

SUR UNE AFFECTION PARASITAIRE DE LA GLANDE DIGESTIVE DE L'HUITRE PLATE, *OSTREA EDULIS* LINNE

par Bernadette HERRBACH

Introduction.

Au cours de l'été 1968, une mortalité anormale frappa les huîtres plates, *O. edulis*, élevées dans la partie amont de l'Aber Wrach, riva de la côte nord de la Bretagne. Pendant l'automne, le phénomène allait en s'amplifiant et gagnait *progressivement* les divers secteurs de l'estuaire jusqu'à son embouchure. Les pertes atteignirent et dépassèrent souvent la moitié du stock d'huîtres de tous âges qui y étaient parquées. Les mollusques survivants, qu'ils aient été laissés en place ou transférés

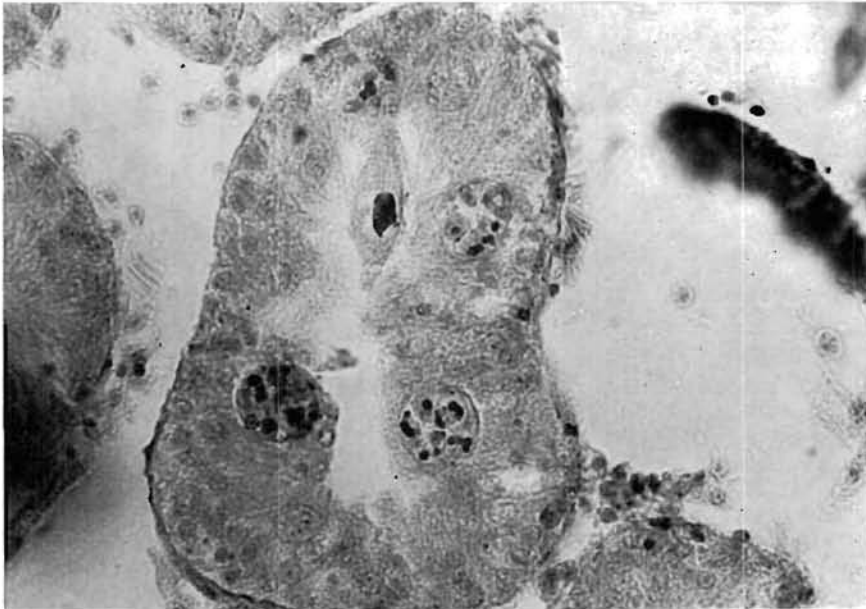


FIG. 1. — Coupe d'un diverticule digestif montrant les parasites en place : cilié dans la lumière et organismes sphériques intracellulaires ; Azan (Gr. x 650).

dans d'autres régions ostréicoles, présentaient un aspect déficient caractérisé par une absence de croissance, la pâleur de la glande digestive et un amaigrissement souvent très marqué. Chez les sujets les plus affaiblis, on retrouvait fréquemment le flagellé parasite *Hexamita* sp.

En janvier 1969, on observait, sur les branchies de quelques huîtres, des altérations analogues à celles qui ont été signalées chez *C. angulata*. Un essai de culture sur milieu au thioglycolate tenté par GRAS lui permettait de retrouver des formes s'apparentant à celles de *L. marina* (= *Dermocystidium marinum*) (GRAS, 1969 ; GRAS et HERRBACH, 1971 ; ALDERMAN et GRAS, 1969). De leur

