

OBSERVATIONS RELATIVES A L'AFFECTION BRANCHIALE DES HUITRES PORTUGAISES (*CRASSOSTREA ANGULATA* LMK)

par Michel COMPS

Introduction.

Dès l'automne 1966 ont été signalées des lésions observables sur les branchies des huîtres portugaises, élevées dans le bassin de Marennes-Oléron. Par la suite, différents observateurs ont noté la présence de lésions identiques sur les huîtres d'Arcachon et des côtes de Bretagne. Une nouvelle maladie des huîtres était donc apparue et avec une intensité telle qu'au cours de l'année 1967 les pertes affectèrent chez les éleveurs une proportion importante de la production.

Les symptômes de la maladie sont apparents, en première observation, sur les branchies et les palpes. Les branchies présentent des échancrures en forme de V, plus ou moins profondes et plus ou moins nombreuses, qui leur donnent un aspect crénelé. A la limite, les feuillets branchiaux peuvent être très altérés; il ne subsiste alors que des lambeaux très courts ayant une allure de moignons. Ces symptômes ont été décrits dans le détail par BESSE (1968), ARVY et FRANC (1968) et MARTEIL (1968).

Les études entreprises pour déterminer les causes de l'altération des branchies ont conduit jusqu'à ce jour à plusieurs hypothèses. D'après BESSE, il pourrait s'agir de lésions consécutives à une irritation provoquée par un cilié du genre *Trichodina* EHRENBERG. Par contre, ARVY et FRANC, sans éliminer le rôle d'un cilié - mais il ne s'agirait pas de *Trichodina* EHRENBERG -, envisagent l'action très probable d'un rhizopode comparable à *Labyrinthomyxa sauvageai* DUBOSCQ, parasite de *Laminaria lejolisi* SAUVAGEAU décrit par DUBOSCQ (1921).

Matériel. Techniques d'étude.

Les études entreprises en vue de préciser les particularités histologiques et cytologiques des lésions ont porté sur des huîtres prélevées dans les parcs de la rive gauche de la Seudre. Les mollusques choisis en fonction des altérations apparentes sur les branchies ont été fixés dans du liquide de Zenker mais aussi dans le liquide de Bouin et dans celui de Davidson, ce dernier s'étant révélé d'une utilisation facile et bien adapté à la fixation des mollusques marins. Le mélange fixateur indiqué par Davidson comprend : eau de mer, 1 200 ml; alcool éthylique à 95°, 1 200 ml; formol à 40 %, 800 ml; glycérine, 400 ml; 10 % d'acide acétique cristallisable au moment de l'utilisation.

A partir du matériel fixé, deux types d'examen ont été envisagés : les uns par observation directe au microscope des tissus préalablement éclaircis, les autres sur coupes après inclusion à la paraffine.

1) Examens directs.

La fragilité des tissus de l'huître, notamment des feuillets branchiaux, est à l'origine des difficultés rencontrées dans les examens pratiqués sur le frais. Aussi le matériel fixé a-t-il été choisi pour effectuer l'étude des tissus lésés, mais l'opacité du milieu a rendu nécessaire l'éclaircissement des fragments de branchies ou de palpes labiaux à examiner. Dans ce but, plusieurs médiums ont été utilisés. La potasse à différentes concentrations provoqua, au-delà de l'éclaircissement, une

désagrégation intense des tissus faisant perdre tout intérêt à la préparation. La glycérine, bien qu'elle éclaircisse d'une façon convenable, ne permet pas cependant une différenciation suffisante entre les tissus de diverses natures. En définitive, seuls les milieux éclaircissants d'Amman, lactophénol et chlorallactophénol, ont donné des résultats satisfaisants, alliant à un excellent pouvoir éclaircissant des qualités optiques (indice de réfraction, respectivement de 1,44 et 1,49) rendant possible l'observation de détails très fins.

Le fragment de branchie ou de palpe à étudier, placé sur une lame, est traité avec l'un des réactifs d'Amman; la préparation, avant d'être recouverte avec une lamelle, est chauffée très doucement sur une platine jusqu'à émission de vapeurs.

2) Examens sur coupes.

Les examens cités dans le paragraphe précédent ont été complétés par l'étude des coupes pratiquées au niveau des lésions. Deux méthodes de coloration furent retenues : hémalun-éosine et thionine picriquée. Sur les palpés labiaux, dont les lésions sont facilement repérables, les coupes ont été effectuées parallèlement à la surface du palpe et aussi perpendiculairement à cette première direction.

