



LES MALADIES DES MOLLUSQUES: ETIOLOGIE ET PROGRES RECENTS DES RECHERCHES

Henri Grizel

Laboratoire de pathologie génétique des Invertébrés marins
IFREMER, B.P. 133, 17390 La Tremblade

Mots-clés : Mollusques, pathologie, agents pathogènes

Key words : Molluscs, pathologie, pathogens

Résumé

Les recherches en pathologie des Mollusques ont permis de décrire, depuis 1956, des agents pathogènes appartenant aux grands groupes systématiques. Un récapitulatif des principaux micro-organismes et Protozoaires est donné ici, qui montre également l'incidence des épizooties sur la production. Par ailleurs, sont mentionnés les résultats des recherches récentes pour les mollusques marins et quelques-unes de leurs applications, en particulier la purification d'agents pathogènes.

Summary

Mollusc pathology: etiology and recent progress of research

Recent research in mollusc pathology has enabled different pathogens of the large systematic groups to be described. The main microorganisms and Protozoans are enumerated showing the economic incidence of the diseases on mollusc production. We also mention recent results obtained in the laboratory for different purified organisms. Finally, we review advances in cell culture giving an example of the application of these techniques in experimental pathogenesis.

INTRODUCTION

Chez les mollusques marins, la pathologie est relativement récente, car elle s'est développée à partir de 1955, alors qu'une épizootie affectait l'hôte creuse américaine, *Crassostrea virginica*. Des séries de travaux ont permis, depuis, de décrire et d'identifier de nombreux agents pathogènes et d'acquérir des données en épidémiologie. Parallèlement, des recherches ont été entreprises sur l'anatomie et en immunologie. Plus récemment, la mise au point de techniques de purification de certains Protozoaires et Procaryotes, parasites d'huîtres, permet d'envisager une progression des connaissances sur les relations hôte-agent pathogène et sur les mécanismes qui les régissent, en particulier par la mise au point de modèles en pathologie expérimentale.

1. LES AGENTS PATHOGENES

Tous les grands groupes d'agents pathogènes sont décrits chez les Mollusques.

1.1. Les virus

Le tableau 1, qui récapitule différents cas de virose signalés chez

les mollusques, montre que la majorité des familles de virus connues chez les Invertébrés sont représentées. Cependant, dans le milieu naturel, très peu de virus ont été associés à d'importantes mortalités dans les élevages ou les gisements.

FAMILLE DE VIRUS	NOTE
Papovaviridae	: <i>C. gigas</i> , <i>C. commercialis</i>
	: <i>Q. edulis</i> , <i>Q. lurida</i>
Herpetoviridae	: <i>Q. edulis</i> , <i>C. virginica</i>
Togaviridae	: <i>Q. lurida</i>
Retroviridae	: <i>C. virginica</i>
Reoviridae	: <i>C. gigas</i>
	: <i>Q. edulis</i>
Birnaviridae	: <i>T. tenuis</i>
Iridoviridae	: <i>C. angulata</i>
	: <i>C. gigas</i> (340nm)
	: <i>C. gigas</i> (220nm)
	(larves)
Picornaviridae	: <i>M. edulis</i>

Tableau 1 - Récapitulatif des cas de viroses chez les mollusques marins.

- *List of cases of viroses in marine molluscs.*

Herpetoviridae

Farley (1972) a rapporté, au cours d'expériences d'élévation de température, la présence de corps d'inclusion intranucléaire dans les cellules situées autour de sinus sanguins. Ces corps, comparables aux inclusions de type A de Cowdry, sont associés à des particules de type herpès, protégées par une simple enveloppe et d'une taille de 70 à 90 nm de diamètre. Certaines particules contiennent un nucléoïde dense.

Papovaviridae

Ces virus ont été mis en évidence dans des gamétocytes et des oeufs chez lesquels ils provoqueraient une hypertrophie, leur taille passant de 75 nm à 500 nm. Leur noyau contient de gros granules Feulgen positif et une accumulation de particules de type viral, les virions icosaédriques mesurant 53 nm. Selon Meyer (1981), cette maladie n'aurait pas d'incidence sur la reproduction.

Birnaviridae

L'exemple de la mise en évidence d'un virus de cette famille illustre la difficulté à établir la nature infectieuse ou non d'un micro-organisme pour le mollusque auquel il est associé. En effet, des données étayaient l'hypothèse d'une simple accumulation par le bivalve filtreur, alors que d'autres suggèrent le rôle pathogène du virus.

Un virus icosaédrique de 59 nm, dont le génome est composé de deux segments d'ARN bicaténaire, a été isolé à partir d'un homogénat de glande digestive de *Tellina tenuis*. Ce virus, apparenté à l'IPN de poisson (Dobos *et al.*, 1979), a pu être cultivé à 14°C sur des lignées cellulaires de Poisson. L'immersion de cultures cellulaires contaminées dans des bacs d'élevage contenant *T. tenuis* et *C. gigas* a permis, au bout de trois mois, de réisoler ce virus. Sa présence n'entraîne pas de mortalité, et l'augmentation de fluorescence spécifique dans les cellules de la glande digestive suggère une multiplication virale. Ce virus a été également isolé une fois dans un stock de géniteurs dont les larves avaient subi des mortalités. Enfin, Hill (1976) a obtenu cinq sérotypes de ce Birnaviridae.

Iridoviridae

Les Iridoviridae sont les seuls virus associés à des épizooties. Deux types très proches l'un de l'autre ont été rapportés par Comps (1983).