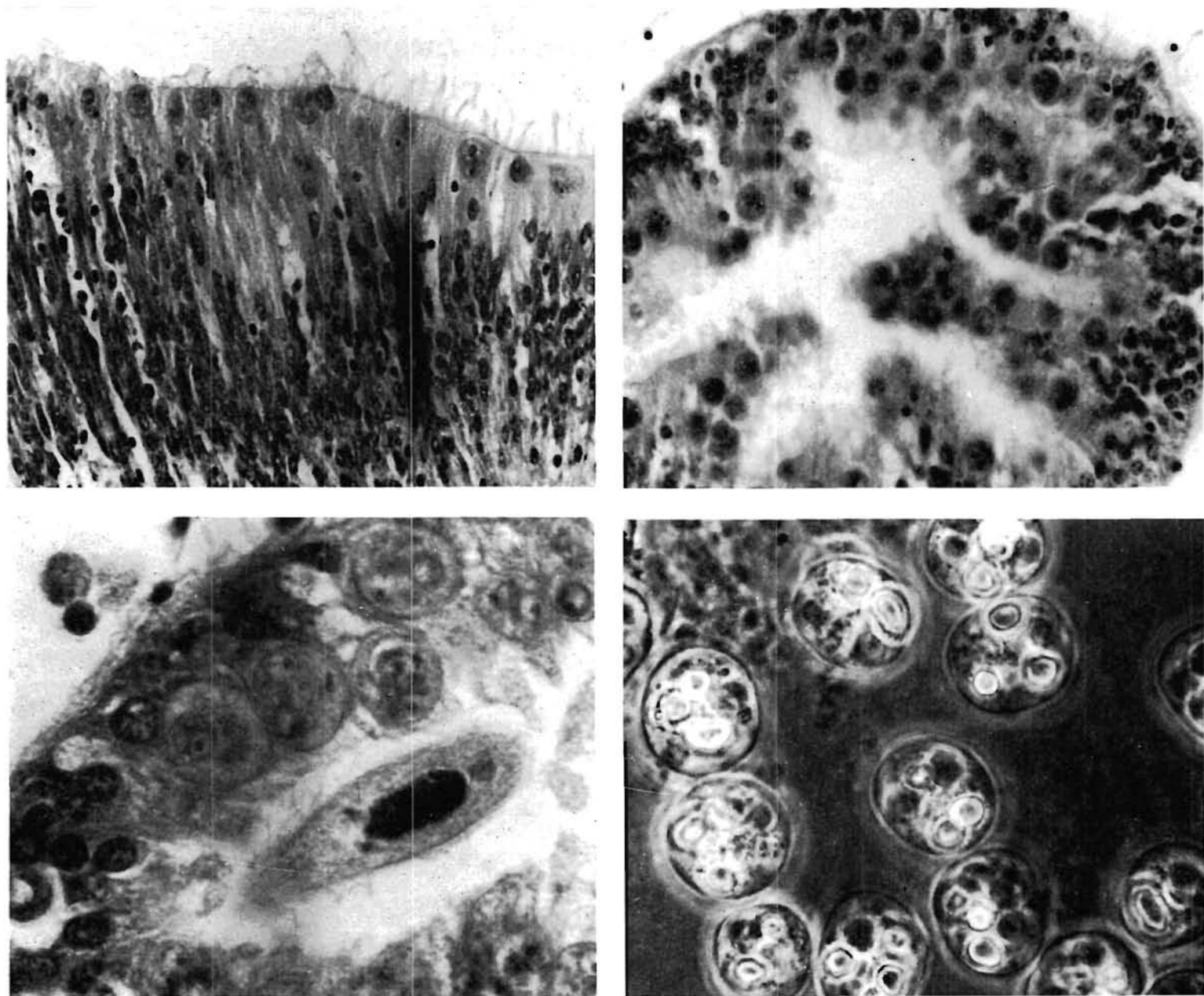


FIG. 2 à 5. — En haut, à gauche : coupe de l'épithélium stomacal mettant en évidence sous la bordure ciliée les « éléments sphériques » de type I (Hémalum-éosine) (Gr. x 650), à droite : coupe d'un conduit principal de la glande digestive montrant l'envahissement de son épithélium cilié par les « éléments sphériques » de type I (Hématoxyline-éosine) (Gr. x 650) ; en bas à gauche : coupe au niveau de l'épithélium d'un diverticule digestif montrant les « éléments sphériques » de type II, multinucléés, intracellulaires, et un cilié dans la lumière digestive (Hématoxyline-éosine) (Gr. x 1250), à droite : dilacération sur le frais de la masse digestive d'huître malade montrant les « structures sphériques » avec leurs granules très réfringents (Gr. x 1250) (contraste de phase).

côté, FRANC et ARVY (1970) étudiant un lot d'huîtres de même origine, y découvraient sur le manteau d'un seul individu une colonie d'un organisme étroitement apparenté, sinon semblable, à *T. polymorpha*, décrit par eux comme responsable de la maladie des branchies chez *C. angulata*. Toutefois, les auteurs n'établissaient aucun lien entre la mortalité constatée et la présence de ces organismes. Au surplus, la fréquence des altérations branchiales restait faible, et les causes de la mortalité étaient plutôt recherchées au début, soit dans une « pollution » imputée aux travaux de dévasage effectués au cours de l'été 1968 dans le port de l'Aber Wrach, soit dans une modification des conditions physico-chimiques survenue au moment de la reproduction qui se poursuivait, en effet, tardivement.