Résultats.

1) **Examens directs.** Par l'examen direct, il a été aisé d'observer, tant au niveau des échancrures des branchies que des perforations des palpés labiaux, des éléments unicellulaires de grande taille, nettement individualisés.

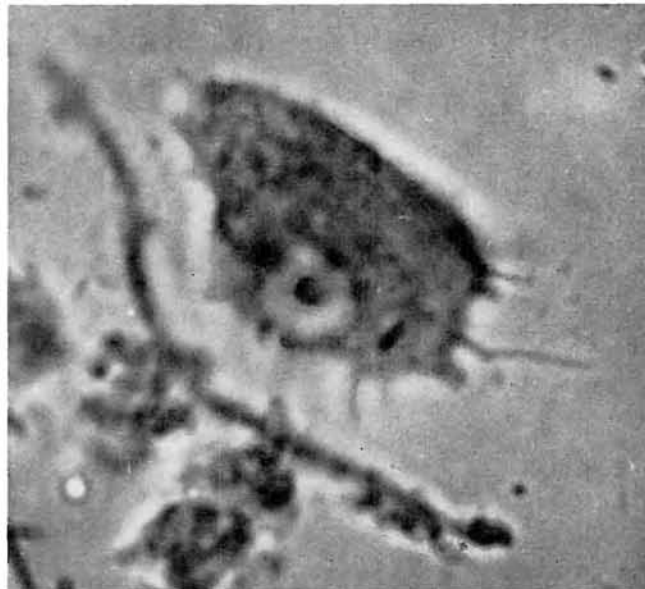


FIG. 1. — Cellule d'aspect rhizopoïde isolée au niveau d'une perforation de palpe. Tissu fixé, traité au lactophénol (G \times 1 000).

Ces éléments, très polymorphes, présentent des dimensions variables allant de 30 à 70 microns. Souvent, leur contour est irrégulier, l'individu étant pourvu de prolongements comparables à des pseudopodes ne dépassant guère 10 à 15 microns.

Certains individus possèdent un contour régulier leur donnant un aspect tantôt quasiment sphérique, tantôt plus ou moins ovoïde.

Dans chaque cellule, on reconnaît un noyau dont le plus grand diamètre atteint généralement 15 microns; ce noyau se distingue bien par son contour plus réfringent et par la présence d'un gros nucléole (2 à 3 microns), plus réfringent également (fig. 1 à 3). On peut par ailleurs retenir l'aspect

finement granuleux du cytoplasme, contribuant à bien individualiser les cellules observées au sein des tissus de l'huître. Si certains individus sont isolés, il n'est pas rare qu'ils forment aussi des amas assez importants de 5 à 10 et plus parfois, difficilement dissociables. On pourrait penser qu'un en-