Le premier cas concerne la maladie des branchies, qui a affecté à partir de 1967 l'huître portugaise *Crassostrea angulata*, notamment dans les bassins ostréicoles de Marennes et d'Arcachon. Soixante-dix pour cent de la population présentaient des signes cliniques positifs caractérisés par la présence sur les branchies, voire sur le manteau, de ponctuations jaunâtres d'indentations et de perforations. Les cellules atteintes de l'épithélium branchial contiennent du matériel Feulgen positif assimilable à un viroplasma, à partir duquel sont formés des virions icosaédriques de 300 nm. Ces derniers sont composés d'un nucléoïde de 190 nm de diamètre et d'une capside composée de deux membranes unitaires.

Le deuxième cas se rapporte aux mortalités massives de *C. angulata* qui ont sévi le long du littoral atlantique entre 1970 et 1972. L'anatomopathologie a révélé la présence d'infiltrations hémocytaires importantes du tissu interstitiel, certains hémocytes renfermant des corps d'inclusion et des virions icosaédriques de 340 nm.

Des Iridovirus ont également été décrits par Leibovitz *et al.* (1978) et par Elston & Williams (1985) lors de syndromes d'érosion des cellules épithéliales du manteau et du velum associés à des mortalités de larves de *C. gigas*.

Retroviridae

Le seul cas connu de Retroviridae a été mentionné par Appeldoorn & Oprandy (1980) qui ont purifié un virus enveloppé, pléomorphe, de 120 nm de long, avec un nucléoïde excentré de 60 à 70 nm et très proche du rétrovirus de type B. Après injection de ce virus purifié, ils ont obtenu la formation de cellules néoplasiques chez *Mya arenaria*. Un autre cas de virus oncogénique, probablement un Papovaviridae, a été signalé également chez *Mya arenaria* chez laquelle il entraînerait la formation de néoplasies.

1.2. Les rickettsies

Les rickettsies sont responsables de maladies importantes chez les Hominidae (typhus, fièvre Q, trachome, pneumonie primaire atypique, etc.). Des procaryotes similaires ont été décrits récemment chez les mollusques, le premier cas observé étant rapporté en 1977 par Harsbarger *et al.* chez *Mya arenaria*. Depuis, plusieurs rickettsies ont été mentionnées (Tableau 2), mais leur rôle pathogène n'a pas encore été clairement établi.

Rickettsiae

Ces procaryotes se caractérisent par leur localisation intracellulaire, leur développement par simple division binaire et leur paroi assimilable à une structure membranaire.

Parmi les différentes rickettsies, nous citerons les infections rapportées par Buchanan (1978) et par Comps (1980) chez *T. tenuis*. Dans les deux cas, la présence de ces organismes était associée à des mortalités importantes, estimées à 75 % de la population. Les rickettsies sont surtout localisées dans les cellules sécrétrices de la glande digestive, où elles provoquent des nécroses locales. La présence d'une membrane vacuolaire autour de la colonie procaryotique intracellulaire apparente ces rickettsies au groupe des Coxiella, agents pathogènes de vertébrés. Nous mentionnerons enfin un autre cas récent d'une rickettsiose intrabrancheiale chez la coquille St Jacques, *Pecten maximus*. Les lésions tissulaires induites

Bivalve host	Rickettsiae	Chlamydiae	Mycoplasmas	Source
<i>Crassostrea virginica</i>	X		X	Otto and co-authors (1979)
			X	Harshbarger and co-authors Meyers (1981)
<i>Crassostrea gigas</i>	X			Comps and co-authors (1977)
	X			Comps (1980b, c)
<i>Crassostrea angulata</i>		X		Comps (1980b, c)
			X	Comps and Deltreil (1979)
<i>Ostrea edulis</i>	X			Comps and co-authors (1977)
	X			Comps (1980b, c)
<i>Mytilus edulis</i>	X	X		Yevich and Barszcz (1980)
<i>Mytilus californianus</i>	X	X		Yevich and Barszcz (1980)
<i>Mercenaria mercenaria</i>	X	X		Otto and co-authors (1979)
		X		Otto and co-authors (1975)
		X		Harshbarger and co-authors Meyers (1979b)
		X		Meyers (1981)
	X	X		
<i>Mya arenaria</i>	X			Otto and co-authors (1979)
	X			Harshbarger and co-authors
<i>Tellina tenuis</i>			X	Hill (1976b)
	X			Buchanan (1973, 1978, 1979)
<i>Donax trunculus</i>	X			Comps (1980b, c)
<i>Tapes decussatus</i>		X		Comps (1980b, c)
<i>Scrobicularia piperata</i> (= <i>S. plana</i>)		X		Comps (1980b, c)
<i>Placopecten magellanicus</i>	X			Gulka et al. (1983)
<i>Silica patula</i>	X			Elston (1984)
<i>Tapes japonica</i>	X			Elston (1986)
<i>Patinopecten yessoensis</i>	X			Elston (1986)

Tableau 2 - Récapitulatif des cas de rickettsioses chez les mollusques marins.

- List of cases of rickett's disease in marine molluscs.

doivent être reliées aux mortalités remarquées depuis quelques années au cours de l'hiver chez des populations naturelles.

Chlamydiae

Les Chlamydiae se distinguent des Rickettsies par leur cycle de développement plus complexe, aboutissant après une phase de multiplication cellulaire à la production de corps denses assimilés à une forme de résistance et de dissémination. Des infections notoires ont été rapportées par Meyer (1981) chez des populations de *Mercenaria mercenaria* maintenues en éclosérie. Les cellules atteintes, très dilatées (100 µm), sont basophiles et renferment des corps irréguliers. Ces colonies affectent les deux sexes et Meyer, qui a dénombré de 15 à 20 % des tubules digestifs atteints, pense que la cytopathologie induite par ces chlamydies entraîne des perturbations des fonctions digestives.