C'est en juin 1969 que nous avons pu commencer l'étude histologique des échantillons fixés précédemment, et de ceux qui furent récoltés ultérieurement soit dans l'Aber Wrach lui-même, soit dans l'Aber Benoit qui en est voisin, soit encore en rade de Brest où des lots d'huîtres avaient été transportés. En outre, à l'occasion de nouvelles mortalités survenues en 1970 dans les Abers et en d'autres secteurs français, notamment à Arcachon et dans le nord-ouest de l'Espagne, il nous était donné d'étudier un matériel important et de procéder à d'utiles comparaisons. Ces travaux nous ont permis de déceler la présence de parasites dans la glande digestive des huîtres malades, organismes sphériques particuliers et accessoirement des ciliés (fig. 1).

Méthodes d'étude.

a) Examen sur le frais.

Les huîtres malades se caractérisent par une absence de croissance, elles sont très maigres voire « glaireuses ». Leur masse viscérale est extrêmement réduite. Leur manteau est dépourvu de glycogène, il laisse voir par transparence les diverticules de la glande digestive qui, anormalement décolorée, est jaune-pâle. Leur misère physiologique, dans les cas extrêmes, les réduit à un glaire ; elle annonce leur mort à très bref délai.

La dilacération sur le frais de la masse digestive de ces huîtres permet de mettre directement en évidence les organismes sphériques parasites ainsi que les ciliés qui les accompagnent très souvent. Ils sont tous deux facilement reconnaissables sur de simples préparations obtenues en écrasant des fragments de masse digestive dans un peu d'eau de mer, entre lame et lamelle, et observées au microscope ordinaire ou mieux au contraste de phase. Nous avons également utilisé comme colorants, le vert-janus B, l'éosine, la thionine-phéniquée, le bleu de méthyle. Pour la mise en évidence du noyau des ciliés, le vert de méthyle acétique donne d'excellents résultats tout comme le rouge neutre qui, pour cette étude, s'est révélé un excellent colorant nucléaire.

b) Examen des coupes histologiques.

La masse digestive des huîtres est découpée sagittalement en tranches de 3 mm d'épaisseur. Les pièces sont fixées au Zenker et surtout au Bouin. Plusieurs méthodes de coloration sont employées, apportant chacune des précisions sur la structure de ces organismes : Hémalum-éosine, Hématoxyline-éosine de Harris, Azan de Heidenhain, A.P.S., Feulgen et Rossenbeck.

Organisation des parasites observés.

a) Organismes sphériques.

Nous distinguons parmi eux, des *éléments sphériques* simples, de petite taille, et des *structures sphériques* plus organisées et plus grosses.

Les éléments sphériques. Ce sont des formations plus ou moins sphéroïdes ; les plus petites (de type I) atteignent 7 à 10 μ de diamètre et ne présentent qu'un seul noyau de 3,5 à 4 μ . Ils sont particulièrement bien visibles et abondants dans les épithéliums ciliés de l'appareil digestif : estomac et conduits principaux des diverticules digestifs (fig. 2 et 3). Les plus gros (de type II) ont un diamètre qui varie entre 14 et 21 μ (fig. 4). Ils possèdent alors plusieurs noyaux bien visibles avec nucléole légèrement excentré. Ils sont localisés dans l'épithélium des diverticules digestifs. La taille de ces plasmodes variant proportionnellement au nombre de leurs noyaux, ils semblent bien provenir de la division du noyau primaire contenu dans les petits éléments (de type I).

Les structures sphériques. Ce sont de grosses formations sphéroïdes de 18 à 34 microns de diamètre ; sur le frais, elles sont aisément remarquables par les corpuscules réfringents qu'elles contiennent (fig. 5). Ceux-ci sont de couleur jaune-vert, de forme généralement arrondie mais parfois boudinés par une légère constriction. Leur taille varie entre 3 à 5,5 μ et leur nombre entre 2 et 6,