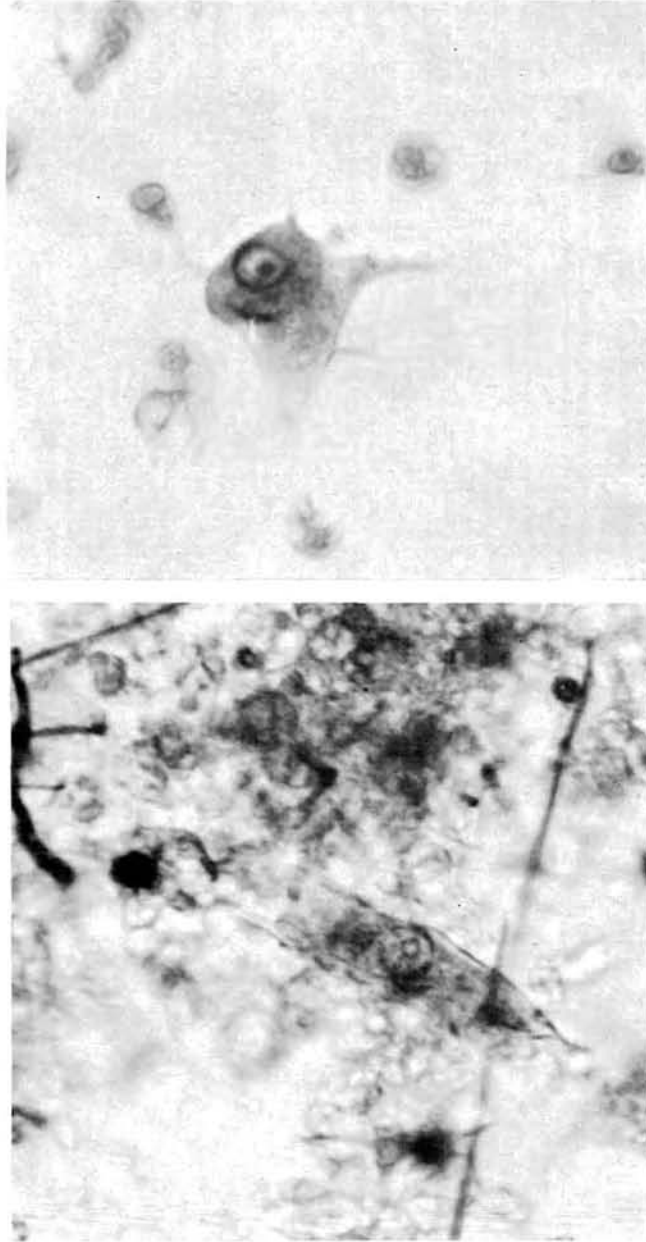


FIG. 2 (en haut) et 3 (en bas). — Préparation montrant différents aspects des grandes cellules présentes dans les lésions des branchies et des palpes. Tissu fixé, traité au lactophénol (G \times 500).

chevêtrement des prolongements ou encore que des termes de continuité entre ces derniers sont à l'origine de tels groupements.

Par ailleurs, facilement reconnaissables à leurs noyaux, d'autres cellules restent, dans la zone marginale de la perforation, étroitement imbriquées aux tissus de l'huître.