Mycoplasmes

Ces procaryotes, caractérisés par l'absence de paroi, sont des micro-organismes importants en pathologie végétale et animale. Des germes de ce type ont été observés à deux reprises chez *C. virginica* (Meyer, 1981) et chez *T. tenuis* (Hill, 1976).

1.3. Les bactéries

En relation avec leur activité de filtration, les mollusques accumulent de très nombreuses bactéries, la majorité d'entre elles étant Gram -. Les plus fréquentes appartiennent au genre *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Vibrio* et *Bacillus* et *Corynebacterium* qui sont Gram +. Une des conséquences de cette accumulation bactérienne est le rôle de vecteur que peuvent jouer les mollusques, notamment dans la transmission de maladies. Les exemples de *Vibrio parahaemolyticus* et *V. cholera* sont les plus connus, car ces bactéries sont responsables, dans de nombreux pays, de désordres majeurs. L'autre conséquence est le développement de maladies bactériennes chez les mollusques. Chez les adultes, leur rôle n'est pas très clair, et beaucoup d'auteurs leur attribuent un rôle secondaire de surinfection survenant dans des conditions particulières ; d'autres pensent que les bactéries peuvent être éliminées dans les tissus grâce à des mécanismes de défense humoraux et cellulaires (Arimoto & Tripp, 1977 ; Cheng & Foley, 1975 ; Feng, 1966).

De plus, les mollusques adultes peuvent supporter des concentrations bactériennes très importantes. Une expérience de Tubiash *et al.* (1970) a montré, chez différentes espèces (*C. virginica*, *M. mercenaria*, *M. edulis*), qu'une exposition de 24 heures à des concentrations massives de *Vibrio* sp. et *Aeromonas* sp. ne modifie pas la fonction branchiale et n'entraîne pas de lésions. Par contre, des nécroses sont constatées chez les larves de mollusques, qui sont sensibles à des concentrations plus faibles, la mort des larves survenant pour des concentrations supérieures à 10 cellules/ml. De fait, les maladies bactériennes sont surtout connues chez les larves. Brown (1973) a montré que la pathogénicité des bactéries varie avec l'âge et affecte préférentiellement quelques stades. Ainsi, sur 123 souches de bactéries, comprenant des *Pseudomonas* et des *Vibrios*, seules 20 souches ont entraîné une pathologie pour trois stades de développement de *C. virginica* : les oeufs fertilisés, les larves de 48 h et les larves de 15 jours. De son côté, Leibovitz a précisé que des désordres interviennent dans les élevages larvaires lorsque les concentrations bactériennes varient entre 10^3 et 10^7 cellules/ml. Au cours de ces maladies, les signes cliniques qui apparaissent deux jours après l'inoculation de bactéries se manifestent par un changement du comportement, marqué par une décroissance de l'activité, une nage anormale, puis une sédentarisation associée à une dénutrition. Les larves, qui deviennent jaunâtres, ont le velum et le pied distendus, puis elles sont colonisées par des populations bactériennes qui forment un nuage. La mort survient généralement 72 heures après l'infection. Elston (1980) a décrit en microscopie électronique des lésions du velum provoquées par ces maladies.

Dans l'ensemble, le mode d'action des bactéries est mal connu, bien que la présence d'exotoxines ait été signalée chez les vibrios (Nottage & Birbeck, 1986). Il en résulte des difficultés à réaliser la protection des élevages. L'emploi systématique d'antibiotiques n'est pas à préconiser car d'une part il entraîne la formation de souches résistantes, d'autre part leurs effets sur l'environnement sont mal connus. Les actions préventives semblent préférables, soit en utilisant individuellement, soit en associant les recommandations suivantes :

- stérilisation de l'eau de mer par l'emploi de rayons ultra-violet ;
- désinfection régulière de toutes les installations par bain et circulation d'eau javéalisée ;
- respect des règles d'hygiène (pédiluve, matériel spécifique à chaque salle, etc.) ;
- vide sanitaire annuel dans les pièces sensibles.

1.4. Les Protozoaires

Les principaux agents pathogènes responsables d'épizooties appartiennent aux Protozoaires et font partie, selon la classification de Levine *et al* (1980), du phylum des Apicomplexa avec le genre *Perkinsus* et des Ascetospora avec les genres *Marteilia*, *Haplosporidium* et *Bonamia*.

Genre *Perkinsus*

En 1950, aux Etats-Unis, Mackin *et al.*, au cours d'investigations, découvrent un nouveau pathogène qu'ils nomment *Dermocystidium marinum*. Décrit à l'origine dans la baie de Barataria en Louisiane, *D. marinum* s'est propagé dans le golfe du Mexique (Ray, 1966a) où il a été signalé dans de nombreuses baies de Floride (Quick & Mackin, 1971). Dans le même temps, il est mis en évidence sur la côte atlantique dans les baies de Chesapeake (Hewatt & Andrews, 1954) et du Maryland (Dunnington, 1956).

Sensible aux basses températures et aux basses salinités, ce parasite ne se développe activement qu'à partir de 25°C, mais il prolifère dès 18°C pour des salinités supérieures à 15 ‰ (Andrews & Hewatt, 1957).

Les premiers stades infectieux (Mackin, 1951) sont localisés généralement au niveau de l'épithélium intestinal, entraînant une réaction inflammatoire locale. La multiplication du parasite est accompagnée d'une dégradation des cellules épithéliales et de la destruction de la membrane basale. La propagation du pathogène aux autres tissus s'en trouve alors facilitée. Après cette phase critique, caractérisée par une infiltration leucocytaire très importante de tous les tissus et par des abcès, les huîtres affaiblies meurent généralement au cours de l'été. D'après Quick & Mackin (1971), *D. marinum* serait la cause directe de 50 à 60 % des mortalités annuelles relevées chez les populations d'adultes.