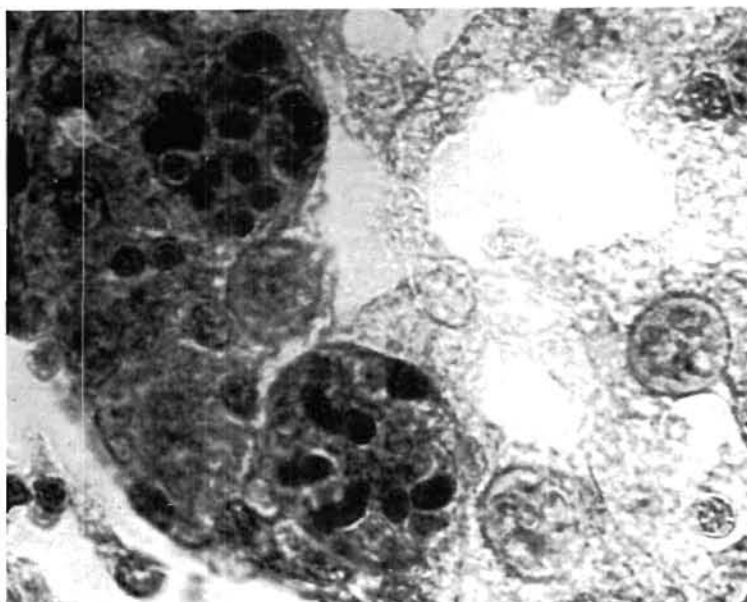


FIG. 6. — Coupe au niveau d'un diverticule digestif montrant deux « structures sphériques » intracellulaires, en voie de maturation, et trois petits « éléments sphériques » de type II ; Azan (Gr. x 1000).

parfois plus, selon l'importance et la maturation de la structure. Ces granules, ainsi que les quelques microgranulations réfringentes qui les accompagnent, présentent une grande affinité tinctoriale pour tous les colorants utilisés, mais se révèlent toutefois Feulgen négatif et A.P.S. négatif (fig. 6). Ils

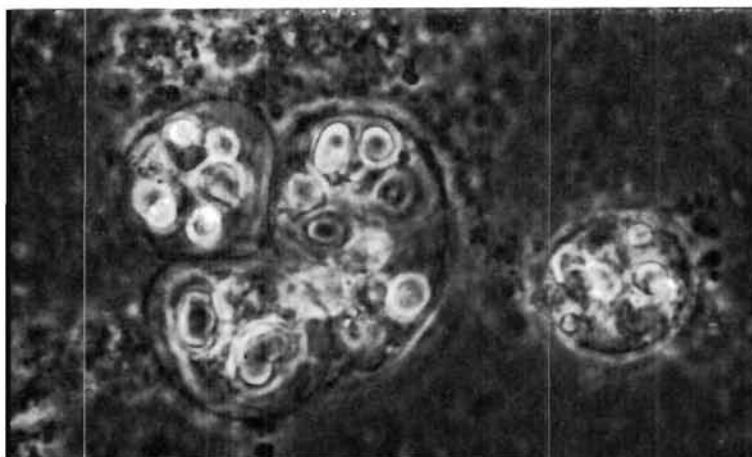


FIG. 7. — Dilacération sur le frais de la masse digestive d'huître malade montrant une « structure sphérique » en début de segmentation (Gr. x 1250) (contraste de phase).

sont si abondants qu'ils cachent en partie les noyaux des structures et envahissent, à eux seuls, tout leur cytoplasme qui, dépourvu d'autres inclusions, est remarquablement clair et brillant sur le frais. Ces structures, délimitées par une paroi résistante d'une épaisseur de 0,7 μ , subissent des changements lors de leur maturation. Elles grossissent, s'allongent, se compriment latéralement pour se

diviser une première fois transversalement puis, par des clivages successifs, aboutissent à des sortes de « sporanges » (fig. 7). Les plus mûres, et les plus grosses de ces formations « sporangiales », présentent une segmentation très nette en 8 ou 10 unités plus ou moins polygonales de 7 μ de diamètre environ, et englobant chacune 2 à 3 granules réfringents (fig. 8, 9 et 10). Ces « sporanges »,