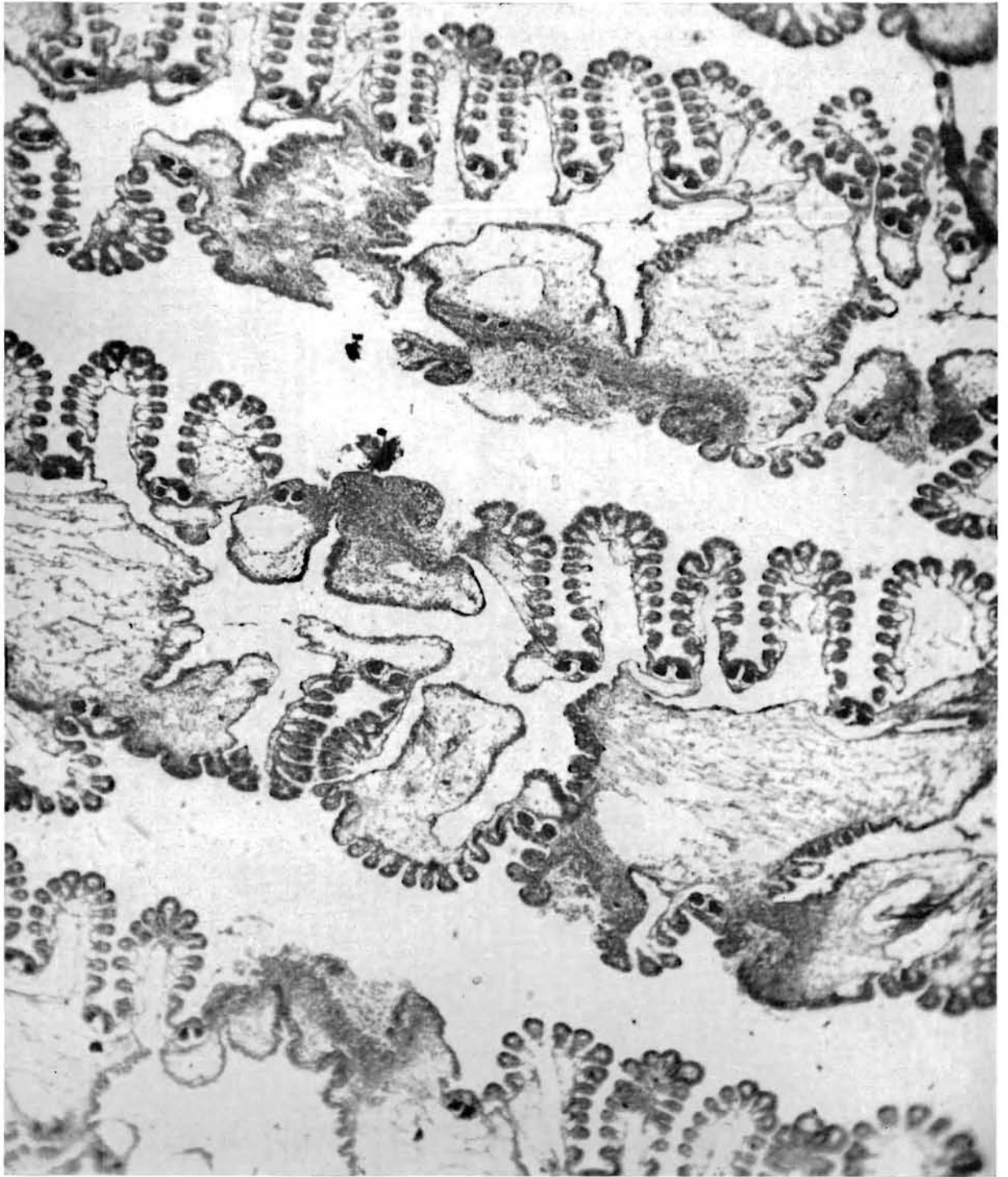


FIG. 5. — Coupe perpendiculaire aux filaments branchiaux passant par plusieurs lésions : au centre, des filaments ont entièrement disparu ainsi que des éléments de l'armature chitineuse. Thionine picriquée (G \times 80).

Il est à noter que les meilleurs résultats ont été obtenus avec des huîtres fixées dans le mélange fixateur de Zenker.

En conclusion, cette préparation a permis de mettre en évidence, au niveau des lésions uniquement, des cellules de grande taille rappelant, tant par leur localisation que par leur morphologie et leur anatomie, le protiste décrit par ARVY et FRANC (1968).



FIG. 4. — Coupe parallèle à la surface du palpe, passant par une excavation.
Hémalum-éosine (G \times 60).

2) Examens sur coupes. Généralement, sur les palpes, les altérations se présentent comme de petites excavations offrant sensiblement l'aspect de troncs de cônes dont l'ouverture à la surface du palpe atteint 0,5 à 1 mm de diamètre. Les coupes perpendiculaires aux filaments branchiaux montrent des lésions comparables à celles des palpes (fig. 4 et 5). On peut voir d'ailleurs sur une même coupe différents niveaux d'évolution de la maladie.

Il semble qu'à l'origine les filaments branchiaux apicaux et ordinaires perdent leur individualité pour s'agglomérer et faire place à une masse tissulaire gravement perturbée; le tissu épithélial subit cette désorganisation au point qu'il devient pratiquement impossible de reconnaître les éléments qui le caractérisent, les cellules granuleuses éosinophiles étant notamment absentes. Ces troubles paraissent précéder une phase de « décomposition » plus intense conduisant à une véritable érosion des tissus branchiaux, tendant à éliminer certains filaments. Les filets trabeculaires chitineux sont également atteints; ils s'amincissent considérablement et même, dans certaines lésions, disparaissent complètement (fig. 5). Cette dégradation se limite assez strictement : un ou plusieurs plis de filaments sont entièrement détruits, les plis voisins restant intacts. Autre caractéristique de la localisation des lésions, leur présence fréquente au niveau des jonctions interfoliaires. Par ailleurs, il n'est pas rare de rencontrer deux zones altérées se faisant vis-à-vis sur deux feuillets directs ou encore sur deux feuillets réfléchis internes (fig. 5).