La mise au point d'une technique de culture sur milieu au thioglycolate (Ray, 1952) a permis à Mackin (1962) de réaliser des infestations expérimentales, à Perkins & Menzel (1967), et Perkins (1969a) d'étudier en microscopie électronique les différents stades de son développement. L'induction de mortalité par *D. marinus* a été confirmée *in situ* (Andrews, 1965).

L'évolution des connaissances a entraîné la modification de la position systématique de ce parasite, rattaché par Mackin & Ray aux Labyrinthales sous le nom de *Labyrinthomyxa marina*. Levine (1978) crée pour lui un genre nouveau : *Perkinsus marinus*.

P. marinus se développe dans l'hôte par reproduction végétative à partir d'une aplanospore uninucléée qui, par bipartitions successives, donne naissance à un nombre très variable de sporanges (4 à 64) qui libèrent d'autres aplanospores de 2 à 4 µm. Celles-ci sont caractérisées par la formation d'une vacuole excentrée qui croît lors de la maturation. Les huîtres pre-mortem renferment parfois des prézoosporanges correspondant à une aplanospore de 15 à 20 µm dont la vacuole occupe 90 % du volume cellulaire. Sur milieu de culture, ces cellules évoluent en zoosporanges, donnant naissance à des zoospores biflagellées qui représentent le stade infectieux initial.

Parmi les nombreuses méthodes de prophylaxie proposées, seules celles en rapport avec les conditions de développement de *P. marinus* ont pu être utilisées avec quelque succès (Quick & Mackin, 1971). Cependant, les observations d'Otto et Krantz (1977) sur des souches de *P. marinus* adaptées aux basses salinités limitent l'application de celles-ci. Par ailleurs, Ray (1966 b et c) a défini une sensibilité de ce champignon à des antifongiques et à des antibiotiques, notamment au cycloheximide, sans qu'une thérapie puisse être appliquée.

Récemment, des mortalités constatées chez des moules *Mytilus edulis*, dans la baie d'Ascumpeque à l'île du Prince Edwards (Canada), ont été attribuées également à la présence d'un *Perkinsus sp.* (Li & Clyburne, 1979).

Un parasite du genre *Perkinsus* a été également retrouvé au Portugal chez des Palourdes, *Ruditapes decussatus*, chez lesquelles il entraîne d'importantes formations kystiques, et probablement des mortalités (Chagot *et al.*, 1986).

Genre *Marteilia*

Décrit initialement par Comps (1970), *Marteilia refringens* a été étudié par Grizel *et al.* (1974) et par Perkins (1976), qui ont donné une description en microscopie électronique de plusieurs stades de développement. Ce parasite présente un cycle original caractérisé par un emboîtement final de sporoplasmes qui constituent la spore. Les différents stades affectent principalement le tube digestif, à l'exception de quelques cellules primaires rencontrées au niveau de l'épithélium branchial. La cellule primaire contient une cellule secondaire qui, par divisions successives, aboutit à la formation de huit cellules secondaires. Lors de la sporulation, ces dernières, qui donnent naissance à quatre spores à trois sporoplasmes, sont caractérisées par la présence dans leur cytoplasme résiduel de gros granules réfringents. La maladie se traduit par un amaigrissement de l'huître, accompagné d'une dépigmentation de la glande digestive. La mort survient généralement au cours de l'été suivant l'infection. La maladie n'a pu être reproduite au laboratoire, alors que des infections expérimentales *in situ* ont été obtenues avec succès. Ces expériences ont permis de montrer que l'infection initiale avait lieu uniquement au cours de la période estivale, lorsque les températures sont supérieures à 17°C (Grizel, 1985).

Le parasite qui s'est propagé progressivement le long des côtes bretonnes a été également retrouvé dans les bassins d'Arcachon et de Marennes-Oléron. Toutefois, il est important de signaler que, chez les huîtres, la maladie ne s'est pas propagée : ni dans les baies largement ouvertes aux eaux océaniques, ni en Méditerranée où le parasite est cependant signalé.

Enfin, il est intéressant de noter que, depuis la description de l'espèce-type *M. refringens*, sept espèces de *Marteilia* ont été signalées chez plusieurs mollusques, fousseurs ou non, dans différentes parties du monde.

Genre *Haplosporidium*

Mentionné à l'origine dans la baie de Delaware (Haskin, 1958) *in*: Andrews *et al.* (1962), sous le générique de "seaside organism" (S.S.O.), ce parasite nommé *Minchinia costalis* par Wood et Andrews (1962) a été retrouvé dans des eaux de salinité élevée depuis la Virginie jusqu'à Long Island Sound. Considéré comme un parasite endémique, la période de contamination par *M. costalis* est limitée à la période comprise entre les mois de mai et juillet (Andrews *et al.*, 1962).

Les mortalités apparaissent au mois de mai de l'année suivant l'infection. Elles peuvent être alors supérieures à 50 % selon le taux d'infestation. Les stades unicellulaires initiaux sont localisés précocement dans les tubules digestifs.

A partir du mois de mars suivant, les plasmodes se développent dans les hémocytes et dans le tissu conjonctif où ils donneront de nombreuses spores visibles dans les tissus des huîtres mourantes (Andrews & Castagna, 1978). L'étude de la sporulation en microscopie électronique a été faite par Perkins (1969b).

L'autre Haplosporidie a fait l'objet d'une importante littérature. Observé dès 1957 dans la baie de Delaware (Haskin, 1961), ce parasite, nommé *Minchinia nelsoni* par Haskin *et al.* (1966), s'est propagé rapidement de la Caroline du Nord jusqu'au Connecticut (Sindermann & Rosenfield, 1967).

