages bibliographie (Oui/Non) oui illustration (s) (Oui/Non) oui langue du rapport : français
Titre et sous-titre du rapport : Etat des connaissances sur la pathologie chez les mollusques bivalves Titre traduit : Current knowledge of the diseases affecting bivalve molluscs : an overview.	
Auteur(s) principal(aux) : nom, prénom FOUCHE Dominique	Organisme/Direction/Service, laboratoire IFREMER/DEL/La Tremblade
Collaborateur(s) : nom, prénom RENAULT Tristan LE DEUFF Rose-Marie GRIZEL Henri	Organisme/Direction/Service, laboratoire IFREMER/DRV/URPIGM La Tremblade IFREMER/DRV/URPIGM La Tremblade IFREMER/DRV/RA Sète
Organisme commanditaire : nom développé, sigle, adresse	
Titre du contrat : _____ n° de contrat Ifremer	
Organisme(s) réalisateur(s) : nom(s) développé(s), sigle(s), adresse(s)	
Responsable scientifique : _____	
Cadre de la recherche : Programme : _____ Convention : _____ Projet : _____ Autres (préciser) : _____ Campagne océanographique : nom de campagne, année, nom du navire	

FICHE DOCUMENTAIRE

Résumé :

Une brève description des organismes pathogènes affectant les bivalves est proposée dans ce document, incluant le diagnostic au laboratoire, les recherches en cours et les mesures zootechniques éventuelles.

Un dépistage précoce soutenu par une réglementation draconienne concernant les transferts (comme cela existe déjà en agriculture) peut permettre de protéger les cheptels des épizooties. De plus, les espèces à cultiver peuvent être minutieusement choisies et une partie des cheptels à risque peut être déplacée. L'importation d'une espèce est soigneusement contrôlée.

Les équipes de recherche en amont ont pour mission d'améliorer les outils de diagnostic et de chercher des souches résistantes aux agents pathogènes. En aval, des études épidémiologiques sont indispensables.

Abstract :

A short description of the disease causing organisms affecting bivalves is presented in this document, including the diagnosis, the outstanding research and bivalve husbandry.

Mollusc populations may be safe from disease epizootics if an early prevention of disease is coupled with a strict regulatory system on transfer (according to what happens in agriculture). The species to culture may be thoroughly selected and risky populations moved. Imported stocks are strictly controlled.

The researchers's target is to improve the diagnosis tools and try to find resistant mollusc strains. Epidemiological surveys are also necessary to control diseases.

Mots clés :

métazoaire, bactérie, virus, protozoaire, bivalve, prophylaxie, zootechnie, transfert

Keywords :

metazoan, bacteria, virus, protozoan, bivalve, prophylatics, husbandry, transfer

Commentaire : Cours dispensé à des élèves de BTS aquacole et complément aux Fiches Pratiques QR

SOMMAIRE

Préambule

Introduction

A - Description des agents pathogènes

METAZOAIRES

PROCARYOTES

- 1 - Bactéries
- 2 - Mycoplasmes
- 3 - Chlamydies
- 4 - Rickettsies

VIRUS

- 1 - Iridovirus ⇒ maladie des branchies et maladie hémocytaire
- 2 - Iridovirus ⇒ O.V.V.D
- 3 - Virus de type herpès

EUCARYOTES PROTOZOAIRES

Phylum des *Sarticomastigophora*

Phylum des *Labyrinthomorpha*.

Phylum des *Apicomplexa*

Genre *Perkinsus*

Phylum des *Ascetospora*

Genre *Haplosporidium*

Genre *Marteilia*

Genre *Bonamia*

B - Dépistage

C - Epidémiologie

D - Prophylaxie et traitement

E - Génétique

F - Importance économique des épizooties

G - Réglementation zoosanitaire

Liste des ouvrages et publications consultés pour la rédaction de ce rapport

Préambule

Les maladies des coquillages peuvent avoir de graves conséquences économiques. Les épizooties qui ont touché l'huître plate, *Ostrea edulis* puis l'huître portugaise, *Crassostrea angulata*, par exemple, en ont depuis quasiment interdit la culture. Il est donc nécessaire que les conchyliculteurs soient informés, certes des risques qu'ils courent et des précautions à prendre, mais aussi de ce que sont les maladies de coquillages (tant il est vrai que l'on ne prend au sérieux que ce que l'on a compris).

Il est indispensable pour cela que cette information soit présentée sous une forme compréhensible par des non-chercheurs, que ce soient les agents de terrain de l'IFREMER qui sont souvent les interlocuteurs directs des professionnels (fiches pratiques par exemple) et qui doivent pouvoir convaincre, ou bien les organismes de formation, de transfert et d'appui technique, partenaires indispensables de toute filière de production bien organisée. La démarche entreprise ici doit s'élargir par la suite aux autres domaines de la recherche susceptibles d'applications pratiques (pollution, phytoplancton, physiologie des coquillages) mais elle ne pourra réussir qu'avec la collaboration des équipes de recherche elles-mêmes.

Introduction

Durant ces dernières décennies, la mariculture a beaucoup évolué. Les progrès zootechniques (techniques d'élevage, transferts de coquillages interbassins...) ont permis une augmentation conséquente de la production conchylicole. Certains bassins souffrent malheureusement d'un problème de surproduction auquel s'ajoutent les aléas du captage naturel. La prédominance d'une seule espèce en élevage, comme l'huître creuse, *Crassostrea gigas*, sur la scène de l'ostréiculture mondiale, reste un sujet d'inquiétude pour les éleveurs et les chercheurs de certains pays (Amérique du Nord, Europe, Nouvelle-Zélande et Australie) car aucune autre espèce d'huître ne semble pouvoir assurer la relève.

Les facteurs généralement incriminés dans les mortalités sont multiples. Les agents infectieux conjugués dans certains cas à divers facteurs comme la surcharge des parcs d'élevage, des changements hydrologiques brusques ou la présence de polluants chimiques engendrent des mortalités à caractère épidémique (Tableau 1). En effet, si la présence d'agents pathogènes est normale dans le milieu, leur virulence croît lorsque les animaux en élevage ont une résistance affaiblie.

Des métazoaires, des procaryotes, des virus et des protozoaires parasites sont associés plus ou moins directement aux maladies. Ainsi la pathogénicité des protozoaires *Perkinsus*, *Haplosporidium*, *Marteilia* et *Bonamia*, mise en évidence grâce à des données épidémiologiques, est incontestée. Ils sont assez virulents, tout comme certains virus, alors que le risque de mortalité lié à la présence de métazoaires (copépodes, vers etc..) et de procaryotes (bactéries, rickettsies, etc...) est plus limité.

Les chercheurs sont relativement démunis devant ces pathologies : pas de lignée cellulaire⁽¹⁾ de mollusques pour reproduire la maladie in vitro ni de réactions sérologiques⁽²⁾ du fait de l'absence d'anticorps chez les mollusques. Cependant, grâce à la microscopie électronique, les étapes des évolutions parasitaires ont pu être décrites et certains virus observés. L'isolement et la purification récentes de certains parasites ont permis leur caractérisation biochimique, antigénique et génétique, aboutissant de ce fait à des applications concrètes en terme de diagnostic et de prophylaxie. Des sondes nucléiques en cours de réalisation (cas du virus de type herpès), devraient permettre d'aboutir bientôt à un diagnostic rapide. Ceci est indispensable pour prendre les mesures zootechniques qui s'imposent. Des essais de sélection de souches résistantes aux maladies sont menés.

L'impact des maladies sur la conchyliculture est important. D'un point de vue économique et social, il s'est avéré nécessaire de mettre en place une réglementation s'appuyant sur la présence ou l'absence d'agents infectieux reconnus pathogènes. Celle-ci a pour objectif d'éviter des transferts incontrôlés qui pourraient hypothéquer sérieusement l'avenir de cette profession.

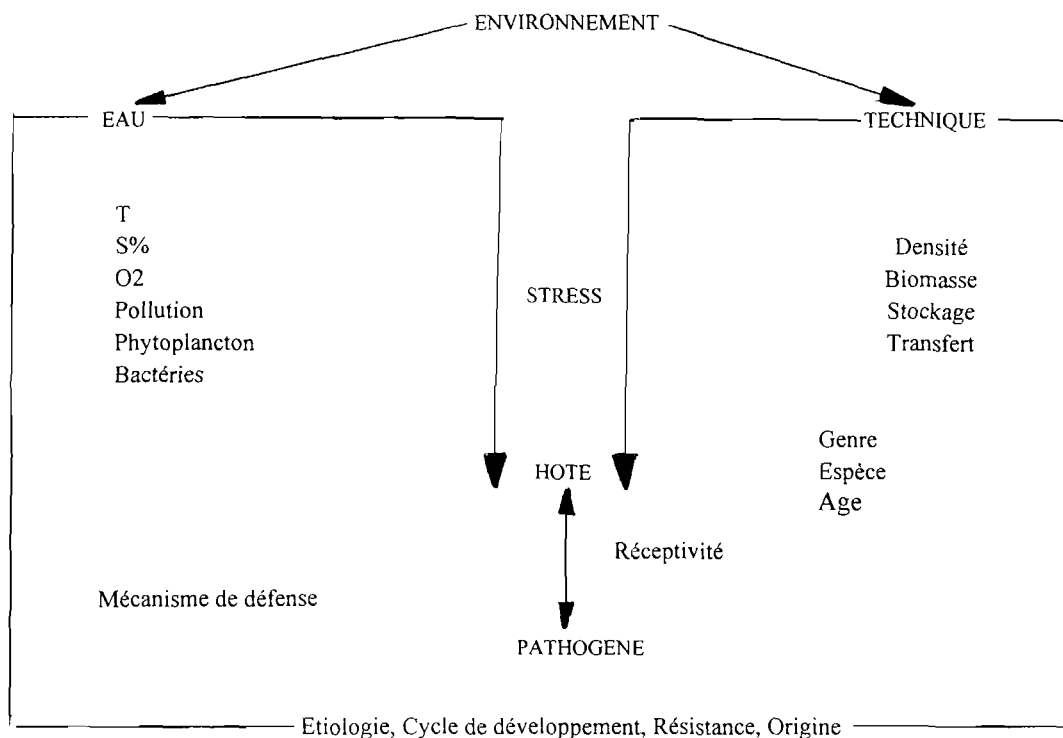


Tableau 1 - Diagramme des relations entre hôte, pathogène et paramètres environnementaux (d'après GRIZEL *et al.*, 1986).

(1) culture cellulaire effectuée à partir d'un tissu animal, dont la durée de vie n'est pas limitée

(2) diagnostic indirect des traces de l'infection chez l'individu, c'est à dire détection des anticorps

A- Description des agents pathogènes

METAZOAIRES

Définition : un métazoaire est un organisme animal comportant plusieurs cellules

Les mollusques constituent souvent des hôtes intermédiaires pour certains **trématodes**. Les plus courants d'entre eux appartiennent au genre *Bucephalus*. Ils parasitent l'huître plate, *Ostrea edulis*, l'huître creuse, *Crassostrea gigas*, l'huître américaine *Crassostrea virginica*, les palourdes, la mactre et le donax. Un deuxième hôte est constitué par un poisson. Aucune mortalité n'est constatée, mais des modifications biochimiques, physiologiques, morphologiques et comportementales apparaissent lors des infestations.