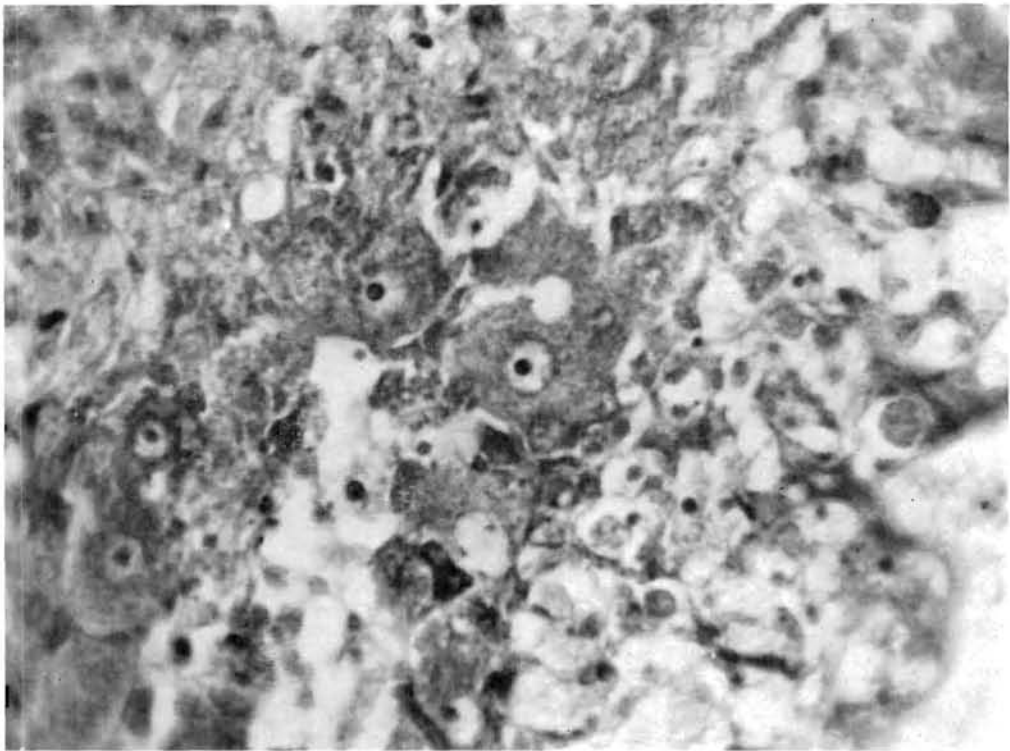


FIG. 6. — Coupe perpendiculaire aux filaments branchiaux faisant apparaître une excavation tapissée de grandes cellules. Thionine picriquée ($G \times 500$).

Au niveau des lésions, indépendamment de la forme qu'elles peuvent affecter, se retrouve toujours, sur une épaisseur assez variable selon la gravité de l'altération, une zone de tissus plus dense, abondamment pourvue de noyaux. L'organisation de cette masse est anarchique mais parfois les éléments qui la composent sont agencés suivant des directions particulières, tantôt rayonnantes comme le montre la figure 4 qui représente une perforation de palpe, tantôt plus ou moins sinueuses, restant dans l'ensemble parallèles à la bordure externe de l'excavation.

L'intérieur des excavations est envahi par des cellules de grande taille très polymorphes dont, la plupart du temps, le contour se distingue mal; elles possèdent un noyau volumineux qui atteint au maximum 16 à 17 microns et les rend parfaitement reconnaissables. Le cytoplasme, finement granuleux, paraît s'étendre en prolongements en forme de pseudopodes filamenteux. Ces éléments cellulaires, très souvent étroitement associés entre eux, tapissent le fond de l'excavation au niveau de laquelle les prolongements paraissent s'immiscer au sein de la zone tissulaire désorganisée. Il s'est révélé impossible de suivre le cheminement des prolongements en profondeur.

Ces éléments caractérisés par leur aspect rhizoïde donnent lieu à des figures multiples. Si, dans la plupart des cas, ils forment une couche quasiment unicellulaire, ils se trouvent aussi groupés en amas assez importants rappelant un plasmode (fig. 6). En outre il arrive qu'ils forment des alignements continus de 5 à 10 unités.

A l'extérieur, dans la lumière de l'excavation, parmi des éléments informes susceptibles de résulter de la dégradation des tissus (fig. 7), il est fréquent de rencontrer quelques-unes de ces