L'évolution géographique a été suivie dans les détails par de nombreux auteurs (Burton, 1963 ; Andrews & Wood, 1967 ; Krantz *et al.*, 1972 ; Ford & Haskin, 1982).

Le cycle de *M. nelsoni* semble être perturbé par des salinités inférieures à 10 ‰, le pourcentage d'huîtres parasitées diminuant alors de manière significative (Andrews, 1964 ; Sprague *et al.*, 1969 ; Haskin & Ford, 1982 ; Andrews, 1983). La période d'infection, comparable à celle de *M. costalis*, se situe surtout au mois de juin (Couch & Rosenfield, 1968 ; Farley & Haskin, 1982).

Les différents stades de développement (Farley, 1967 et 1968) sont localisés, selon l'importance de l'infection, dans le tissu conjonctif interstitiel, ou également dans les épithéliums des palpes, des branchies et des diverticules (Couch *et al.*, 1966 ; Farley, 1968). L'étude en microscopie électronique a été réalisée par Perkins (1968).

Les mortalités occasionnées par ce parasite ont été très importantes dans certaines rivières. Ainsi, Haven *et al.* (1978) mentionnent *M. nelsoni* comme étant le principal facteur du déclin de la production huître de Virginie, celle-ci étant passée de 3,5 millions de boisseaux en 1954 à 895,5 boisseaux en 1975.

Les modifications des cycles de culture, proposées en tenant compte de l'impact de la salinité sur le parasite et du cycle de développement de *M. nelsoni* (Haven *et al.*, 1978 ; Haskin & Ford, 1982) ont permis de pratiquer à nouveau dans certaines rivières la culture de *C. virginica*. Par ailleurs, Haskin & Ford (1979, 1982) ont noté la présence de populations d'huîtres résistant à la maladie et présentant des mortalités nettement inférieures aux taux normalement relevés. Des expériences de sélection avec ces souches sont en cours.

Ces deux Haplosporidies ont été reclassées par Sprague (1978) dans le genre *Haplosporidium*.

Genre *Bonamia*

Lors d'importantes mortalités d'huîtres plates, *O. edulis*, survenues à l'île Tudy, Comps *et al.* (1980) ont décrit un parasite intracellulaire qu'ils ont nommé *Bonamia ostreae*.

Cet agent pathogène est présent dans les cellules hémocytaires où il se multiplie et entraîne une lyse du cytoplasme de la cellule hôte qui meurt. Il est, de ce fait, également présent libre dans différents tissus de l'huître. Deux types cellulaires ont été initialement décrits : les formes les plus fréquentes mesurent de 2 à 3 µm. Le cytoplasme, riche en ribosomes, renferme une à deux mitochondries et des haplosporosomes. Les formes claires, plus allongées, mesurent de 2 à 4 µm et ont un noyau avec un volumineux nucléole. Des stades plasmodiaux à 3, 4 ou 5 noyaux ont été rapportés par Brehelin *et al.* (1982) chez des huîtres mourantes sans que ces stades puissent être associés effectivement à *Bonamia*. La position systématique de ce parasite, comme celle de *Marteilia* et *Perkinsus* reste discutable.

La bonamiose s'est propagée rapidement dans la majorité des centres d'élevage bretons, mais également en Espagne, en Angleterre et aux Pays-Bas (Grizel, 1985) où elle a provoqué d'importantes mortalités (70 à 90 %). La maladie a été reproduite au laboratoire par différentes méthodes, proximité, broyat incorporé dans les bacs et *per os*. Des infections expérimentales ont été également obtenues *in situ*, Tige et Grizel (1984) ayant montré que *B. ostreae* est infectieux tout au long de l'année.

2. RECHERCHES ET PROGRES RECENTS EN PATHOLOGIE DES MOLLUSQUES

En complément des nombreux travaux portant sur la description d'agents pathogènes et, à l'instar de la pathologie humaine et vétérinaire, il était important d'entreprendre des recherches plus approfondies sur les maladies des mollusques afin de pouvoir améliorer, compte tenu des conséquences économiques des épizooties (Meuriot & Grizel, 1984), les mesures de prophylaxie adaptées au milieu marin, mais également de définir des méthodes thérapeutiques.

Ces progrès, qui supposent l'étude des relations des agents pathogènes avec leur hôte à trois niveaux d'investigation (à l'échelle de la cellule, de l'organisme et de la population), sont assujettis à la mise au point de techniques de laboratoire, dont les plus importantes actuellement sont les techniques de purification des agents pathogènes et la culture de cellules de mollusques et d'agents pathogènes.

2.1. Purification des agents pathogènes

Parmi les nombreux micro-organismes agents pathogènes intracellulaires de bivalves, seul un retrovirus de *Mya arenaria* a été isolé, caractérisé avec précision et utilisé pour reproduire expérimentalement une néoplasie hémocytaire (Oprandy, 1981). L'isolement et la purification de Protozoaires sont récents : le premier cas concerne *Marteilia refringens*, parasite d'*Ostrea edulis* (Mialhe *et al.*, 1985). Cette méthode a permis d'obtenir également des formes sporales de *Marteilia sp.* et de *Marteilia maurini*, agents pathogènes respectivement de *Cardium edule* et de *Mytilus galloprovincialis*.

De plus, en modifiant le protocole précédent (Mialhe, comm. pers.), des spores d'*Haplosporidium sp.*, parasite d'*O. edulis* et d'*O. angasi*, ont été purifiées. Il en est de même pour *Bonamia ostreae*. Par ailleurs, une rickettsie associée à d'importantes lésions branchiales chez *Pecten maximus* vient aussi d'être purifiée (Constantin, comm. pers.).