Certains **copépodes**, en particulier *Mytilicola intestinalis*, sont retrouvés essentiellement dans la moule *Mytilus edulis*, mais aussi de plus en plus fréquemment dans l'huître creuse *Crassostrea gigas*, la coque *Cerastoderma edule*, la moule *Mytilus galloprovincialis* et d'autres mollusques. Un autre parasite du même genre, *Mytilicola orientalis*, a été décrit. Des infestations d'une trentaine de parasites par huître (*C. gigas*) ont pu être observées dans le bassin d'Arcachon

Ces copépodes vivent dans l'intestin du bivalve, mais aussi dans les canaux de la glande digestive. Leur corps est allongé, rouge vif et vermiforme. Les plus grands individus (10mm) correspondent aux femelles. Ils survivent à des conditions extrêmes de température et de salinité. Pendant longtemps source d'inquiétude pour les mytiliculteurs produisant l'espèce *Mytilus edulis*, il semble que ces parasites soient considérés maintenant comme des commensaux plutôt que comme des parasites. Ils utiliseraient le bivalve pour concentrer les algues (non utilisées) leur servant de nourriture (Fig.1).

Il n'y a pas d'épizootie⁽¹⁾, mais de fortes mortalités en cas d'infestation massive (si le nombre est supérieur à 10) et une diminution de l'index de condition.

Quant aux **annélides** et aux **nématodes**, aucun impact majeur sur les élevages conchylicoles n'a été reconnu. Cependant, *Polydora*, annélide polychète sédentaire (Fig. 2), creuse des galeries et des chambres dans la coquille. Celle-ci se fragilise et il peut y avoir amaigrissement et parfois mortalité. C'est un problème non négligeable pour la commercialisation.

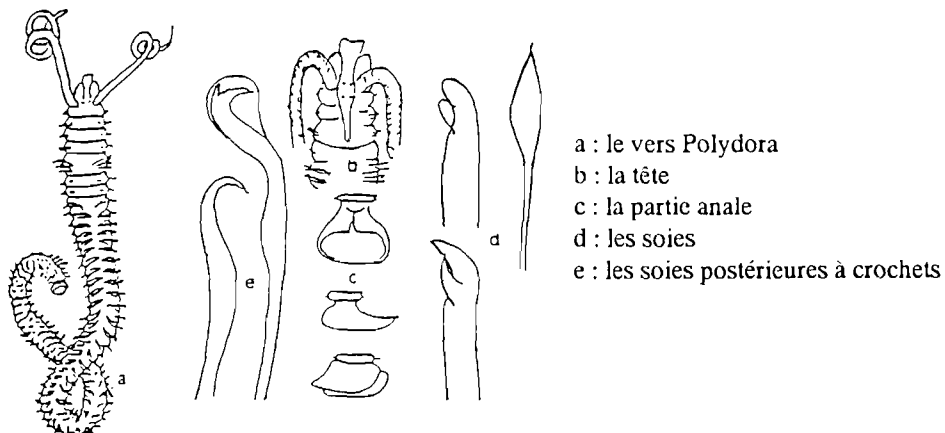
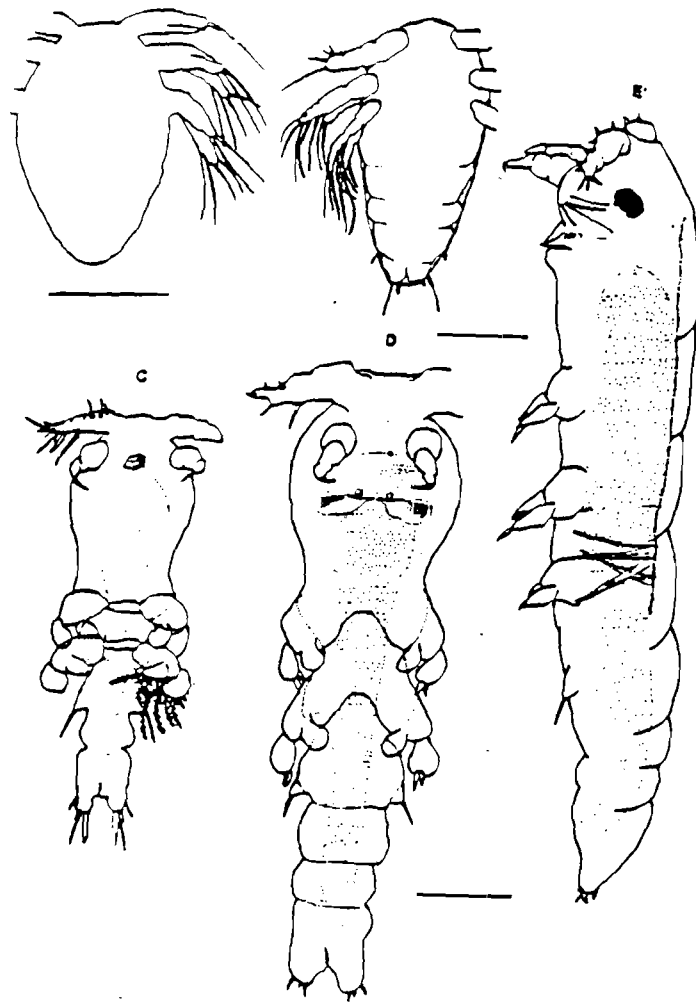
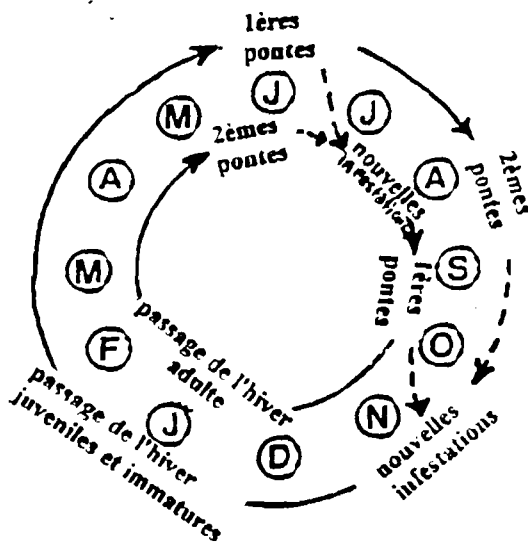


Figure 2 - *Polydora hoplura* Claparède (d'après FAUVEL dans CATHERINE *et al.*, 1990)

(1) épidémie qui frappe les animaux

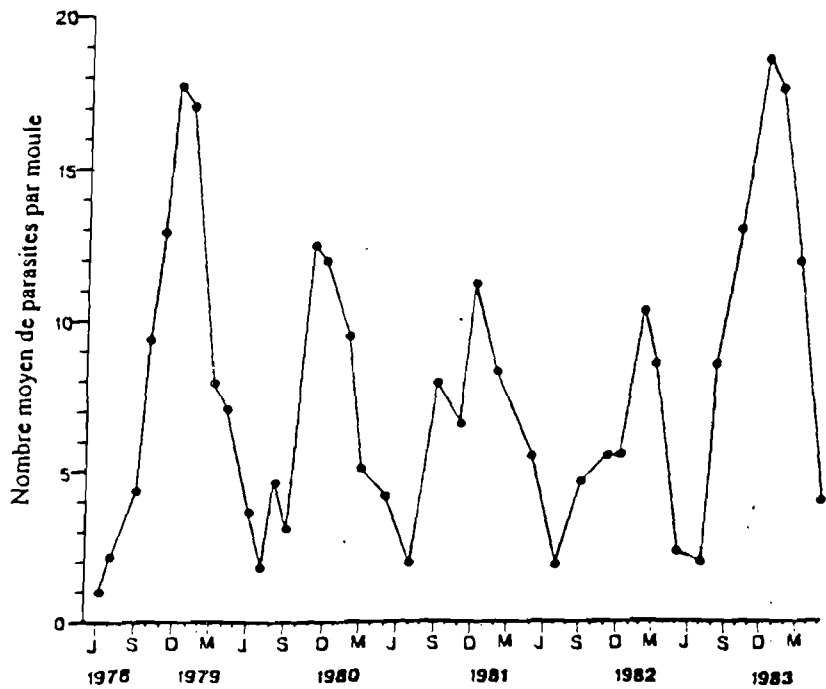


Caractères morphologiques : (A) Nauplius (B) Metanauplius (C) Copepodite I (stade d'infestation) (D) Copepodite II (E) Copepodite III. Tous en vue ventrale sauf E. Echelle : 1mm



Cycle de ponte de *Mytilicola intestinalis* dans des moules de Cornouailles. Les lignes pleines soulignent la croissance et le développement de la génération parasite. Les lignes brisées montrent les phases de vie à l'état libre qui lient une génération à l'autre.

Les lettres représentent les mois de l'année



Nombres moyens de *Mytilicola intestinalis* (tous stades confondus) par moule dans des sous-échantillons de 50 individus pris sur 0,1m² de gisement coquilliers en Cornouaille. Cinq années de suivis. (M) Mars (J) Juin (S) Septembre (D) Décembre

Figure 1 - Description et cycle de *Mytilicola intestinalis* (d'après DAVEY and GEE, 1988)

PROCARYOTES

Définition : chez le procaryote, le matériel nucléaire (ADN) n'est pas séparé du cytoplasme par une membrane. Les algues bleues et les bactéries en font partie.

Une classification simple concernant les bactéries rencontrées chez les coquillages est proposée ci-dessous.

Procaryotes	Protistes supérieurs (eucaryotes)
Bactéries	Algues Protozoaires Champignons
<p style="text-align: center;"><i>Procaryotes</i> : chromosome unique dépourvu de membrane</p> <p style="text-align: center;"><i>Eucaryotes</i> : Noyau pourvu de membrane et de nombreux chromosomes : véritable structure cellulaire</p>	
<p>Groupes de bactéries *</p> <p style="margin-left: 40px;">Spirochètes</p> <p style="margin-left: 40px;">Bactéries Gram négatif, hélicoïdes ou vibroïdes, mobiles, aérobies / microaérophiles</p> <p style="margin-left: 40px;">Bactéries Gram négatif, courbes, immobiles ou rarement mobiles</p> <p style="margin-left: 40px;">Bacilles et cocci Gram négatif aérobies</p> <p style="margin-left: 40px;">Bacilles Gram négatif anaérobies facultatifs</p> <p style="margin-left: 40px;">Bactéries Gram négatif, anaérobies stricts sulfo-sulfato-réducteurs</p> <p style="margin-left: 40px;">Cocci Gram négatif, anaérobies</p> <p style="margin-left: 40px;">Rickettsies, Chlamydiés</p> <p style="margin-left: 40px;">Mycoplasmes</p> <p style="margin-left: 40px;">Endosymbiontes</p> <p style="font-size: small; margin-top: 10px;">(* Classification selon Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Williams & Wilkins ed., London, 1986)</p>	

Tableau 2. Les procaryotes rencontrés chez les coquillages (ELZERE-PAPAYANNI, 1993)

1 - Bactéries

• Vibrio sp (pathogènes opportunistes)

La flore commensale des huîtres comporte de nombreuses bactéries. Certaines sont des hôtes hébergés par les coquillages, mais peuvent devenir des bactéries pathogènes pour ces mêmes coquillages. C'est le cas des bactéries du genre *Vibrio*. Les coquillages adultes sont très rarement atteints par des vibrions, par contre les larves subissent des mortalités particulièrement sévères en éclosion. Par exemple, des bactéries du genre *Vibrio*, en agissant sur la coquille, le manteau, les cellules du vélum⁽¹⁾ et certaines cellules de la glande digestive, provoquent une perturbation de l'alimentation et de la croissance des larves de la coquille St Jacques, *Pecten maximus* et de l'huître creuse, *Crassostrea gigas*.