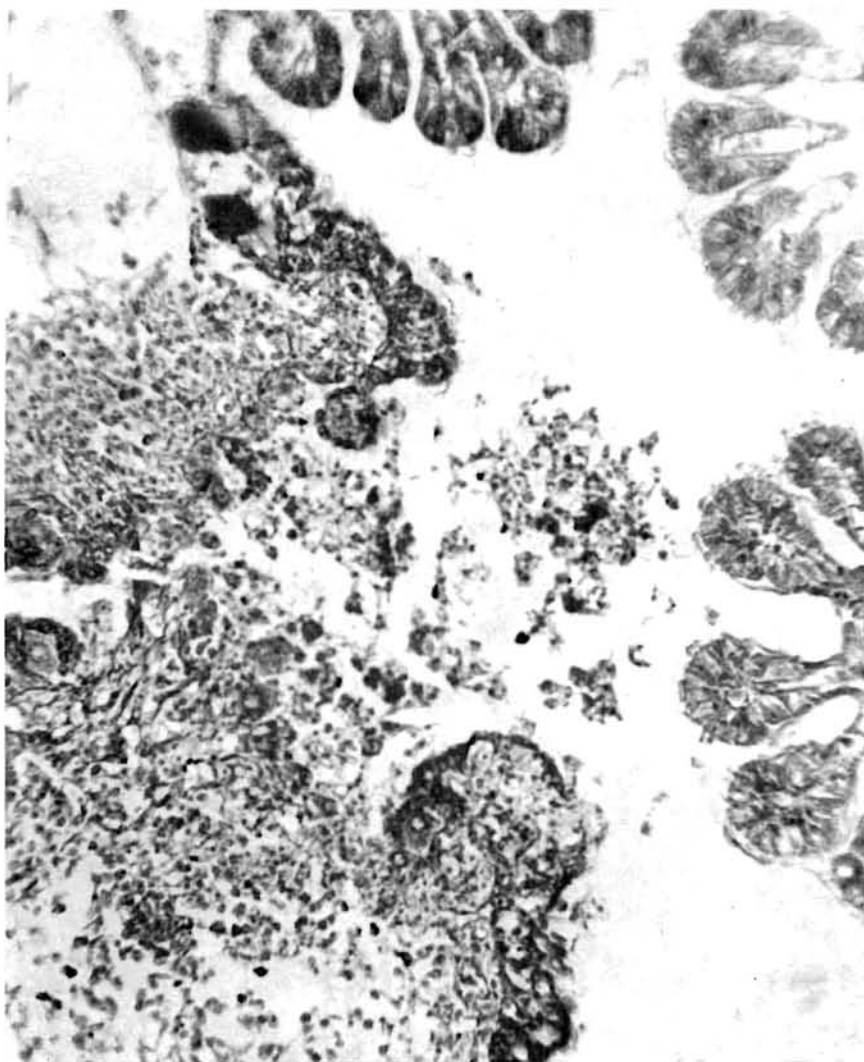


FIG. 7. — Coupe de branchie montrant une lésion typique.
Thionine picriquée (G × 250).

cellules parfaitement isolées; leur taille et leur forme sont très variables : tantôt les prolongements ne sont pas visibles, le contour de la cellule étant assez régulier, plus ou moins ovoïde, tantôt ils figurent avec netteté.

La figure 8 montre, fortement grossie, une grande cellule localisée dans une lésion branchiale.

Par ailleurs, en bordure des excavations, dans les parties de branchies ayant gardé leur structure fondamentale et qui sont vraisemblablement des zones en voie de destruction, existent des groupes de petites cellules fusiformes aux noyaux nettement ovoïdes dont le plus grand diamètre varie

entre 4 et 8 microns. Le contour de ces cellules n'est bien visible que lorsqu'elles sont isolées. Dans le cas contraire, elles sont reliées en chaînes s'anastomosant entre elles pour constituer des réseaux assez complexes. Ces cellules, bipolaires, sont alignées en files uniques qui vont en s'élargissant dans certaines zones et forment par endroits des amas très denses comme le montre la figure 9.

En outre, on observe ces cellules au voisinage immédiat des grandes cellules décrites précédemment, dont certaines en sont entièrement entourées.