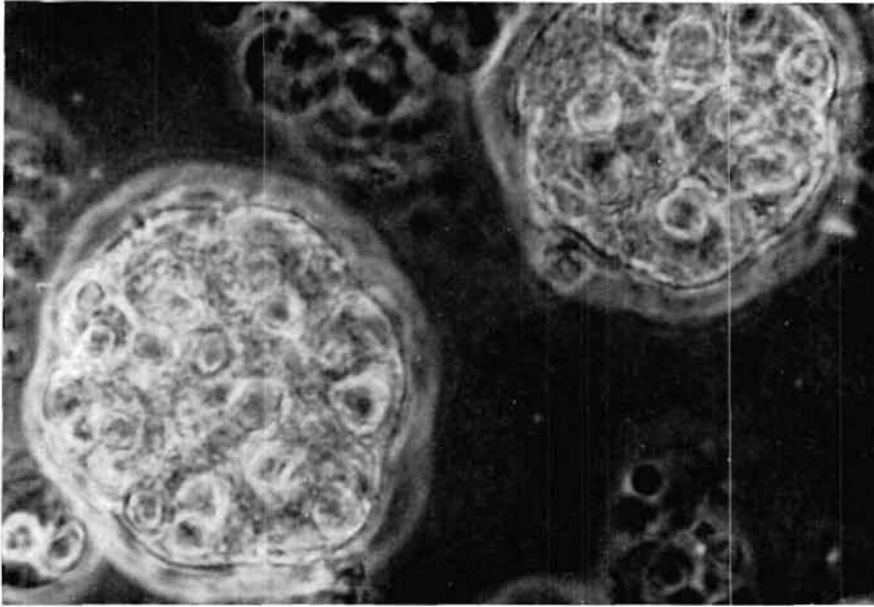


FIG. 8. — Dilacération sur le frais de la masse digestive d'huitre malade montrant deux « structures sphériques » mûres ou « sporanges » (Gr. x 1250) (contraste de phase).



FIG. 9. — Coupe au niveau de l'épithélium d'un diverticule digestif montrant une « structure sphérique » mûre ou « sporange », où la segmentation en unités plus ou moins polygonales est bien visible ; Azan (Gr. x 1000).

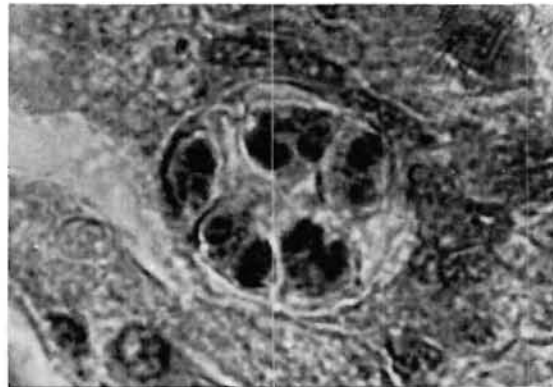


FIG. 10. — Coupe d'une autre « structure sphérique » ou « sporange » montrant également une segmentation en unités plus ou moins polygonales comprenant chacune deux granules réfringents ; Azan (Gr. x 1000).

tout comme les structures sphériques dont ils dérivent, se développent à l'intérieur des cellules épithéliales des diverticules de la glande digestive, et n'ont jamais été rencontrés qu'à ce niveau du tractus digestif. A maturité, les « sporanges » éclatent et libèrent leurs unités structurales dans la lumière des diverticules (fig. 11).

b) *Ciliés.*

On les rencontre chez 25 % des huîtres infestées par les organismes sphériques. Il s'agit toujours de la même espèce. Ils sont présents dans l'estomac et dans la lumière des conduits et des diverticules de la glande digestive. Ils peuvent être si nombreux qu'ils en obstruent parfois la lumière (fig. 12).

Ils ont un corps ovoïde très allongé, à bout antérieur aigu et bout postérieur arrondi, avec une très légère inflexion ventrale de tout le corps. Ils mesurent de 27 à 50 μ de long et leur diamètre varie entre 12 et 15 μ . Leur ciliature générale est presque complète, elle n'atteint cependant pas l'extrémité postérieure du corps qui est glabre. Des coupes transversales du cilié ont permis de dénombrer 12 à 13 cinéties (fig. 13).

Ils sont astomes mais possèdent un tentacule suctorial antérieur rétractile prolongé par un canal conduisant au cytoplasme. C'est par ce suçoir qui, à l'état de rétraction apparaît comme un petit bouton, que les ciliés se fixent à l'épithélium digestif de leur hôte. Lorsqu'ils s'en détachent, ils nagent le pôle aigu en avant et progressent lentement en tournoyant (fig. 14).

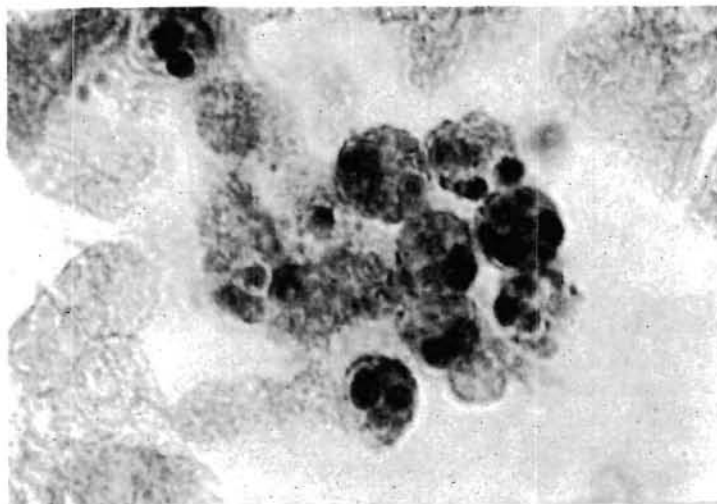


FIG. 11. — Coupe au niveau d'un diverticule digestif montrant dans la lumière les unités sporangiales libérées à partir du « sporange » ; Azan (Gr. x 1250).