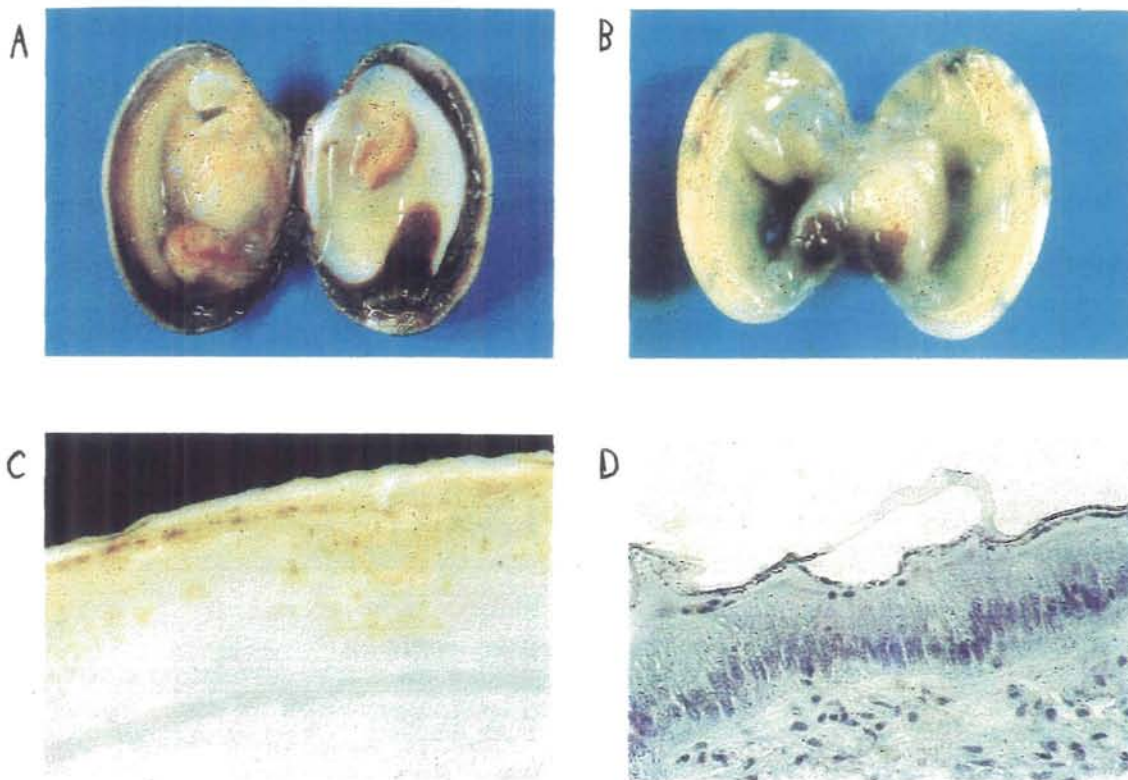
• Vibrio P1 (pathogène)

Ce *Vibrio* a causé d'importantes mortalités dans les élevages de palourde japonaise, *Ruditapes philippinarum* (Fig. 3). Le caractère transmissible de cette maladie a été prouvé et la reproduction expérimentale de la maladie a été effectuée.

(1) membrane munie de cils trouvée chez les mollusques marins (Lamellibranches et Gastéropodes) au stade véligère. A ce stade, ils ont un début de coquille dorsale.

Examen direct : dépôt brunâtre sur la face interne des valves

Recherches actuelles : des anticorps monoclonaux⁽¹⁾ ont été préparés, mais ne sont pas encore utilisés.



A – Palourde présentant sur la face interne des valves un anneau caractéristique, situé entre la ligne palléale et le bord de la coquille. Origine : site de Brouennou. 1 cm = 8 mm

B – Palourde présentant un dépôt brun léger localisé dans la zone postéro-ventrale du compartiment périphérique. Quelques taches brunes sont visibles. Origine : nourricerie. 1 cm = 2,9 mm

C – Détail des taches brunes situées dans la zone ventrale du compartiment périphérique. Origine : nourricerie. 1 cm = 0,25 mm

D – Coupe longitudinale du manteau et de la lame périostracale d'une palourde présentant un anneau brun. A la sortie du sillon périostracal et au contact des cellules de la face externe du bourrelet externe, la lame périostracale présente deux types d'altérations : le périostracum n'est plus en relation avec la couche de matrices fibrillaire coquillière et elle est normalement envahie de granulations et de bactéries. Hémalum-éosine ; M.P. 10 μ = 2,5 mm

Figure 3 – Série de photos sur la maladie de l'anneau brun chez *Ruditapes philippinarum* (clichés PAILLARD dans ELZERE-PAPAYANNI, 1993)

• Autre *Vibrio*

On suppose qu'une autre espèce de *Vibrio* a atteint des juvéniles de l'huître américaine, *Crassostrea virginica*, bien que d'autres agents aient été suspectés (protozoaires, bloom d'algues). Cette maladie appelée JOD (Juvenile Oyster Disease) n'est pas due au *Vibrio* P1, bien qu'à l'examen direct, on observe également un anneau brun. Cette maladie est associée à des mortalités estivales chez les juvéniles, qui peuvent atteindre 65%.

(1) anticorps spécifique d'un déterminant antigénique donné, produit par un clone de lymphocyte B, généralement de souris. Par opposition, un anticorps polyclonal représente la totalité des anticorps contenus dans le sérum d'un animal (souris, lapin...). Ces anticorps permettent des réactions sérologiques.

- *Nocardia* (pathogène opportuniste)

En Amérique du Nord, cette bactérie affecte l'huître creuse, *Crassostrea gigas*. Des mortalités surviennent sous l'effet d'une synergie entre les bactéries et des conditions d'élevage particulières.

2 – Mycoplasmes

Définition : ce sont des bactéries sans paroi. Leur dimension varie de 0.1 à 1 µm environ et ils sont assez proches des rickettsies. Ils se multiplient en dehors des cellules vivantes, par bourgeoisement.

Ils ont été mis en évidence récemment chez le pectinidé *Pecten yessoensis*, au Canada et associés à des mortalités. Ils sont cependant peu étudiés du point de vue de la pathologie.

3 – Chlamydies

Définition : ce sont des bactéries gram (-), parasites intracellulaires proches des rickettsies. Elles se multiplient uniquement dans les cellules et possèdent de l'ADN et de l'ARN.

Elles ont été décrites chez plusieurs espèces de bivalves : le clam, *Mercenaria mercenaria* tout d'abord, puis l'huître creuse, *C. gigas* à Marennes Oléron et à Arcachon. L'incidence est plus faible en Bretagne et elles n'ont jamais été rencontrées en Méditerranée et en Normandie.

Examen direct : des anomalies branchiales sont observées chez l'espèce *C. gigas* (Fig. 4). Lorsqu'elles sont en grand nombre elles peuvent agir sur les tubules digestifs entraînant une déficience de l'absorption suivi d'un amaigrissement et donc un affaiblissement des animaux.



Figure 4 – Huître creuse, *Crassostrea gigas*. Anomalies macroscopiques des branchies. Présence d'indentations (cliché RENAULT, 1994)

4 – Rickettsies

Définition : ce sont des bactéries intracellulaires de 0,5 à 2µm que l'on a longtemps confondues avec les virus.

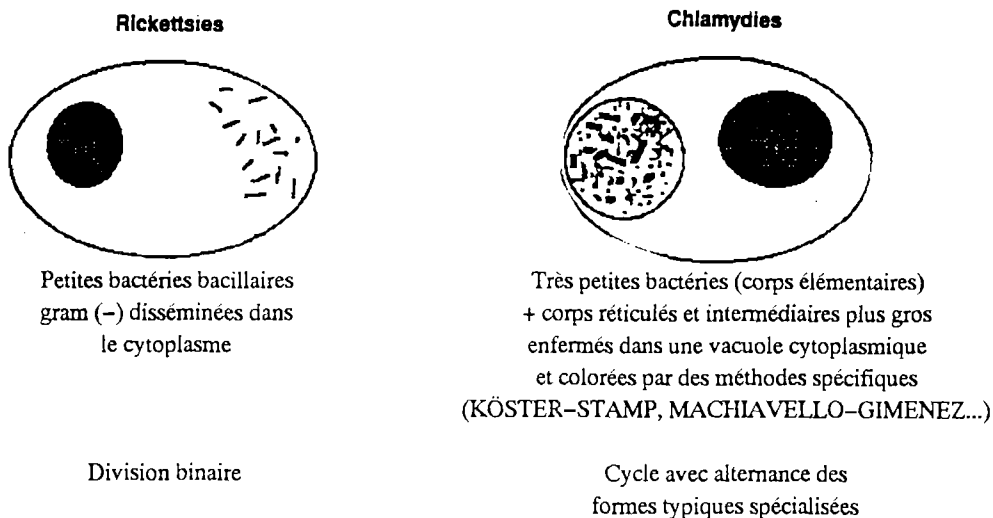
Une espèce de rickettsie a été retrouvée en 1994 chez l'huître creuse, *C. gigas*, mais seule une analyse sur 760 s'est révélée positive.

Quelques cas graves ont été observés dans des populations du pectinidé, *Pecten maximus*, en Bretagne et Normandie. De fortes mortalités ont eu lieu en 1985 et 1986 avec 20% et 30% de pertes sur deux hivers soit 10 000 tonnes de coquilles Saint-Jacques.

Examen direct : les rickettsies se trouvent en colonies, dans les cellules épithéliales des branchies ou dans les tubules, en fonction de l'espèce infectée. L'hôte est à priori bien spécifique d'une espèce de rickettsie. La mort de l'individu n'est pas corrélée directement à l'action de la rickettsie mais plutôt à l'affaiblissement résultant des changements physiologiques induits par sa présence prolongée dans les branchies.

Recherches actuelles : les rickettsies décrites chez les mollusques posent encore des problèmes d'identification tant du point de vue biochimique que génétique. L'espèce retrouvée dans les coquilles Saint-Jacques a été purifiée et des anticorps ont été préparés.

Les études épidémiologiques ont conduit à suspecter la responsabilité de transferts de coquillages, en particulier d'Irlande et d'Ecosse.