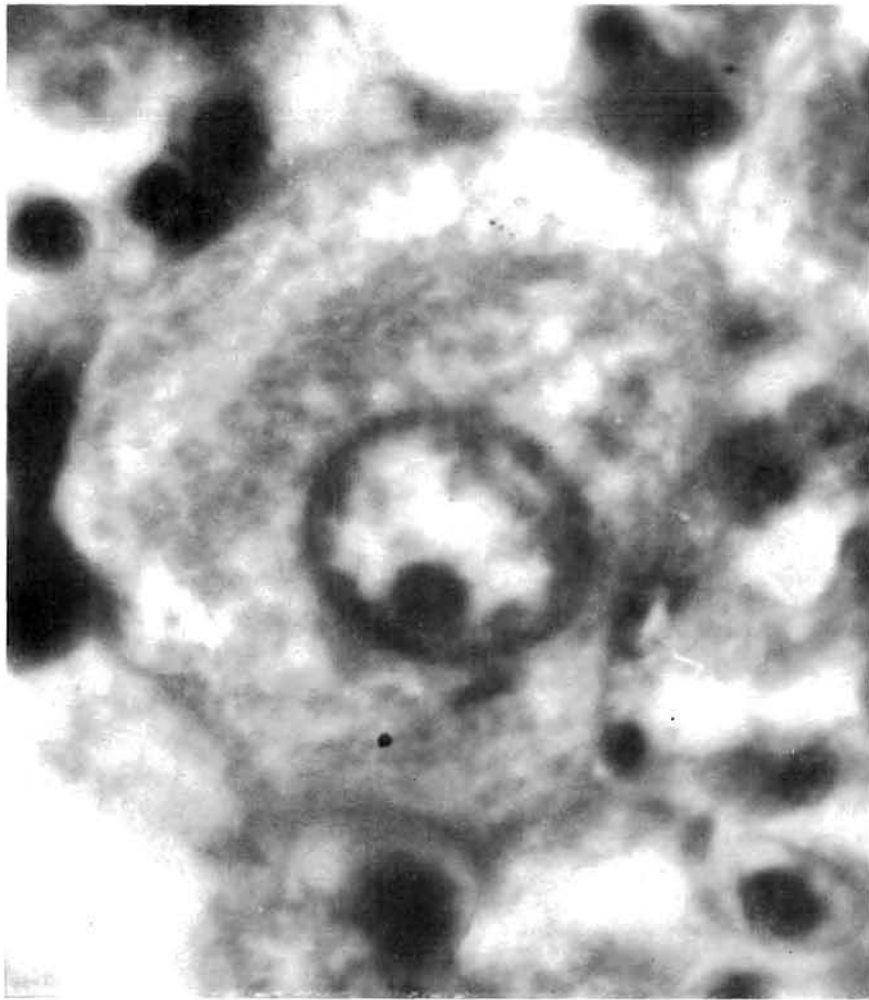


FIG. 8. — Coupe montrant fortement grossie une grande cellule localisée dans une lésion branchiale. Thionine picriquée ($G \times 2500$).

L'ensemble des observations effectuées sur des huîtres comportant des altérations au niveau des branchies et des palpes a fait apparaître d'une façon indiscutable, bien qu'incomplète, des caractéristiques communes à toutes les lésions. Histologiquement, les modifications sont profondes : le tissu conjonctif paraît plus dense et bouleversé dans son aspect général et les tissus épithéliaux, s'ils n'ont pas été entièrement détruits, sont désorganisés à un point tel qu'on ne peut reconnaître la structure qui leur est propre. Hormis les transformations tissulaires, il est remarquable qu'à toutes les lésions sont associées des cellules de grande dimension ayant une allure plus ou moins plasmodiale et se présentant souvent groupées. Il n'est pas moins remarquable que dans certaines zones favorables, à la limite marginale des lésions, s'observent des réseaux formés par des chaînes de cellules fusiformes, plus petites que les précédentes.

Il semble qu'il s'agisse là d'éléments identiques à ceux décrits par ARVY et FRANC (1968) qui pensent que la destruction des branchies serait imputable à l'action d'un protiste, rhizopode pouvant s'apparenter au *Labyrinthomyxa sauvageai* DUBOSCQ, parasite de *Laminaria lejolisi* SAUVAGEAU.

Les grandes cellules pourvues de prolongements pourraient en effet être à l'origine de « filoplasmodes » au niveau desquels se trouveraient des amibes fusiformes. Ces dernières, investissant les tissus épithéliaux provoqueraient le délabrement de ceux-ci par une action que des examens autres qu'histologiques permettraient peut-être de définir.