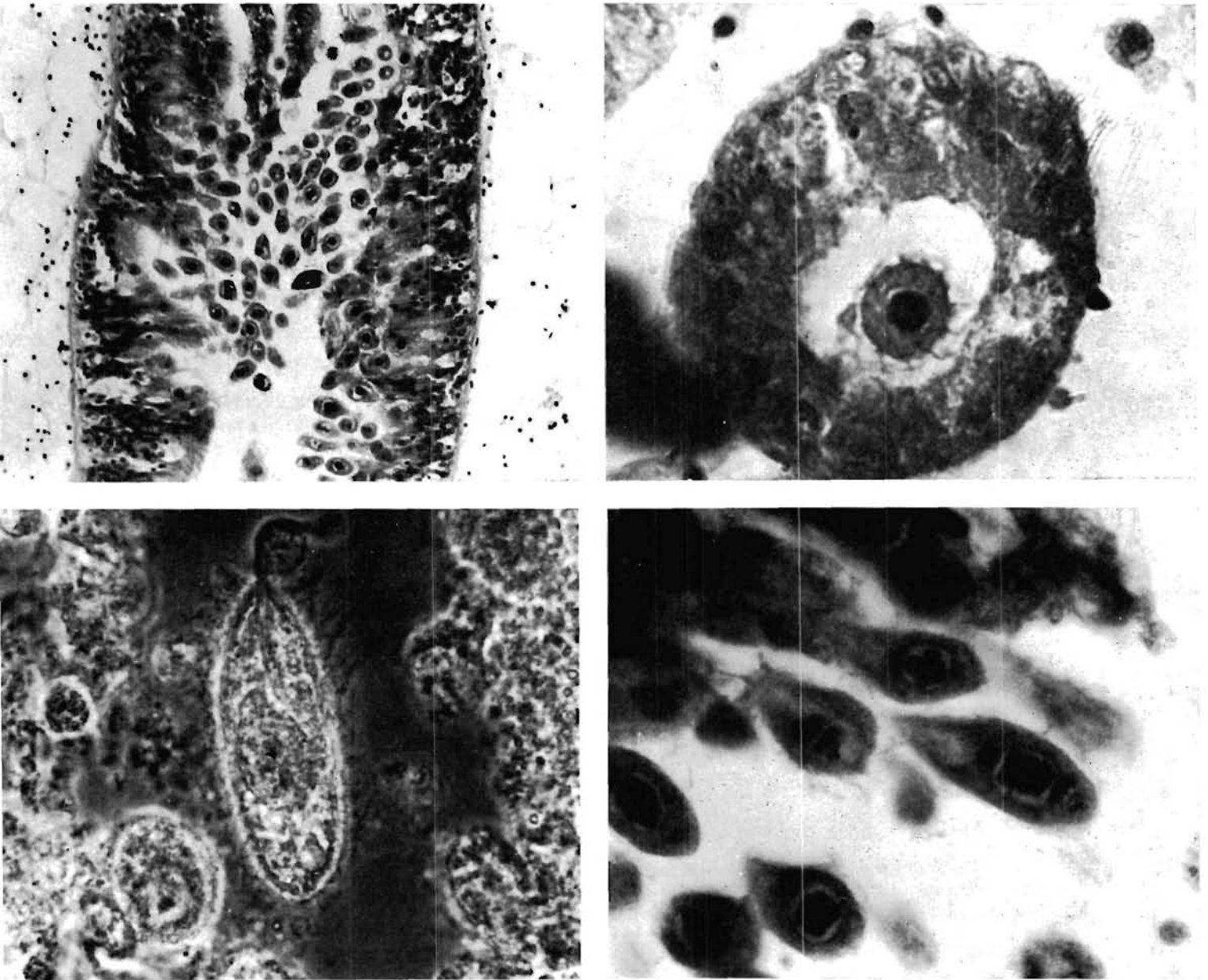
Leur macronucleus est bien visible, finement granuleux, il est généralement sphérique ou subcylindrique, avec un diamètre de 10 à 11 μ ; mais la chromatine peut y être parfois rassemblée en des granules très individualisés plus ou moins gros. On observe, en effet, des individus à plus de 60 grains de 1 μ , d'autres, à plus de 15 grains, de 1,5 μ , et même un individu à 4 grains de chromatine de 2,15 μ de diamètre environ (fig. 15).