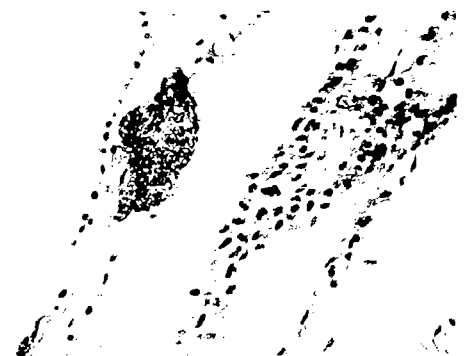
Cycle chlamydien
1) Vacuolisation du corps élémentaire par phagocytose par les cellules de l'hôte
2) Transformation du corps élémentaire en corps réticulé
3) Division binaire du corps réticulé et obtention des corps intermédiaires
4) Différenciation des corps intermédiaires en corps élémentaires
5) Libération des corps élémentaires par rupture de la membrane cellulaire

RICKETTSIES-CHLAMYDIES : parasites intracellulaires obligatoires

CARACTÈRES	CORPS ÉLÉMENTAIRES	CORPS RÉTICULÉS
Diamètre μm	0,2-0,4	0,5-1,5
Forme infectieuse	+	-
Multiplication intracellulaire	-	+
ADN	dense	dispersé
ARN / ADN	1	3-4
Ribosomes	peu	abondants

d'après WEIS et MOULDER, 1984 et MOULDER, 1984

Quelques caractéristiques des corps élémentaires et réticulés



Colonie de type rickettsien dans le tissu branchial de *Pecten maximus*, Mann-Dominici ; x 200 (LE GALL et al., 1988)

(d'après ELZERE-PAPAYANNI, 1993)

VIRUS

Définition : les virus sont des micro-organismes qui se distinguent des bactéries par le fait qu'ils ne contiennent qu'un seul type d'acide nucléique (ARN ou ADN) et qu'ils sont parasites obligatoires des cellules eucaryotes

Historique

- La première infection virale a été mise en évidence sur coquillages en 1972 chez l'huître, *Crassostrea virginica* aux USA. La cause de l'infection sera reliée quelques années plus tard aux *Herpesviridae* grâce à la microscopie électronique. Les mortalités ne sont pas importantes.
- D'autres viroses beaucoup plus dramatiques ont eu lieu entre 1969 et 1973. C'est ainsi que l'huître portugaise, *Crassostrea angulata*, disparaît du littoral français à cause de deux iridovirus. Ces virus ne seront mis en évidence que 4 ans après.
- Un autre virus est détecté en 1980 sur *Crassostrea gigas* dans des écloséries américaines
- Enfin en 1991, un virus de type herpès est observé en France sur des larves d'huître creuse, *C. gigas* et sur du naissain d'huître plate, *Ostrea edulis* en éclosérie ainsi qu'en Nouvelle Zélande sur les larves d'huître creuse, *C. gigas*.

Familles de virus	Espèces hôtes
<i>Iridoviridae</i>	<i>Crassostrea angulata</i> <i>Crassostrea gigas</i>
<i>Papovaviridae</i>	<i>Crassostrea virginica</i> <i>Crassostrea gigas</i> <i>Crassostrea commercialis</i> <i>Ostrea edulis</i> <i>Ostrea lurida</i> <i>Mya arenaria</i> <i>Macoma balthica</i>
<i>Herpesviridae</i>	<i>Crassostrea virginica</i> <i>Crassostrea gigas</i> <i>Ostrea edulis</i> <i>Mercenaria mercenaria</i>
<i>Togaviridae</i>	<i>Ostrea lurida</i>
<i>Retroviridae</i>	<i>Mya arenaria</i>
<i>Paramyxoviridae</i>	<i>Mya arenaria</i>
<i>Reoviridae</i>	<i>Crassostrea gigas</i> <i>Crassostrea virginica</i> <i>Ostrea edulis</i> <i>Tellina tenuis</i> <i>Mercenaria mercenaria</i>
<i>Picomaviridae</i>	<i>Mytilus edulis</i>

Tableau 2 – Principales familles de virus décrites chez les mollusques bivalves (d'après LE DEUFF, 1993)

1 - Iridovirus ⇒ maladie des branchies et maladie hémocytaire

Deux iridovirus se seraient succédés pour affecter les cheptels de l'huître portugaise, *Crassostrea angulata*, et aboutir à sa disparition totale. Le premier en 1968, le deuxième en 1972.

Le premier iridovirus (maladie des branchies) présentait les caractéristiques suivantes :

Examen direct : des ulcérations des branchies et des palpes labiaux sont visibles, elles aboutissent des perturbations physiologiques. Des tâches jaunes et des perforations correspondent à ces ulcérations.

Microscopie électronique : les cellules localisées sur les tissus nécrosés sont hypertrophiées et contiennent des virus d'environ 380 nm. Ces virus ont une localisation intracytoplasmique et ils contiennent de l'ADN. La forme icosaédrique (polygone à 20 faces), la localisation intracellulaire, la taille et le cycle de multiplication permettent de conclure à l'appartenance du virus à la famille des Iridoviridae.

Départ de l'épizootie : Marennes Oléron avec une extension rapide sur tout le littoral atlantique : 70 % d'huîtres infectées et 40% de mortalités. Cette maladie est alors également observée au Portugal et en Espagne. Après 1968, la maladie existe à l'état endémique sur les gisements d'huîtres naturels du Portugal.

Faits marquants : importations d'huîtres portugaises du Portugal en 1967 et introductions frauduleuses d'huîtres japonaises du Japon et du Canada.

Le deuxième iridovirus (maladie hémocytaire) présentait les caractéristiques suivantes :

Examen direct : amaigrissement des huîtres, atrophie du muscle adducteur

Microscopie électronique : localisation intracytoplasmique. Présence d'ADN. Présence dans l'hémolymphe d'hémocytes atypiques dans lesquels se passe la virogénèse

Départ de l'épidémie : Marennes Oléron , puis Bretagne, enfin Arcachon. Les élevages méditerranéens ne sont pas été touchés durant cette période. Toutes les huîtres survivantes disparaissent : le stock passe de 60 000 tonnes à 0.

Conséquences de l'épidémie : introduction massive de *Crassostrea gigas* en 1971. Cette huître était déjà un peu implantée depuis 1966 environ et semblait insensible aux iridovirus. Elle s'est bien adaptée à son nouveau biotope. Une implication de l'huître creuse dans la disparition de l'huître portugaise est supposée.

Il n'a jamais pu être démontré que le virus était la cause de la maladie. En effet, il n'a jamais été possible de l'isoler pour tenter de reproduire la maladie au laboratoire et vérifier le pouvoir pathogène du virus. A l'époque les moyens et le personnel étaient limités. Le virus ne fut identifié que 4 ans après la disparition de l'espèce *C. angulata* en France.

2 - Iridovirus ⇒ O.V.V.D. (Oyster Velar Virus Disease)

Le même groupe de virus (iridovirus) a été mis en cause dans des mortalités de larves de *Crassostrea gigas*. Il a été décrit aux USA (Etat de Washington) et associé à des mortalités observées entre mars et mai et quelquefois en été. Sa position taxinomique n'est pas claire.

Examen direct : des lésions sont observées au niveau du manteau et du tissu conjonctif. Les particules virales se développent dans le cytoplasme des cellules épithéliales du vélum et provoquent des lésions. Cette

maladie doit à priori être suspectée si les mortalités apparaissent aux saisons décrites plus haut, si la taille des larves est supérieure à 150µm, si la ponte a eu lieu 10 jours auparavant et s'il y a perte de cils sur le vélum. Cependant, ces virus n'ont pu être isolés, ni purifiés, ni analysés et la maladie n'a pu être retransmise expérimentalement. La transmission verticale, c'est à dire par les géniteurs, est probable.

Mesures prophylactiques : si le bac d'écloserie est suspecté d'être infecté, un traitement à l'hypochlorite de sodium est conseillé pour éliminer le virus.

3 – Virus de type herpès

En France depuis 1991, des mortalités anormales dont certaines massives, sont observées en écloserie, en nurserie et dans le milieu naturel sur des larves et du naissain de *Crassostrea gigas*. En Nouvelle Zélande, des mortalités très importantes ont été signalées en 1991 en écloserie. Par ailleurs, ce même type de mortalité est constaté certaines années chez l'huître plate, *Ostrea edulis*. Elles sont sporadiques pendant la période estivale.

Examen direct : des lésions sont observées sur les tissus conjonctifs de différents organes

Microscopie électronique : des particules virales ont été détectées, associées à l'apparition des mortalités. D'après la morphologie du virus, ses dimensions et sa localisation intranucléaire, il est possible de conclure à l'appartenance du virus à la famille des Herpèsviridae.

Recherches actuelles

⇒ **Purification du virus** : celle-ci a abouti en août 1995. L'absence de larves très infectées compliquait la tâche. En plus, il n'existe pas de lignées cellulaires⁽¹⁾ chez les mollusques bivalves marins, donc la culture du virus était impossible en autologue (multiplication du virus sur une lignée cellulaire du mollusque étudié). Enfin, la spécificité de l'herpèsvirus pour l'hôte rendait également impossible un modèle hétérologue (multiplication du virus sur d'autres lignées cellulaires)

⇒ **Reproduction de la maladie** en laboratoire sur des larves d'huîtres axéniques.

Pour reproduire la maladie, deux solutions se présentent. Soit le virus purifié est utilisé directement sur des larves axéniques⁽²⁾, soit les bacs d'élevage sont inoculés avec des filtrats de broyats d'animaux contaminés par le virus. Les larves axéniques sont obtenues à partir d'une ponte naturelle que l'on décontamine par des antibiotiques, ou encore par un prélèvement de gamètes effectuée sur des géniteurs, en condition stérile, suivie d'une fécondation *in vitro* et d'une mise en élevage en milieu stérile. Après introduction du virus, les larves sont examinées quotidiennement afin d'observer l'apparition de la maladie. Si le virus est présent, la maladie apparaît en 48h et les particules virales sont observables dès le 2ème jour. Ces essais de reproduction de mortalité ont été entrepris afin de déterminer si le virus détecté en microscopie électronique était bien l'agent responsable des épisodes de mortalité et quel était son pouvoir pathogène.

⇒ **Caractérisation du virus** pour une mise au point de techniques de diagnostic rapide : extraction d'ADN total, clonage de l'ADN, puis séquençage partiel de certains fragments pour fabriquer des sondes nucléiques.

(1) cellules multipliées *in vitro* en continu, à partir d'une souche de cellule connue.

(2) larve exempte de tout autre élément vivant et élevée en condition stérile

⇒ Influence de la température sur le développement du virus de type herpès

Les mortalités apparaissent toujours en période chaude ou dans les élevages réalisés en eau chaude. Les particules virales sont observées dans les lots élevés à 26–28°C, tandis qu'à 22–23°C, seules des anomalies nucléaires sont détectées. Il y aurait malgré tout un risque à réaliser des élevages à 22–23°C car les anomalies observées montrent qu'il y a peut-être infection sans expression du virus (virus en phase de latence) avec un danger masqué mais réel.

Des conditions intensives d'élevage seraient favorables à la propagation du virus. De même, l'origine des géniteurs est à vérifier dans le cas où la transmission verticale serait également en cause.

Conclusions

L'hypothèse des transmissions horizontale et verticale est donc actuellement posée. Le virus de type herpès a été trouvé en éclosion et plusieurs fois sur des lots de captage naturel. Aucun effet pathogène n'a été observé sur des animaux adultes à ce jour.

La responsabilité du virus dans les mortalités larvaires a été démontrée, cependant l'implication de ce même virus dans les phénomènes de mortalité observés chez les juvéniles reste à démontrer de façon complète et irréfutable. La purification du virus récemment réalisée a permis d'entreprendre son étude détaillée, la préparation de réactifs spécifiques et la mise au point de méthodes de diagnostic en particulier par le biais de la biologie moléculaire (technique PCR⁽¹⁾).