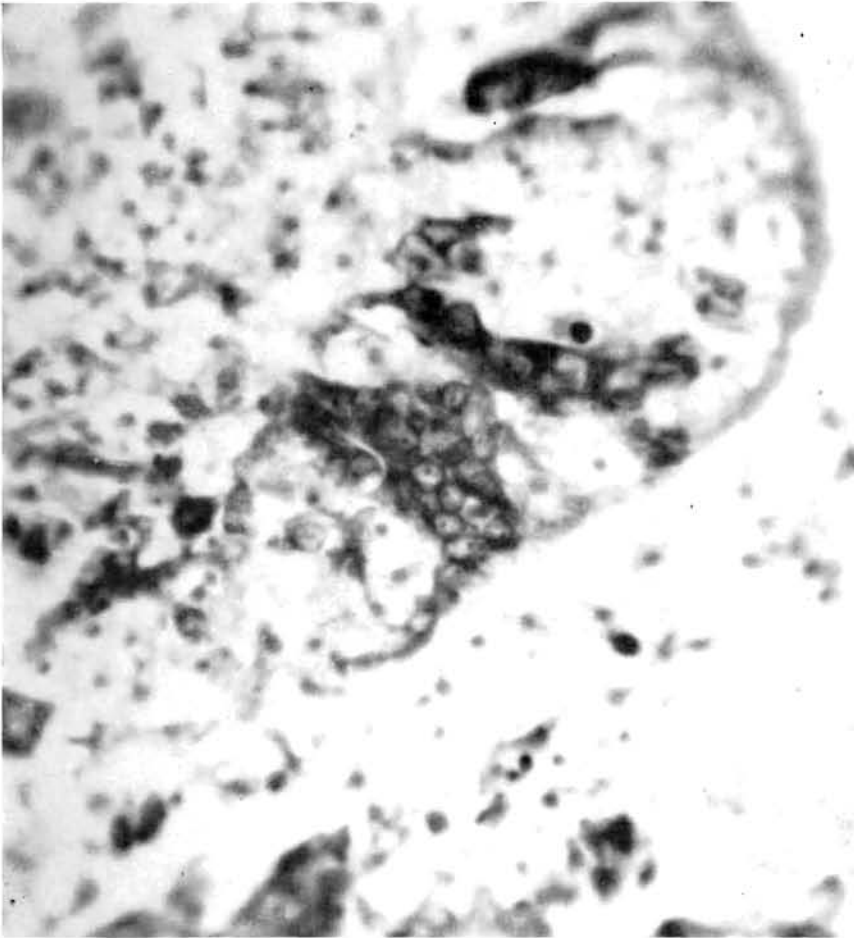


FIG. 9. — Coupes perpendiculaires aux filaments branchiaux montrant des chaînes et des amas de petites cellules fusiformes. Thionine picrique (G \times 1000).

Par ailleurs, il faut signaler que l'ensemble des cellules observées pouvant être considérées comme appartenant à un protiste, rappelle les différentes formes d'un organisme amœboïde signalé en 1956 sur *Crassostrea virginica* GMELIN et provoquant chez cette huître une affection désignée sous le nom d'« Amber disease » (MACKIN, 1961). Cet organisme se présente en particulier sous la forme d'amibes pourvues de pseudopodes filamenteux, très comparables aux grandes cellules observées dans les lésions des branchies et des palpes de *Crassostrea angulata* LMK. D'autre part, il possède un stade tophozoïte auquel pourraient correspondre certaines des cellules au contour régulier, plus ou moins ovoïdes, également visibles chez *C. angulata*.

Enfin le parasite mentionné par MACKIN comporte des groupements d'« amibes » analogues aux cellules fusiformes trouvées dans les zones marginales des lésions branchiales des huîtres portugaises malades.

Ces analogies, tant avec *Labyrinthomyxa sauvageai* DUBOSCQ qu'avec le protiste causant chez *Crassostrea virginica* GMELIN, l'« Amber disease », ne permettent pour le moment de formuler que des hypothèses quant à l'identité de l'organisme trouvé chez les huîtres portugaises altérées.

En fait, seule une culture du protiste observé permettrait de préciser sa nature et sa position systématique et surtout de confirmer son rôle actuellement supposé dans l'altération des branchies et des palpes de l'huître portugaise.

AUTEURS CONSULTÉS

- ARVY (L.) et FRANC (A.), 1968. — Sur un protiste nouveau, agent de la destruction des branchies et des palpes de l'huître portugaise. — *C.R. Acad. Sci.*, Paris, **267**, ser. D : 103-105.
- BESSE (P.), 1968. — Résultats de quelques observations sur une affection branchiale des huîtres (*Crassostrea angulata* LMK.). — *Bull. Acad. vet.*, **41** : 87-91.
- GRASSÉ (P.P.), 1953. — Super-classe des Rhizopodes. — *Traité de Zoologie*. Paris, MASSON et Cie Edit., 1 160 p., 883 fig., I (2) : 46-47; 481-486.
- LANGERON (M.), 1952. — Milieux d'observation et de conservation. — *Précis de microscopie* (6^e édition). Paris, MASSON et Cie Edit., 1 340 p., 386 fig. : 660; 923-924.
- MACKIN (J.G.), 1961 (1962). — Studies on oysters in relation to the oil industry. — *Publ. Inst. Mar. Sci. Univ. Texas.*, **7**, p. 215-217.
- MARTEIL (L.), 1968. — La « maladie des branchies ». — *Const. int. Explor. Mer*, n° K 5 (ronéo).
-