Ces progrès techniques, qui ouvrent d'importantes voies de recherche en pathologie expérimentale, ont également permis d'entreprendre la mise au point d'immuno-diagnostics.

2.2. Culture cellulaire de mollusques et culture *in vitro* d'agents pathogènes

L'obtention de lignées cellulaires de vertébrés a été déterminante en pathologie humaine et vétérinaire, tant pour le développement de recherches fondamentales, en virologie et parasitologie par exemple, que des recherches appliquées (mise au point de vaccins, anticorps monoclonaux, etc.).

Plus récemment, il en a été de même avec l'établissement de lignées cellulaires d'insectes qui a permis de progresser rapidement dans l'étude des micro-organismes qui leur sont associés et dans la lutte biologique.

De telles cultures n'existent pas chez les Invertébrés marins, mollusques et crustacés, bien qu'elles aient été l'objet de recherches. Les premiers travaux sur la culture de cellules de mollusques marins datent des années soixante. Ces essais ont porté essentiellement sur des tissus de bivalves avec des milieux de cultures simples composés d'eau de mer complétée par du sérum de vertébré (Vago *et al.*, 1960 ; Tripp *et al.*, 1966 ; Perkins *et al.*, 1964). Des recherches furent à nouveau entreprises sans succès par Cousserans (1975) et Hetrick *et al.* (1981), qui ont néanmoins montré l'intérêt d'utiliser des tissus larvaires. Ces travaux ont été repris par Boulo (1986), qui a également obtenu de bonnes primocultures et qui a défini plusieurs voies d'expérimentation. Cet auteur a également réalisé des multiplications du parasite *Bonamia ostreae* en incorporant celui-ci à des primocultures de tissus sanguins. Ces premiers résultats ont permis l'établissement de modèles *in vitro* pour étudier les relations entre l'hôte et le parasite.

CONCLUSION

L'extension des élevages conchylicoles, le développement d'échanges commerciaux, mais aussi l'accroissement des pollutions ont favorisé l'apparition et la propagation de maladies infectieuses et non infectieuses chez les populations de mollusques. Il en est résulté un effort accru de recherche, qui s'est traduit par le signalement et la description de nombreux agents pathogènes et par la mise en place d'études épidémiologiques visant à apporter des premières solutions prophylactiques. L'amélioration de celles-ci et la définition de thérapies nécessitent maintenant le développement de recherches analytiques et de méthodologies adaptées aux mollusques marins. Des résultats ont déjà été obtenus, et les progrès récemment réalisés dans le domaine de la purification des agents pathogènes devraient contribuer à cette amélioration. Enfin, si la recherche peut contribuer à réduire l'impact des épizooties, il faut souligner le rôle important que doivent également jouer les administrations concernées, et surtout la profession dans la prévention et la limitation de ces risques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Andrews J.D., 1964.- Oyster mortality studies in Virginia. IV. MSX in James River public seed beds.- *Proc. Nat. Shellfish Ass.* 53 : 65-84.
- Andrews J.D., 1965.- Infection experiments in nature with *Dermocystidium marinum* in Chesapeake Bay.- *Chesapeake Science*, 6, 1 : 60-67.
- Andrews J.D., 1983.- *Minchinia nelsoni* (MSX) infection in the James River seed-oyster area and their expulsion in spring.-*Est., Coast-and Shelf Science*, 16 : 255-269.
- Andrews J.D. & Hewatt W.G., 1957.- Oyster mortality studies in Virginia. II The fungus disease caused by *Dermocystidium marinum* in oysters of Chesapeake Bay.- *Ecol. Monogr.*, 27 : 1-25.
- Andrews J.D., Wood J.L. & Hoese H.D., 1962.- Oyster mortality studies in Virginia. III. Epizootiology of a disease caused by *Haplosporidium costale* Wood & Andrews.- *J. Invertebr. Pathol.*, 4 : 327-343.
- Andrews J.D. & Wood J.L., 1967.- Oyster mortality studies in Virginia. VI. History and distribution of *Minchinia nelsoni*, a pathogen of oyster in Virginia.- *Chesapeake Science*, 8, 1 : 1-13.
- Andrews J.D. & Castagna M., 1978.- Epizootiology of *Minchinia costalis* in susceptible oyster in seaside Bays of Virginia's Eastern shore, 1959-1976.- *J. Invertebr. Pathol.*, 32 : 124-138.
- Appeldoorn R.S. & Oprandy J.J., 1980.- Tumors in soft-shell clams and the role played by a virus.- *Maritimes*, 24 : 4-6.
- Arimoto R. and Tripp M.R., 1977.- Characterization of a bacterial agglutinin in the hemolymph of the hard clam, *Mercenaria mercenaria*.- *J. Invertebr. Pathol.*, 30 : 406-413.
- Brehelin M., Bonami J.R., Cousserans F. & Vivares C.P., 1982.- Existence de

formes plasmodiales vraies chez *Bonamia ostreae*, parasite de l'huitre plate *Ostrea edulis*.- *C.R. Acad. Sci. Paris*, 295, D : 45-48.