Le cytoplasme, pauvre en inclusions, est chargé de quelques rares vacuoles digestives, petites et localisées surtout dans la partie postérieure du corps. Leur division ne présente rien de remarquable, elle s'effectue par scission équatoriale de l'individu.

Caractéristiques de l'affection.

Cette affection présente quelques caractères particuliers, en-dehors des symptômes externes décrits plus haut et qui ne lui sont pas forcément spécifiques.

L'infestation est remarquable et la localisation des organismes parasites est très précise. De toute l'huître seule la glande digestive est affectée, les parasites n'envahissant pas les autres revêtements épithéliaux, semble-t-il. De plus, de tout le tractus digestif, seul l'épithélium intestinal est épargné, aucun des organismes parasites décrits n'y ayant jamais été rencontrés. Parmi ces organismes, les structures « sporangiales » ont elles-mêmes une localisation bien précise puisqu'on



G. 12 à 15. — En haut, à gauche : coupe au niveau d'un conduit principal de la glande digestive montrant l'abondance des ciliés dans la lumière (Hémalun-éosine) (Gr. x 180), à droite : coupe d'un diverticule digestif ; dans la lumière digestive on peut voir la section transversale d'un cilié où les 13 cinéties sont bien visibles (A.P.S.) (Gr. x 1250) ; en bas, à gauche : cilié avec son appareil suctorial dévaginé, observation sur le frais (Gr. x 1250), à droite : coupe montrant des ciliés fixés à l'épithélium stomacal ; on peut remarquer un individu à noyau formé de 4 grains de chromatine (Hémalun-éosine) (Gr. x 1250).

ne les rencontre que dans les cellules épithéliales des diverticules de la glande digestive. L'épithélium stomacal, celui des conduits secondaires de la glande digestive n'en renferment point, alors qu'ils sont largement envahis par les « éléments sphériques », ce qui nous laisserait supposer que des conditions biochimiques très particulières (pH ou Enzymes), réalisées seulement à ce niveau de la glande digestive, conviendraient à leur développement. La maturation des « sporanges » se fait donc à l'intérieur même des cellules digestives ; on comprendra mieux ainsi que les mécanismes de digestion intracellulaire, perturbés par la présence du parasite, soient cause de l'état de dénutrition des huîtres malades.

En revanche, on ne remarque pas de congestion du conjonctif autour du tractus digestif, pas d'infiltration massive de celui-ci par les hémocytes hyalins, toutes manifestations que l'on considère comme une réponse normale de l'hôte à toute infestation (AUSTIN FARLEY, 1968).

Si l'on ajoute d'autre part que cette affection semble irrémédiable, on ne fera qu'accuser sa gravité. Les quelques expériences de repiquage d'huîtres atteintes, en des endroits fort éloignés où la maladie ne sévissait pas, nous permirent de constater l'inutilité de cette tentative et la mort de toutes les huîtres à plus ou moins bref délai.

Discussion et remarques.

a) Nature des parasites.

En ce qui concerne les « organismes sphériques », nous n'avons pas de certitude quant à leur nature. Ils semblent n'avoir jamais été décrits chez les huîtres. Le laboratoire d'Oxford, Maryland (U.S.A.), spécialiste en pathologie des mollusques, à qui nous avons expédié des préparations histologiques, n'a pu les identifier, mais, comme nous, il songerait à un champignon marin primitif. L'absence de mycélium, le parasitisme intracellulaire strict, l'unique structure reproductrice, nous conduisent vers les *chytridiales*, mais sans certitude. Ces champignons marins sont des parasites fréquents d'algues mortes ou moribondes, les huîtres vivant dans leur entourage, pourraient constituer un réservoir infectieux.

Pour les ciliés, nous pouvons affirmer que ce sont des ciliés holotriches, thigmotriches, appartenant à la famille des *Ancistrocomidés* ; mais nous ne pouvons déterminer à coup sûr leur genre, peut-être *Ancistrocoma pelseneeri* (CHATTON et LWOFF, 1926, 1949, 1959 ; CHENG, 1967). Il serait en effet nécessaire de pratiquer des imprégnations argentiques ou au protargol pour mettre en évidence leur infraciliature et déterminer, à l'aide d'une clé dichotomique, le genre exact. Ce cilié est rare chez les huîtres saines, il est fréquent chez les huîtres malades ou déficientes. Utilisant les cellules de l'hôte comme nourriture, il peut être considéré comme un ectoparasite. Ses effets sont, sans aucun doute, bien moindres que ceux des « organismes sphériques », mais il peut les accuser. Il semble donc être un facteur de complication dans cette affection parasitaire tout comme l'avait déjà remarqué MACKIN en 1962 dans les affections par *Dermocystidium marinum*.

b) Evolution de la maladie.