Crassostrea gigas, l'huître creuse, est actuellement l'huître la plus cultivée à l'échelle internationale. La commercialisation du naissain dans le monde entier et sa place exclusive dans l'élevage ostréicole sont des sujets d'inquiétude pour les chercheurs et les éleveurs. Plusieurs viroses touchent cette espèce ; elles sont relativement graves et aucun traitement n'est possible. De plus, aucune espèce d'huître n'est actuellement en mesure de remplacer celle-ci, si elle vient à disparaître.

EUCARYOTES PROTOZOAIRES

Définition : un protozoaire est un protiste, aux affinités animales. Il est constitué d'une seule cellule à noyau distinct.

La cellule contient les mêmes éléments – noyau, mitochondrie, reticulum etc.– que les êtres pluricellulaires. Elle est plus complexe que celle des bactéries . Ce sont des êtres sensibles à la lumière, la pression, les courants, les champs de pesanteur, l'électricité et cette sensibilité s'exprime par l'émission de pseudopodes. Cette fonction de relation suppose vitalité et motilité. Pour la nutrition, ils sont hétérotrophes (prélèvement dans le milieu extérieur). Le mode de nutrition conditionne leur vie : beaucoup sont libres et vivent en pleine eau ou sur le fond (amibes, foraminifères, héliozoaires, tintinnides ...), d'autres sont commensaux ou parasites et de ce fait à l'origine de maladies. La reproduction est sexuée ou se fait par division binaire.

De manière générale les protozoaires sont bien décrits, car la microscopie photonique associée aux techniques histologiques permet un diagnostic aisé. Les relations protozoaires–hôtes peuvent revêtir diverses formes. Certains ciliés vont par exemple envahir des animaux aquatiques blessés, d'autres protozoaires

(1) Polymerase Chain Reaction : réaction d'amplification du matériel génétique de l'organisme étudié

commensaux deviendront pathogènes de manière inexpiquée, enfin certains vont osciller entre parasitisme et commensalisme.

Le groupe le plus important reste celui des vrais parasites dont certains sont réellement pathogènes et constituent une menace pour la conchyliculture en terme de mortalités ou de retards de croissance. La relation entre la présence de ces organismes dans le mollusque et la mortalité est établie, cependant comme nous l'a montré le tableau 1, un phénomène de mortalité est toujours la résultante des interactions environnement-animal-protozoaire

Le tableau ci-dessous propose un récapitulatif de la classification des protozoaires susceptibles de parasiter les mollusques bivalves.

	Genre
Phylum des Sarcomastigophora Sous Embranchement des <i>Mastigophora</i> . Classe des <i>Zoomastigophorea</i> Ordre des <i>Diplomonadida</i> Sous Ordre : <i>Diplomonadina</i> Sous Embranchement des <i>Sarcodina</i> Classe des <i>Lobosea</i> (sous classe : <i>Gymnamoebia</i>) Ordre des <i>Amoebida</i> Sous Ordre : <i>Flabellina</i> Sous Ordre : <i>Acanthopodina</i> Ordre des <i>Schizopyrenida</i>	Hexamita. Flabellula. Acanthamoeba, Hartmannella. Labyrinthomorpha.
Phylum des Labyrinthomorpha Classe des <i>Labyrinthulea</i> Ordre des <i>Labyrinthulida</i>	Labyrinthula, Labyrinthuloides.
Phylum des Apicomplexa Classe des <i>Perkinsea</i> Ordre des <i>Perkinsida</i> Classe des <i>Sporozoea</i> Sous Classe des <i>Gregarinia</i> Ordre des <i>Eugregarinida</i> (sous ordre des <i>Septatina</i>) Sous Classe des <i>Coccidia</i> Ordre des <i>Eucoccidia</i> Sous Ordre des <i>Adeleina</i> Sous Ordre des <i>Eimerina</i>	Perkinsus. Porospora, Nematopsis. Klossia. Pseudoklossia, Merocystis.
Phylum des Microspora Classe des <i>Microsporeae</i> Ordre des <i>Minisporida</i> Ordre des <i>Microsporida</i>	Steinhausia. Microsporidium.
Phylum des Ascetospora Classe des <i>Stellatosporeae</i> Ordre des <i>Occlusosporida</i> Ordre des <i>Balanosporida</i>	Marteilia, Haplosporidium. Urosporidium, Bonamia, Mikrocytos.
Phylum des Ciliophora Classe des <i>Kinetofragminophorea</i> Sous Classe des <i>Hypostomatia</i> Ordre des <i>Rhynchodida</i> Sous Classe des <i>Suctoria</i> Sous Ordre des <i>Endogenina</i> Classe des <i>Oligohymenophorea</i> Sous Classe des <i>Hymenostomatia</i> Ordre des <i>Scuticociliatida</i> Sous Ordre des <i>Philasterina</i> Sous Ordre des <i>Pleuronematina</i> Sous Ordre des <i>Thigmotrichina</i> Sous Classe des <i>Peritrichia</i> Ordre des <i>Peritrichia</i> Sous Ordre des <i>Sessilina</i> Sous Ordre des <i>Mobilina</i>	Ancistrocoma, Crebricoma, Holocoma ... Endosphaera. Uronema, Conchophyllum, Thigmophrya. Peniculistoma. Ancistrum, Ancistrumina... Ellobiophyra. Urceolaria, Leiotrocha, Trichodina.

Tableau 3 – Taxinomie des protozoaires parasites des bivalves marins
 (d'après la classification proposée par LEVINE et al. 1980)

Les principaux protozoaires parasites des mollusques bivalves :

Phylum des *Sarcomastigophora*

- Genre *Hexamita*

C'est un commensal devenant parasite pathogène lorsque les conditions sont défavorables, par exemple lorsque la température est trop basse ou l'oxygène dissous trop faible (stockage en bassins) et que l'hôte est affaibli. A ce moment là, la flore bactérienne normale augmente et apporte au parasite un micro environnement anaérobie favorable à son développement.

Phylum des *Labyrinthomorpha*

- Genre *Labyrinthula* et *Labyrinthuloïdes*

Le premier protozoaire a été associé à une épizootie qui a touché l'huître américaine, *Crassostrea virginica*, sur les côtes du golfe du St Laurent, mais rien ne prouve encore actuellement qu'il a été responsable de cette maladie.

De 1915 à 1938 les stocks d'huîtres de cette région ont été fortement agressés par un agent inconnu. Les huîtres (*C. virginica*) étaient affaiblies, leur croissance s'arrêtait, la masse viscérale était amaigrie et le muscle adducteur était atonique. On a appelé cette maladie contagieuse et inconnue la maladie de Malpeque Bay. Entre 1936 et 1940, la production de cette région est devenue moribonde. A partir de 1957, des transferts d'animaux furent alors effectués en provenance des zones hébergeant des animaux ayant développé une résistance vis à vis de la maladie (Ile du Prince Edouard), permettant à l'élevage de redémarrer.

Un micro-organisme similaire avait également été décrit sur les stocks de moule (*Mytilus edulis*) de l'île du Prince Edouard et associé à des mortalités.

Actuellement la maladie de Malpeque est toujours présente à l'état endémique.

Le deuxième protozoaire a causé récemment des dommages mortels à des ormeaux dans une mariculture au Canada. Ces animaux sont très sensibles à *Labyrinthuloïdes*. Les pectinidés et les huîtres y sont insensibles, sauf en cas de lésions des tissus des huîtres (facilité de digestion des cellules par les enzymes du protozoaire).

Deux grands groupes de protozoaires ont montré une forte pathogénicité pour les mollusques. Il s'agit des Phylums des *Apicomplexa* et des *Ascetospora*.

Phylum des *Apicomplexa*

- Genre *Perkinsus*

Dans les années 1950, les huîtres (*Crassostrea virginica*) de la côte Est des USA ont subi des mortalités massives, causées par *Perkinsus marinus*. Cela a commencé par la Louisiane, suivi par le golfe du Mexique et enfin la baie de Chesapeake. Un autre représentant du genre, *Perkinsus atlanticus*, a causé des mortalités importantes en été sur les stocks de palourde européenne, *Ruditapes decussatus* au Portugal vers 1986. Le développement de ces parasites est lié à la température et à la salinité : 25°C et 12–15g NaCl/l pour *P. marinus* et 28°C et 25g NaCl/l pour *P. atlanticus*. Il y a de ce fait régulation naturelle de la population. Actuellement, le parasite *P. marinus* est toujours présent de façon endémique sur les côtes américaines.

Examen direct : des cellules biflagellées appelées zoospores sont observées. Elles pénètrent dans la cellule en perdant leurs flagelles et se retrouvent dans les branchies, les palpes labiaux, le manteau et le tube digestif où elles s'enkystent. La première cellule qui se développe est un trophozoïte qui croît, se divise et aboutit à un sporange contenant 32 ou 64 cellules filles. Lorsque le sporange s'ouvre, il libère ces cellules biflagellées qui envahissent de nouveaux hôtes. Il y a ainsi amplification de l'infection (Fig. 5).

Recherches actuelles : contrôles zoosanitaires, développement d'anticorps monoclonaux et production de sondes nucléiques.



Trophozoïte (barre : 1,55µm)
(d'après ELZERE-PAPAYANNI, 1993)



Zone d'insertion des flagelles dans le corps du trophozoïte
(d'après ELZERE-PAPAYANNI, 1993)

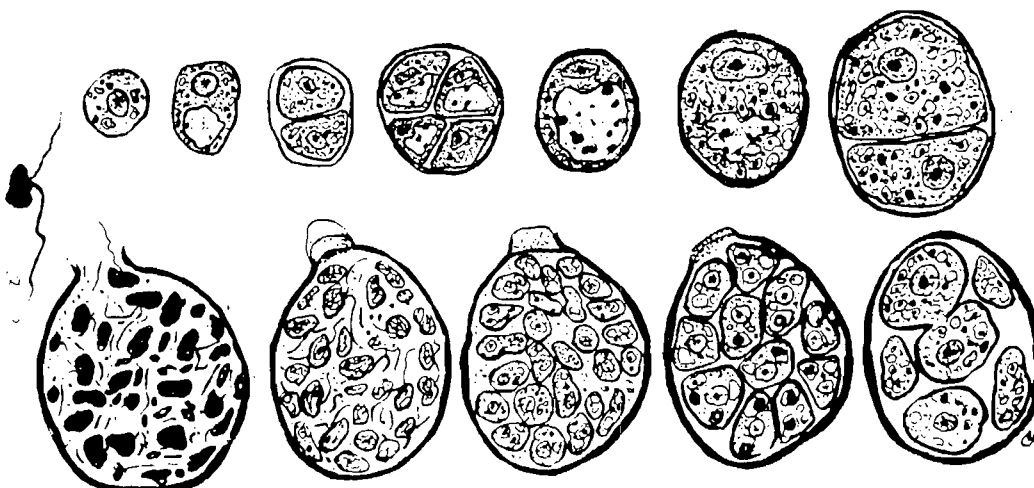


Figure. 5 - Cycle de développement de *Perkinsus atlanticus* (d'après ELZERE-PAPAYANNI, 1993)

Phylum des Ascetospora

• Genre *Haplosporidium*

Dans ce genre, il faut distinguer *Haplosporidium nelsoni* qui est l'espèce la plus importante du point de vue des mortalités qu'elle occasionne. Elle parasite l'huître américaine, *Crassostrea virginica*, et a causé des mortalités massives de la Caroline du Nord au Connecticut dans les années 60. *H. nelsoni* a été appelé aussi MSX. Ce parasite est toujours actif et occasionne régulièrement des mortalités estivales. Aucun signe clinique n'est visible, mais au fur et à mesure de l'infection, un affaiblissement des huîtres est constaté, ainsi qu'une croissance ralentie de la coquille et une contraction du manteau et de la chair.