- Brown C., 1973.- The effects of some selected bacteria on embryos and larvae of the American oyster, *Crassostrea virginica*.- *J. Invertebr. Path.*, 21 : 215-223.
- Buchanan J.S., 1978.- Cytological studies on a new species of rickettsia found in association with a phage in the digestive gland of the marine bivalve mollusc, *Tellina tenuis* da Costa.- *J. Fish Dis.*, 1 : 27-43.
- Burton R.W., 1963.- Distribution of oyster microparasites in Chesapeake Bay, Maryland, 1959-1960.- *Proc. Nat. Shellfish. Ass.*, 53, 65-74.
- Chagot D., Comps M., Boulo V., Ruano F., et Grizel H., 1986.- Etude histopathologique d'une réaction cellulaire chez *Ruditapes decussatus* infecté par un Protozoaire.- *Proc. Inter. Colloq. pathol. Marine Aquac.* 7-11 sept. 86, Porto.
- Cheng T.C. and Foley D.A., 1975.- Hemolymph cells of the bivalve mollusc *Mercenaria mercenaria*, an electron microscopical study.- *J. Invertebr. Path.*, 26 : 341- 351.
- Comps M., 1970.- Observations sur les causes d'une mortalité anormale des huîtres plates dans le bassin de Marennes.- *Revue Trav. Inst. Pêch. marit.*, 34 : 317-326.
- Comps M., 1983.- Recherches histologiques et cytologiques sur les infections intracellulaires des mollusques bivalves marins.- Thèse Doct. Etat Sci. Nat., Montpellier, 128 p.
- Comps M., Tige G., Grizel H., 1980.- Recherches ultrastructurales sur un Protiste parasite de l'huitre plate *Ostrea edulis* L. - *C.R. Acad. Sci. Paris*, 290, D : 383-384.
- Couch J.A., & Rosenfield A., 1968.- Epizootiology of *Minchinia costalis* and *Minchinia nelsoni* in oysters introduced into Chincoteague Bay, Virginia.- *Proc. Nat. Shellfish. Ass.*, 58 : 51-59.
- Cousserans F., 1975.- Recherche sur la culture de cellules de mollusques marins et sur l'emploi de ces systèmes cellulaires en pathologie marine.- Thèse Doct. 3^{ème} cycle, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, 189 p.
- Dobos P., Hill B.J., Hallet R., Kells D.T.C., Becht H. & Tennings D., 1979.- Biophysical and biochemical characterisation of five animal viruses with bisegmented double-stranded RNA genomes.- *J. Virol.*, 32 : 593-605.
- Elston R., 1980.- New ultrastructural aspects of a serious disease of hatchery reared larval Pacific oysters *Crassostrea gigas*.- *Proc. Nat. Shellfish. Ass.*, 70, 122.
- Farley C.A., 1967.- A proposed life cycle of *Minchinia nelsoni* (Haplosporida, Haplosporidiidae) in the American oyster *Crassostrea virginica*.- *J. Protozool.*, 14 : 616-625.

- Farley C.A., 1968.- *Minchinia nelsoni* (Haplosporida) disease syndrome in the American oyster *Crassostrea virginica*.- *J. Protozool.*, 15 : 585-599.
- Feng S.Y., 1966.- Experimental bacterial infections in the oysters *Crassostrea virginica*.- *J. Invertebr. Pathol.* 8 : 505-511.
- Ford S.E. & Haskin H.H., 1982.- History and epizootiology of *Haplosporidium nelsoni* (MSX), an oyster pathogen in Delaware Bay. 1957-80.- *J. Invertebr. Pathol.*, 40 : 118-141.
- Grizel H., 1985.- Etude des récentes épizooties de l'huitre plate *Ostrea edulis* et de leur impact sur l'ostréiculture bretonne.- Thèse Doct. Etat Sci. Nat., Montpellier, 145 p.
- Grizel H., Comps M., Bonami J.R., Cousserans F., Duthoit J.L. & Le Pennec M.A., 1974.- Recherche sur l'agent de la maladie de la glande digestive de *Ostrea edulis* L. - *Science et Pêche.*, 240 : 7-30.
- Harshbarger J.C., Chang S.C. & Otto S.V., 1977.- Chlamydiae (with phages), mycoplasmas and rickettsiae in Chesapeake Bay bivalves.- *Science*, N.Y., 196 : 666-668.
- Haskin H.H., 1961.- Delaware Bay oyster mortalities.- *Proc. Gulf Caribb. Fish Inst.*, 1960, 109.
- Haskin H.H. & Ford S.E., 1982.- *Haplosporidium nelsoni* (MSX) on Delaware bay seed oyster beds : A host-parasite relationship along a salinity gradient.- *J. Invertebr. Pathol.* 40 : 388-405.
- Haskin H.H., Stauber L.A. & Mackin J.G., 1966.- *Minchinia nelsoni* n. sp. (Haplosporida, Haplosporidiidae) : causative agent of the Delaware Bay oyster epizootic.- *Science*, N.Y., 153 : 1414-1416.
- Haven D.J., Haggis W.J. & Kendall P.C., 1978.- The oyster industry of Virginia : its status, problems and promise.- Special report n° 168 - VIMS.
- Hetrick F.M., Stephens E., Lonax N. & Luttrell K., 1981.- Attempts to develop a marine molluscan cell line.- Technical Report Maryland Sea Grant Program, UM. SG. TS. 81-06, 81 p.
- Hewatt W.G. & Andrews J.D., 1954.- Oyster mortality studies in Virginia. I. Mortalities of oysters in trays at Gloucester Point, York River.- *Tex J. Sci.*, 6 : 121-133.
- Hill B.J., 1976.- Properties of a virus isolated from the bivalve mollusc *Tellina tenuis* (da Costa). In : (L.A. Page ed.) *Wildlife Diseases*.- Plenum, New York., 445-452.
- Krantz G.E., Buchanan L.R., Farley C.A. & Carr H.A., 1972.- *Minchinia nelsoni* in oysters from Massachusetts waters.- *Proc. Nat. Shellfish. Ass.*, 62 : 83-85.
- Li M.F. & Clyburne S., 1979.- Mortalities of blue mussel *Mytilus edulis* in Prince Edward Island.- *J. Invertebr. Pathol.*, 33 : 108-110.