Depuis deux ans que nous suivons cette maladie des huîtres plates dans les Abers, nous avons pu remarquer qu'un certain délai était nécessaire à leur infection. Il faut en effet que les huîtres passent une année dans ces eaux et plus particulièrement un hiver. Des huîtres semées au printemps de 1970 ne se montrent point encore infestées en septembre, mais une contamination entre elles est probable.

Il y a de plus différents degrés dans cette affection ; au début, seuls quelques diverticules digestifs sont envahis par les parasites puis, ceux-ci en se multipliant à l'intérieur de l'hôte, finissent par gagner de proche en proche tous les diverticules de la glande digestive ; la lumière digestive est alors complètement obstruée par les organismes parasites et par des débris cellulaires nécrotiques.

Cette maladie, d'autre part, ne semble plus limitée aux Abers puisque nous avons pu l'observer cette année dans le bassin d'Arcachon, ainsi que sur des huîtres arcachonnaises exportées en Espagne. Ces secteurs sont si éloignés les uns des autres qu'ils laissent prévoir une large propagation de la maladie.

Toutefois, il semble qu'il y ait une certaine spécificité parasitaire, puisque ces organismes n'ont été rencontrés, jusqu'à ce jour, que chez les huîtres plates, et ne semblent pas infester les huîtres portugaises qui, pourtant, sont élevées dans les mêmes secteurs. Cette spécificité dépendrait donc davantage des relations phylogéniques de l'hôte que d'une ségrégation écologique. Par ailleurs, toutes les mortalités d'huîtres plates constatées ici ou là ne leur sont pas imputables. C'est ainsi qu'au Belon, où des mortalités répétées se sont produites, nous n'avons jamais retrouvé ces organismes sphériques, mais par contre, nous avons noté la présence des ciliés.

Conclusion.

Si l'état actuel de nos recherches ne nous permet pas d'identifier l'organisme pathogène, les études et les expériences en cours nous permettront peut-être d'approfondir ces premières observations.

La culture des tissus infestés pourrait, notamment, nous dévoiler mieux que les coupes, les modalités et la chronologie de cette infestation, et préciser le cycle évolutif de ces organismes.

BIBLIOGRAPHIE

- ALDERMAN (D.J.) et GRAS (P.), 1969. — « Gill disease » of portuguese oysters. — *Nature*, Londres, **224**, N° 5 219, Nov. 8 : 616-617.
- AUSTIN FARLEY (C.), 1968. — *Minchinia nelsoni* (Haplosporida). Disease syndrome in the american oysters *Crassostrea virginica*. — *J. Protozool.*, **15** (3) : 585-599.
- CHATTON (E.) et LWOFF (A.), 1926. — Diagnoses de ciliés thigmotriches nouveaux. — *Bull. Soc. zool. France*, **51** : 345-352.
- 1949. — Recherches sur les ciliés thigmotriches. *Arch. Zool. exp. gén.* **86** : 169-253.
- 1959. — Recherches sur les ciliés thigmotriches. *Ibid.* **86** : 393-485.
- CHENG (Th. C.), 1967. — Marine molluscs as hosts for symbioses. *Advances in Marine Biology*. Londres, Sir Frederik S. Russel, **5** : 191-193.
- FRANC (A.) et ARVY (L.), 1970. — Données sur l'évolution de la « maladie des branchies » chez les huîtres et sur son agent causal : *Thanatostrea polymorpha* FRANC et ARVY, 1969. — *Bull. Biol.* **104** (1) 1^{er} trim.
- GRAS (P.), 1969. — Recherches sur l'organisme responsable de la « maladie des branchies ». — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **33** (2) : 161-164.
- GRAS (P.) et HERRBACH (B.), 1971. — Etude sur les affections branchiales de l'huître plate *Ostrea edulis* (LINNE). — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, sous presse.
- MACKIN (J.G.), 1962. — Oyster disease caused by *Dermocystidium marinum* and other microorganisms in Louisiana. *Publ. Inst. mar. sci. Univ. Tex.* **7** : 132-229.
-