La maladie semble réapparaître tous les 7 – 8 ans, de préférence en été quand il fait chaud et quand la salinité dépasse 10g NaCl/l.

En histologie : au début de l'infection, des cellules uni ou bi-nuclées (5µm de diamètre) localisées dans les branchies et les palpes labiaux sont observées. Ce sont les formes préplasmodiales qui se vont se multiplier. Les plasmodies obtenus pénètrent dans le tissu conjonctif de l'hôte, s'élargissent et acquièrent plusieurs noyaux (de 1 à 60). A l'état de spore le parasite est présent dans tous les tissus.

Mesures zootechniques : malgré la présence du parasite sur les sites, il a été possible de modifier les conditions de culture ; la maladie persiste néanmoins aux Etats Unis. La présence de populations résistantes issues de géniteurs ayant survécu à la maladie a permis de sélectionner des huîtres pour les utiliser comme géniteurs en écloserie.

Le deuxième parasite du genre est *Haplosporidium costale*, appelé S.S.O. à l'origine. Il a occasionné également des mortalités sur l'huître américaine, *C. virginica*, de la Virginie à l'île de Long Island. L'huître meurt affaiblie comme dans le cas du MSX.

En histologie : les premiers stades du parasite se localisent dans la glande digestive. Les plasmodies contiennent de 4 à 12 noyaux. Au printemps suivant, des formes plasmodiales sont retrouvées dans les hémocytes et les tissus connectifs. Les formes plasmodiales ne se développent qu'avec des salinités supérieures à 25g NaCl/l.

D'autres espèces du genre *Haplosporidium* ont été observées chez l'huître plate, *Ostrea edulis*.

• Genre *Marteilia*

Marteilia refringens a provoqué une grave épizootie (maladie des Abers ou maladie de la glande digestive) sur les populations d'huître plate, *O. edulis*, en France dans les années 70. Les mortalités ont commencé à Marennes et dans l'Aber Wrach puis ont gagné presque tous les centres d'élevage bretons jusqu'en 1975, aboutissant à des taux d'occupation du parasite de 70 à 100% dans la plupart des cas. La maladie s'est propagée très rapidement. Les mortalités débutent en mai et sont maximales de juin à août (température > 17°C) puis elles diminuent progressivement. Le parasite ne se développe pas dans les baies ouvertes. Les rivières, telle la rivière d'Auray, sont les plus infestées et le parasite y est présent de façon endémique. A l'époque, l'extension de la maladie a entraîné des transferts incontrôlés vers d'autres sites. Dans certains d'entre eux comme les baies de Quiberon, de St Brieuc, de Cancale et l'étang de Thau, la maladie ne s'est pas propagée, et ces baies ont servi à l'élevage de l'huître plate de 1974 à 1980. Ensuite, la maladie a entamé une phase de stabilisation puis une phase de régression.

Examen direct : à l'oeil nu la glande digestive est foncée et les tissus sont très riches en glycogène. Lorsque le parasite est présent en grande quantité, la glande digestive est jaune pâle et le manteau est transparent, la masse viscérale est visqueuse et rétrécie, l'huître est amaigrie. Cependant il est nécessaire de confirmer ce diagnostic. En général, l'hôte meurt durant l'été qui suit la contamination. Les différents stades de développement qui s'étalent sur plusieurs mois, sont localisés dans l'appareil digestif, de l'estomac au rectum. Au sein d'une cellule primaire du parasite, vont se développer plusieurs cellules secondaires (4 à 5 μm). Pendant une période de maturation, 8 à 16 cellules secondaires se formeront dans la cellule primaire. Cette dernière mesure de 7 à 35 μm . Chaque cellule secondaire se multiplie par bourgeoisement et donne naissance à 4 cellules tertiaires, le tout s'appelant le sporange. Ensuite, la cellule principale grossit et le granule réfringent qui apparaît marque la fin de la maturation. Les sporanges sont alors libérés dans le milieu par le rectum (Fig. 6).

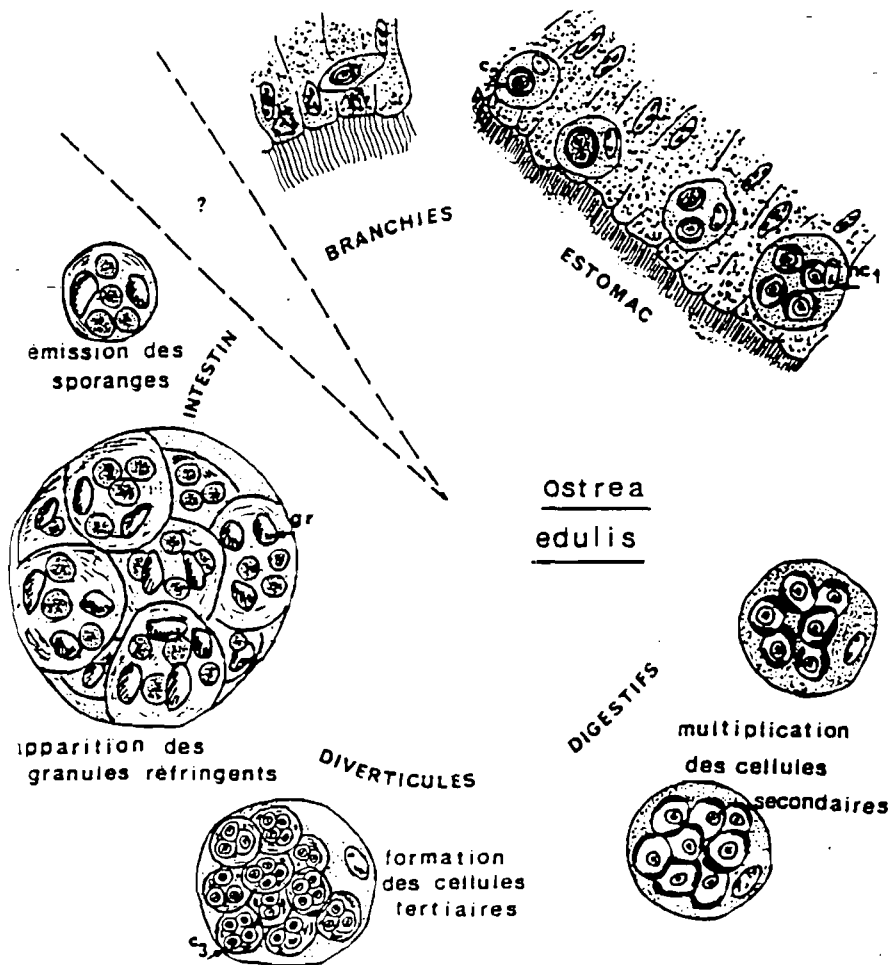


Figure 6 – Cycle de développement de *Marteilia refringens* chez *Ostrea edulis* (GRIZEL et al., 1974)

Leur devenir dans le milieu extérieur est encore inconnu. Ont-ils un hôte intermédiaire ou non ? Les spores se transforment-elles dans le milieu naturel ?

Recherches actuelles : deux axes de recherche sont explorés :

– l'étude de la taxonomie du parasite d'une part. En effet d'autres espèces de *Marteilia* ont été observées chez l'huître australienne *Saccostrea commercialis* ainsi que chez *Mytilus edulis* et *M. galloprovincialis*. D'autres espèces de bivalves sont parasités (*Cerastoderma edule*, *Scrobicularia piperata* etc...). Tous subissent des taux de mortalité très différents.

– l'étude du cycle du parasite d'autre part, du fait de la présence possible d'un hôte intermédiaire. Les essais de contamination expérimentale avec différents stades du parasite par injection de suspensions contenant des spores, n'ont pas abouti. Par contre en milieu naturel, la tentative d'infestation aboutit rapidement à des infections de l'huître plate, *Ostrea edulis*. Un système PCR est actuellement mis au point pour rechercher *Marteilia* dans des hôtes intermédiaires potentiels.

Mesures zootechniques :

L'ostréiculture en eau profonde s'est développée suite à cette épizootie : une température moins élevée, une salinité plus forte (Etang de Thau), des volumes d'eau oscillante plus importants permettant une dispersion des parasites (baie de Quiberon) *Marteilia* ne s'est pas propagé mais il semble que c'est à ce moment là que le parasite *Bonamia* a pris la relève dans ces élevages. Le rôle des paramètres environnementaux n'est toujours pas très clair et la réussite des élevages en eau profonde n'est pas totale.

De plus, du fait de ces infestations, la cohabitation des huîtres et des moules dans une même zone est déconseillée.

• Genre *Bonamia*

Le parasite *Bonamia ostreae*, responsable de la "maladie hémocytaire" été découvert dans des huîtres plates de l'île Tudy en 1979, en association à de fortes mortalités, puis sur de nombreux autres sites bretons en 1980. La plupart des zones d'élevage seront alors touchées et une année plus tard 68% des lots seront parasités. Les adultes sont sensibles au parasite tandis que les naissains le sont peu. *Bonamia ostreae* est retrouvé également en Espagne, aux Pays Bas, en Grande Bretagne, au Danemark et en Irlande. La prévalence de l'infection varie aussi d'un site à un autre. Cette maladie est terrible pour les cheptels d'huître plate. Elle aurait été introduite de Californie en France en 1979, lors de transferts de naissains.

L'infection peut se déclarer 3 à 4 mois après le contact avec le parasite. D'après les expériences conduites *in situ*, la maladie serait transmissible toute l'année. Le rôle des paramètres environnementaux est, semble-t-il, peu important. La température n'est pas un facteur prépondérant. Des infections ont même été observées à 4–5°C *in vitro* bien qu'une température estivale assez chaude accélère le processus. L'influence de la salinité n'est pas connue mais à 39g NaCl/l, le parasite est retrouvé. La susceptibilité des coquillages à *Bonamia ostreae* varie selon les genres et les espèces. Ainsi *Crassostrea gigas*, *Mytilus edulis*, *Ruditapes decussatus*, *R. philippinarum* et *Cerastoderma edule* semblent-ils insensibles. Par contre, l'huître plate de Nouvelle Zélande, *Tiostrea lutaria*, héberge des protozoaires proches du genre *Bonamia* tandis que les huîtres *Ostrea chilensis* et *O. angasi* sont sensibles à *Bonamia ostreae*.

Examen direct : le seul symptôme légèrement visible mais non constant, est l'ulcération localisée des branchies. *B. ostreae* est un protozoaire intracellulaire des cellules hémocytaires (hémolymphe) de l'huître. Il se multiplie par simple division binaire des cellules végétatives à l'intérieur des hémocytes, tandis qu'à l'extérieur des cellules se retrouvent les formes de résistance qui correspondent sans doute aux stades infectants. Les hémocytes qui sont mobiles, disséminent le parasite dans tous les tissus de l'huître : sinus, tissu conjonctif de la glande digestive, filaments branchiaux etc...et les parasites sont libérés des hémocytes par rupture des membranes cytoplasmiques. L'infection peut arriver par simple mise en contact avec des broyats d'animaux parasités.