- Leibovitz L. & Elston R., Lipovsky V.P. & Donaldson J., 1978.- A new disease of larval Pacific oysters *Crassostrea gigas*.- *Proceedings of the 9th Annual Meeting, World Mariculture Society* (Atlanta, Georgia, 1978) : 603-615.
- Levine N.D., 1978.- *Perkinsus* gen. n. and other new taxa in the protozoan phylum Apicomplexa.- *J. Parasit.* 64, 549.
- Levine N.D., Corliss J.O., Cox F.E.G., Deroux G., Grain J., Honigberg B.M., Leedale G.F., Loeblich A.R., Lom J., Lynn D. Merinfeld E.G., Page F.C., Poljansky G., Sprague V., Vavra J. & Wallace F.G., 1980.- A newly revised classification of the Protozoa.- *J. Protozool.*, 27 : 37-58.
- Mackin J.G., 1951.- Histopathology of infection of *Crassostrea virginica* (Gmelin) by *Dermocystidium marinum* Mackin, Owen & Collier.- *Bull. mar. Sci. Gulf Caribb.*, 1 : 72-87.
- Mackin J.G., 1962.- Oyster disease caused by *Dermocystidium marinum* and other microorganisms in Louisiana.- *Publs Inst. mar. Sci. Uni. Tex.*, 7 : 132-229.
- Mackin J.G. & Ray S.M., 1966.- The taxonomic relationships of *Dermocystidium marinum* Mackin, Owen and Collier.- *J. Invertebr. Pathol.* 8 : 544-545.
- Meyers T.R., 1981.- Endemic diseases of cultured shellfish of Long Island, New-York : Adult and juvenile American oysters *Crassostrea virginica* and hard clams *Mercenaria mercenaria*.- *Aquaculture*, 22 : 305-330.
- Mialhe E., Bachère E., Lebec C., Grizel H., 1985.- Isolement et purification de *Marteilia* (Protozoa : Ascetospora), parasites de bivalves marins.- *C.R. Acad. Sc. Paris*, ser. III, 4 : 137-142.
- Otto S.V. & Krantz G.E., 1977.- An epizootic of "Dermo" disease in oysters in the Maryland portion of the Chesapeake Bay.- *Proc. Nat. Shellfish. Ass.*, 67, 121.
- Perkins F.O., 1968.- Fine structure of the oyster pathogen *Minchinia nelsoni* (Haplosporida, Haplosporidiidae).- *J. Invertebr. Pathol.*, 10 : 287-305.
- Perkins F.O., 1969a.- Electron microscope studies of sporulation in the oyster pathogen *Minchinia costalis* (Sporozoa : Haplosporida).- *J. parasit.*, 55 : 897-920.
- Perkins F.O., 1969b.- Ultrastructure of vegetative stages in *Labyrinthomyxa marina* (= *Dermocystidium marinum*), a commercially significant oyster pathogen.- *J. Invertebr. Pathol.*, 13 : 199-222.
- Perkins F.O., 1976.- Ultrastructure of sporulation in the European flat oyster pathogen, *Marteilia refringens*.- Taxonomic implications.- *J. Protozool.*, 23 : 64-74.
- Perkins F.O., & Menzel R.W., 1964.- Maintenance of oyster cells *in vitro*.- *Nature*, 204 : 1106-1107.

- Quick J.A., & Mackin J.G., 1971.- Oyster parasitism by *Labyrinthomyxa marina* in Florida.- *Fla. Dept. Nat. Resources, Prof. Pap. Ser.*, 13 : 1-55.
- Ray S.M., 1966a.- Notes on the occurrence of *Dermocystidium marinum* on the Gulf of Mexico coast during 1961 and 1962.- *Proc. Nat. Shellfish. Ass.*, 54 (1963) : 45-54.
- Ray S.M., 1966b.- A review of the culture method for detecting *Dermocystidium marinum*, with suggested modifications and precautions.- *Proc. Nat. Shellfish. Ass.*, 54 (1963) : 55-69.
- Ray S.M., 1966c.- Effects of various antibiotics on the fungus *Dermocystidium marinum* in Thioglycollate culture of oyster tissues.- *J. Invert. Pathol.*, 8 : 433-438.
- Sindermann C.J. & Rosenfield A., 1967.- Principal diseases of commercially important marine bivalve Mollusca and Crustacea.- *Fish Bull. Fish Wildl. Serv. U.S.*, 66 : 335-385.
- Sprague V., 1978.- Comments on trends in research on parasitic diseases of shellfish and fish.- *Mar. Fish Rev.*, 40, 10 : 26-30.
- Sprague V., Dunnington E.A. and Drobeck E., 1969.- Decrease in incidence of *Minchinia nelsoni* in oyster accompanying reduction of salinity in the laboratory.- *Proc. Natn. Shellfish. Ass.*, 59 : 23-26.
- Tige G. & Grizel H., 1984.- Essai de contamination d'*Ostrea edulis* par *Bonamia ostreae* (Pichot et al., 1979) en rivièrè de Crach (Morbihan).- *Revue. Trav. Inst. Pêches marit.*, 46, 4 : 1-8.
- Tripp M.R., Bisignani L.A. & Kenny M.T., 1966.- Oyster amoebocytes in vitro.- *J. Invertebr. Pathol.* 8 : 137-140.
- Tubiash H.S., Colwell R.R. & Sakazaki R., 1970.- Marine vibrios associated with bacillary necrosis, a disease of larval and juvenile bivalve molluscs.- *J. Bact.* 103 : 271-272.
- Vago C. & Chastang S., 1960.- Culture de tissus d'huitres.- *C.R. Acad. Sci., Paris*, 250, 2751.
- Wood J.L., & Andrews J.D., 1962.- *Haplosporidium costale* (Sporozoa) associated with a disease of Virginia oysters.- *Science*, 136 : 710-711.