Recherches actuelles : la purification de *Bonamia ostreae* a permis d'obtenir des anticorps monoclonaux utilisables pour un diagnostic de la maladie. *Bonamia ostreae* étant toujours présente et pathogène dans tous les bassins européens, il est important de faire de la prévention. Pour cela, en diagnostic de routine, des frottis sont effectués à partir du coeur et observés minutieusement (méthode lourde, uniquement qualitative). Pour de faibles infections, les coupes histologiques sont plus précises mais encore plus lourdes.

Mesures zootechniques et prévention : en 1981 un plan de sauvegarde a été proposé :

- interdiction de transférer des huîtres contaminées. Elle doivent être commercialisées ou mises en terre.
- arrêt momentané des élevages d'huîtres plates dans les zones fortement parasitées.
- mise en place de sites d'élevages expérimentaux en eau profonde (Cancale) et loin des côtes (Binic et Paimpol) avec des densités inférieures de plus de la moitié à celles précédemment pratiquées (5 ⇒ 2 tonnes/ha). L'absence d'infection chez les juvéniles permet de continuer à élever du naissain même dans les baies atteintes. De plus, certaines huîtres adultes paraissent résistantes à la maladie.

Les effets réels de ces mesures ne sont pas encore connus, mais de nouvelles techniques d'élevage assorties de conditions plus favorables ont été testées et les chercheurs ont maintenant une meilleure connaissance de *Bonamia*.

- Genre *Mikrocytos*

Dans le cas de *M. mackini*, l'infection est localisée dans les cellules du tissu conjonctif, dans les cellules de réserve de glycogène. Il parasite l'huître creuse, *C. gigas*, et la maladie apparaît au printemps. Les huîtres qui survivent ont des problèmes pour constituer leurs réserves en prévision de la ponte.

Dans le cas de *Mikrocytos roughleyi*, l'infection est localisée dans les hémocytes. Il parasite l'huître australienne, *Saccostrea commercialis*. La maladie apparaît en hiver.

Mikrocytos se trouve seulement dans certains tissus, ce qui le différencie de *Bonamia*

Conclusion générale sur les protozoaires

Un grand nombre de protozoaires affecte les mollusques marins. S'il est possible de les observer de façon relativement simple en microscopie photonique, il n'est pas toujours aisé de déterminer les relations protozoaire-hôte, dont les formes sont diverses et complexes. La limite entre parasitisme et commensalisme n'est pas toujours évidente.

De plus, certains d'entre eux sont extrêmement pathogènes et constituent une menace pour les professions conchylicoles. Sont reconnus comme pathogènes les protozoaires observés en même temps que les mortalités.

Le traitement des maladies à protozoaires est difficile car il ne s'agit pas de traiter des individus mais plutôt des lots d'animaux. De plus le milieu étant ouvert, il y a un risque de réinfection après traitement, sans compter les problèmes posés par les résidus de traitement.

Il est possible d'effectuer de la sélection de population en reproduisant expérimentalement la maladie. Le parasite est purifié et inoculé aux animaux, ce qui permet d'aboutir à la sélection d'animaux tolérants ou résistants. Cependant l'exploitation massive de souches sélectionnées ne sera possible qu'après obtention de plusieurs générations résistantes. Les premiers tests ont été effectués chez *Crassostrea virginica* pour réduire sa sensibilité à *Haplosporidium nelsoni* et ensuite pour la bonamiose chez *Ostrea edulis*.

B – Dépistage

En général, les maladies des coquillages prennent un caractère endémique. Pour éviter cela, il faut développer la prophylaxie en installant un réseau de surveillance et en développant des méthodes de détection des agents pathogènes.

Le problème n'est pas toujours de détecter les agents pathogènes mais de déterminer à partir de quel moment ils deviennent pathogènes. Par ailleurs des paramètres environnementaux et les caractéristiques physiologiques de l'hôte à un moment donné peuvent modifier la pathogénicité. Les infections peuvent être multiples à l'intérieur d'un même élevage.

Depuis quelques années, de nombreuses avancées ont été réalisées dans la connaissance des micro-organismes tant d'un point de vue biochimique qu'antagonique et génétique. Des protocoles de purification ont permis d'isoler par exemple :

- les cellules secondaires de *Marteilia refringens*, grâce à leur structure sporulée,
- le parasite *Bonamia ostreae*,
- le virus de type herpès

Pour le parasite *Bonamia*, les interactions hôtes–parasites ont été étudiées et une meilleure connaissance du parasitisme en découle. Ensuite ces travaux ont permis de fabriquer des anticorps mono et polyclonaux spécifiques, utilisés comme réactifs dans des dosages immunologiques. Certaines sondes sont également en cours d'élaboration pour *Bonamia* et *Perkinsus*, le virus de type herpès et *Marteilia*. Le dépistage dépend donc des méthodes de détection fiables dont on disposera, non seulement en capacité mais aussi en qualité.

C – Epidémiologie

Des études épidémiologiques sérieuses permettent de prendre des mesures diminuant l'effet des épizooties. Par exemple dans le cas de *Marteilia refringens*, dont le pouvoir infectieux est limité à l'été ($T > 17^{\circ}\text{C}$), un changement de l'époque des semis dans les zones infectées, améliore la situation.

De même, grâce à l'épidémiologie, il est possible d'observer des changements génétiques dans les populations, avec un accroissement de la résistance aux maladies chez des huîtres en contact avec la maladie.

Dans l'optique de réintroduire l'huître plate dans nos régions, d'autres huîtres plates du genre *Ostrea* (*O. chilensis*, *O. angasi*, *O. denselamellosa* et *O. puelchana*) venant de différentes parties du monde, ont été testées pour leur résistance à *Bonamia* et à *Marteilia*, sans succès malheureusement. Il faut garder à l'esprit que ces espèces étrangères peuvent héberger d'autres agents pathogènes inconnus ou non recherchés – cas de la sensibilité de *Ostrea angasi* à *Haplosporidium sp.* – qui seraient pathogènes pour ces espèces ou d'autres espèces européennes de bivalves.

La demande d'introduction d'une espèce étrangère est soumise à des règles bien précises : elle doit être déposée au CIEM⁽¹⁾ avec la justification de cette demande et les conditions d'élevage que va rencontrer l'espèce en question. Si l'avis de la commission est favorable, un lot de géniteurs est placé en quarantaine et est soumis à une série d'analyses visant à diagnostiquer une éventuelle maladie. Après levée de la quarantaine, l'obtention de juvéniles est, elle aussi, rigoureusement surveillée et des analyses sont effectuées sur les lots. Si les lots sont indemnes, la mise en élevage en milieu naturel peut se faire et les élevages sont

(1) Conseil International d'Exploration de la Mer : organisme consultatif supranational chargé de donner des avis et faire des expertises sur les problèmes liés aux ressources marines.

surveillés 1 à 2 fois par mois. Si l'essai s'avère concluant, les géniteurs sont introduits en quantité plus importante, toujours à partir des écloséries. Une surveillance zoosanitaire des nouveaux élevages est alors effectuée en routine.

Si les géniteurs sont remplacés par des larves oeillées⁽¹⁾, les eaux ayant servi à leur élevage devra être traitée avant rejet.

D – Prophylaxie et traitement

La prophylaxie doit s'appliquer sur deux plans – sanitaire et zootechnique– et en même temps être soutenue par une continuité dans les recherches, en particulier pour la sélection d'animaux résistants.

1 – D'un point de vue sanitaire, il faut réduire (ou éliminer) les risques d'introduction et de propagation des maladies. En effet l'introduction de maladies dans une zone d'élevage est favorisée par **les transferts incontrôlés de coquillages contaminés** (Fig. 7). L'apparition de *Bonamia ostrea* semble en être l'illustration. De plus, les systèmes intensifs de production de coquillages (nursérie, éclosérie) peuvent être des lieux révélateurs des maladies infectieuses, bien qu'à l'origine les agents infectieux impliqués soient issus du milieu naturel.

Lorsqu'on développe des méthodes de prévention et des traitements, il faut prendre en compte plusieurs facteurs socio-économiques : les éleveurs et leurs méthodes, le rôle des différentes administrations, la situation économique du pays concerné et le coût d'une épizootie éventuelle.

Tout d'abord, les mollusques vivent dans un milieu liquide, changeant, qu'il est très difficile de contrôler. La culture y est souvent monospécifique et intensive, la production y est quelquefois limitée par les capacités biotiques du lieu. Il y a donc beaucoup d'échanges d'une zone à l'autre et d'un pays à l'autre. En conséquence les activités d'un éleveur peuvent influencer celles des autres éleveurs.

L'apparition d'une maladie est le résultat d'un équilibre entre la **capacité de résistance d'un animal** et la virulence de plusieurs facteurs agressants. Les variations de certains paramètres de l'environnement sont quelquefois suffisantes pour affaiblir l'hôte et promouvoir le développement de l'agent pathogène. Comme il est souvent impossible d'agir en milieu ouvert, il reste à mieux connaître le pathogène et bien sûr à sélectionner des animaux plus résistants et mieux armés immunologiquement. La définition de critères immunologiques à rechercher peut aussi constituer un moyen de prophylaxie.

Un diagnostic continu doit être effectué sur les coquillages indigènes et étrangers. Les techniques d'échantillonnage et de diagnostic doivent être améliorées. Les éleveurs et les administrations doivent être informés régulièrement de l'état des cheptels.

De leur côté, les professionnels doivent être très rigoureux dans la conduite de leur élevage : nettoyage, allègement des stocks en culture, réduction des transferts, etc (Fig.7). De plus, ils doivent signaler aux autorités compétentes (Affaires Maritimes ou IFREMER) toute mortalité anormale dans leur élevage.

(1) larves possédant une tache oculaire dans le manteau. Ce stade précède la fixation de la larve.

ATTENTION !

Certaines pratiques et conditions favorisent l'apparition de maladies infectieuses.

■ SURCHARGE :

- La surcharge des parcs provoque l'amaigrissement des coquillages, amoindrit leur résistance et favorise donc la propagation des maladies.

■ TRANSFERT :

- Le transfert représente le risque majeur d'introduction d'une maladie dans un secteur indemne.
- Le stress lié au transfert affaiblit aussi le coquillage et le rend plus vulnérable à la maladie.

■ TECHNIQUES D'ÉLEVAGE :

- L'élevage à forte densité augmente les risques de propagation d'une maladie par proximité.

■ PRATIQUES D'ÉLEVAGE :

- Un mauvais entretien peut constituer un foyer infectieux (les tas de moules aux pieds des bouchots favorisent la propagation du *Mytilicola*, par exemple).
- Un parc laissé à l'abandon peut aussi constituer une menace.
- En élevage en eaux profondes un dragage trop fréquent stresse l'huître plate et favorise le développement de la *Bonamiose*.

■ ÉTAT PHYSIOLOGIQUE DU COQUILLAGE :

- La reproduction fragilise le coquillage et le rend vulnérable pendant cette période.
- Les modifications brutales du milieu diminuent sa résistance aux maladies (*fp3*, *fp8*).




Figure 7 – Fiche pratique : maladies des coquillages (DEL/QR, 1994)

2 – D'un point de vue zootecnique, si l'on considère que l'impact du stress sur la croissance des coquillages et les mortalités est établi, que certains parasites sont spécifiques d'un genre donné et enfin que certains facteurs environnementaux (salinité, température, profondeur) ont un effet sur le développement des parasites, il reste à faire le choix le plus adéquat possible de l'espèce à cultiver.

Une autre manière de réduire les risques consisterait à diversifier les cultures dans une même zone, ce qui permettrait de diminuer la compétition trophique et de mieux utiliser les zones côtières. Cependant l'arme est à double tranchant car les pathogènes présents sont susceptibles d'infecter les nouveaux élevages en place (cas de *Marteilia*)

En ce qui concerne la thérapie, il faudrait développer deux types de recherche : le développement de techniques *in vitro* pour tester des molécules et ensuite le suivi de leur application dans les écloséries. Des tests ont été effectués *in vitro* avec *Perkinsus marinus* mais n'ont pas pu être expérimentés en éclosérie.

Il faudrait un contrôle rigoureux de la réinfection et des résidus de traitement.

E – Génétique

La sélection d'animaux résistants aux agents pathogènes s'effectue également par le biais de la génétique. Plusieurs techniques sont possibles :

- croisement de deux espèces, dont l'une présente une résistance à une maladie donnée, ce qui permet d'obtenir des hybrides ayant cette propriété,

- sélection d'un gène de résistance à une pathologie et fixation de ce caractère,
- insertion dans le génome du mollusque de différents gènes codant pour des protéines intervenant dans les mécanismes de lutte contre les pathogènes.

Les chercheurs essaient actuellement d'obtenir des souches résistantes à *Haplosporidium nelsoni* sur *Crassostrea virginica* et à *Bonamia ostrea* sur *Ostrea edulis*.

F – Importance économique des épizooties

Les fermes conchylicoles sont continuellement menacées par les dangers les plus divers : orages, pollutions accidentelles, prédateurs, compétiteurs etc... Cependant, aucun de ces fléaux (sauf pollution pétrolière) n'a jamais mis en péril l'existence même de ces entreprises bien implantées en France et possédant un grand savoir-faire. Par contre, l'impact d'une épizootie est complètement différent. Dans trois pays au moins, elles ont eu des conséquences catastrophiques (Canada, USA et France) et le fait qu'elles restent endémiques maintiendront certaines entreprises à leur niveau le plus bas pendant plusieurs années.

Les pertes essuyées par la production bretonne à cause des protozoaires *Marteilia* et *Bonamia* ont été estimées à 1800 MF depuis le début, soit environ 200 MF par an auxquels s'ajoutent 1300 MF perdus par les industries et commerces associés (en comparaison, la perte occasionnée par la pollution par l'Amoco Cadiz a été estimée à 88 MF).

L'impact sur la conchyliculture peut se traduire également par :

- des contraintes supplémentaires et un risque de perte du stock pour l'exploitant,
- une méfiance du consommateur et une disparition de marchés pour la profession,

Il est donc vital pour l'économie de toute une région de trouver des solutions et de conseiller la prudence à tous les exploitants, en particulier pour les transferts de coquillages.

G – Réglementation zoosanitaire

Ce paragraphe fera office de conclusion, car il évoque de façon concrète le problème des transferts, l'une des causes majeures des épizooties. Etant donné la rapidité de propagation de certaines maladies, les pays membres de la Communauté européenne se sont réunis pour établir une législation commune.

1) Maladies à déclarer

Les parasites *Marteilia* et *Bonamia* ont été reconnus comme agents pathogènes à recherche obligatoire. Leur espèce hôte est l'huître plate, *Ostrea edulis*. Les espèces non porteuses sont *Crassostrea gigas*, les naissains de *Mytilus edulis* et *M. galloprovincialis*. Ces espèces sont donc transférables d'une zone à l'autre pour le moment.

2) Définition et maintien du statut zoosanitaire des zones

Chaque pays membre a pu proposer un plan de zonage à l'Union Européenne, des contrôles zoosanitaires effectués sur son littoral permettant de définir des zones indemnes, c'est-à-dire des zones où les deux parasites pathogènes sont absents.

La directive CEE du 28 janvier 1993 et le décret 95-100 du 26 janvier 1995 sont parus. En application, les deux maladies sont effectivement soumises à contrôle. Les transferts à l'intérieur des frontières ou dans l'Union

Européenne sont régis par la même réglementation. Ainsi, le littoral est découpé en zones qui ont des statuts différents :

- zone agréée ou indemne,
- zone non agréée ou non indemne, car présence de 1 ou 2 parasites,
- zone en cours d'agrément (deux années d'études préliminaires sont nécessaires pour classer).

Actuellement seules la Grande Bretagne, l'Irlande et la France ont proposé un plan de zonage.

Chacune des espèces est soumise à des modalités différentes selon la zone d'expédition, la zone de réception et le statut de l'espèce (espèce hôte, espèce porteuse, espèce non porteuse de la maladie). Cette Directive tient compte du fait que les coquillages sont affectés à l'élevage, au retrempage ou à l'expédition.

3) Zonation en France

Zone 1 : Corse : non indemne (à la demande des professionnels concernés).

Zone 2 : de la frontière italienne vers le petit Rhône : non indemne.

Zone 3 : du Petit Rhône vers la rive gauche de l'Aude : non indemne.

Zone 4 : de la rive droite de l'Aude vers la frontière espagnole : non indemne.

Zone 5 : de la frontière espagnole vers la rive gauche de la Gironde : non indemne.

Zone 6 : de la rive droite de la Gironde vers la rive gauche de la Sèvre : non indemne.

Zone 7 : de la rive droite de la Sèvre vers la rive gauche de la Loire : non indemne.

Zone 8 : de la rive droite de la Loire vers la rive gauche du Couesnon : non indemne.

Zone 9 : de la rive droite du Couesnon vers la rive gauche de la Seine : non indemne, à l'exception d'un gisement naturel d'huîtres plates situé sous les Iles Chausey et à l'ouest de Granville.

Zone 10 : de la rive droite de la Seine vers la frontière belge : en cours de classification.

Pour fonder ce classement, deux années de suivis analytiques sont nécessaires dans chaque zone, à raison de

⇒ pour *Marteilia* : 1 prélèvement par an, effectué en trois points distincts (3 fois 150 animaux).

⇒ pour *Bonamia* : deux prélèvements par an en trois points distincts (3 fois 150 animaux).

Les zones classées non agréées sont ensuite régulièrement suivies de la même façon, avec la même fréquence, mais avec 30 individus seulement.

A ce jour, les autres pays de la CEE qui n'ont pas proposé de plan de zonage, ont un littoral considéré comme non agréé et les transferts d'huîtres plates et autres coquillages peuvent s'effectuer vers ces pays sans aucun document.

4) – Dispositions générales

Elles concernent les échanges français et européens. Elles concernent les professionnels et les administrations compétentes.

- Registres.

Tous les échanges doivent être enregistrés par l'exploitant : espèce, poids ou nombre, origine, âge. La destination est également notée. Les mortalités anormales sont signalées aux autorités. Ceci est très important pour mener des enquêtes épidémiologiques et circonscrire la propagation d'éventuelles maladies.

- Déclaration d'entrée des coquillages.

Ceci doit être systématiquement fait à l'autorité compétente (depuis la Directive de 11 décembre 1989).

- Déclaration de sortie des coquillages.

Le pays exportateur doit donner au pays importateur des informations sur les coquillages transférés (espèce, origine, quantité, zone de destination) et ceci 48h avant le départ.

- Certificats.

Des certificats de transport sont établis.

- Transferts pour l'élevage, transferts pour le retrempeage pour la consommation, écloséries, nurseries

Les modalités de transfert évoquées ci-dessus sont décrites en détail dans le rapport IFREMER de H. Grizel "Mémento pratique à l'attention des courtiers, expéditeurs et éleveurs sur les modalités de transfert des coquillages entre les pays ou au sein d'un pays de l'Union Européenne et avec les pays tiers".

Liste des ouvrages et publications consultés pour la rédaction de ce rapport

- CATHERINE M., BLATEAU D., MAZURIE J., et LE BEC C. (1990). Anomalies de coquilles d'huître creuse, *Crassostrea gigas*, observées sur le littoral français en mai-juin 1989 dues au ver *Polydora* et aux peintures antisalissures. Rapports internes de la DRV, 106p.
- COMPS M. (1988). Epizootic diseases of oysters associated with viral infections. Am. Fish. Soc. Special Publication 18 : 23-37.
- DAVEY J.T. and GEE J.M. 1988. *Mytilicola intestinalis* a copepod parasite of blue mussels. Amer. Fish. Soc. Special Publication 18, 64-73.
- DEL/QM (1994). Fiche pratique n° 9. Maladies des coquillages. Maladies infectieuses : réalités, recommandations, préventions. IFREMER Nantes.
- ELZERE-PAPAYANNI P. (1993). Evolution des connaissances sur la pathologie des coquillages. Dans : "Coquillages". Ed. Informations Techniques des Services Vétérinaires Français. p. 147-188.
- GRIZEL H., BONAMI J.R., COUSSERANS F., DUTHOIT J.L., LE PENNEC M.A., MOREL M. et TIGE G. (1974). Epizootie de l'huître plate. Recherches sur l'agent de la maladie de la glande digestive de *Ostrea edulis* Linne et étude histochimique. Science et Pêche 240-241, 7-40.
- GRIZEL H. (1985). Etude des récentes épizooties de l'huître plate *Ostrea edulis* LINNE et de leur impact sur l'ostréiculture bretonne. Thèse Doctorat d'Etat. Académie du Languedoc : 145p
- GRIZEL H., BACHERE E., MIALHE E. and TIGE G. (1986). Solving parasite related problems in cultured molluscs. In: Howell M.J. Ed. Parasitology- Quo vadit ? Proceedings of the 6th Intern. Congress of Parasitology, Brisbane. pp. 301-308.
- GRIZEL H. (1991). Diseases of molluscs. In : Report on a regional study and workshop on fish disease and fish health management. Fish health management in Asia-Pacific.
- GRIZEL H. (1993). Transferts de coquillages : problèmes, situation actuelle. Dans : "Coquillages". Ed. Informations Techniques des Services Vétérinaires Français. p. 189-191.
- GRIZEL H. (1995). "Mémento pratique à l'attention des courtiers, expéditeurs et éleveurs sur les modalités de transfert des coquillages entre les pays ou au sein d'un pays de l'Union Européenne et avec les pays tiers". Rapport DRV/RA La Tremblade. 16p. + annexes.
- LE DEUFF R.M. (1993). Contribution à l'étude de virus de mollusques marins : iridovirus like et herpes virus like. Description et caractérisation biochimique, cycle de multiplication viral, diagnostic et étude épidémiologique. Rapport annuel de thèse, 44p.
- LE DEUFF R.M. (1995). Contribution à l'étude de virus de mollusques marins apparentés aux Iridoviridae et aux Herpesviridae. Thèse Doctorat de l'Université de Bordeaux II. n° 389, Mention Sciences Biologiques et Médicales - Option Biologie-Santé. 234p.

