

Un épisode de forte mortalité de mollusques est souvent dû à une combinaison de plusieurs facteurs. La présence d'un agent pathogène n'est donc pas forcément l'unique cause. Un agent pathogène peut être détecté chez des mollusques même en l'absence de mortalité.

Des techniques de laboratoire permettent de **détecter** les agents pathogènes présents chez les mollusques marins :

- 1 l'histologie ,
- 2 les cultures bactériologiques ainsi que des techniques de biologie moléculaire,
- 3 la réaction de polymérisation en chaîne (PCR).

Ces méthodes de diagnostic sont dites « directes » car elles ciblent l'agent pathogène recherché. Les méthodes PCR ciblent la carte d'identité génétique (ADN ou ARN) des agents pathogènes.

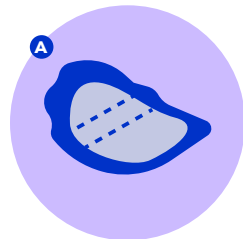
**Pour aller plus loin...**

Après la détection de l'agent pathogène, celui-ci est caractérisé de façon précise au moyen de deux techniques de biologie moléculaire, couramment utilisées pour identifier l'espèce ou même la souche :

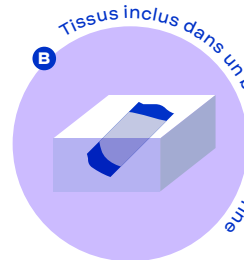
- Le **séquençage** permet de connaître la composition exacte du fragment d'ADN ou d'ARN amplifié de l'agent pathogène ;
- L'**hybridation in situ** permet de localiser un fragment d'ADN ou d'ARN cible (de l'espèce pathogène présente), sur une coupe (histologique) de tissu observée au microscope.

## 1 L'histologie ou étude des tissus biologiques

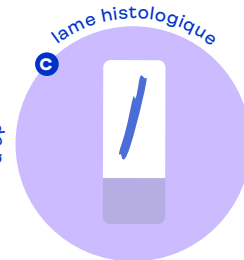
(observation au microscope)  
Cette méthode permet de détecter la présence de certains agents pathogènes ainsi que les lésions qu'ils peuvent provoquer dans les tissus des mollusques marins.



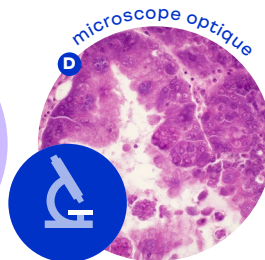
Un fragment de mollusque **A** est placé dans un liquide fixateur...



...puis imprégné de paraffine **B** permettant des coupes fines de tissus.



Ces coupes sont apposées sur une lame de verre **C**, colorées...



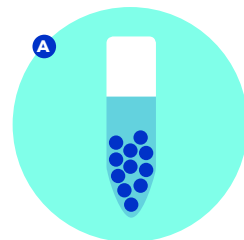
...puis observées au microscope **D**.

## 2 Les cultures bactériologiques

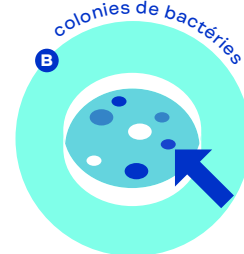
Cette méthode permet de cultiver et d'isoler les bactéries majoritairement présentes, chez les mollusques marins et dans l'eau de mer, afin de les identifier par la suite.



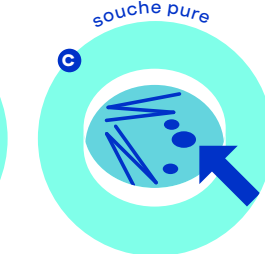
Les tissus de mollusques sont broyés **A**.



Le broyat est étalé sur un milieu de culture (gélose) contenant les éléments nutritifs nécessaires à la croissance des bactéries.



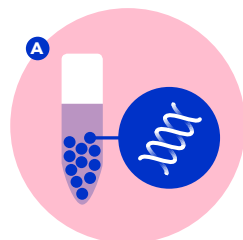
Les bactéries se multiplient et forment des colonies **B**.



Les colonies sont étalées sur un nouveau milieu de culture afin d'obtenir des souches pures **C**. Les souches pures peuvent être ensuite analysées par PCR, voir méthode suivante **3**.

## 3 La réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

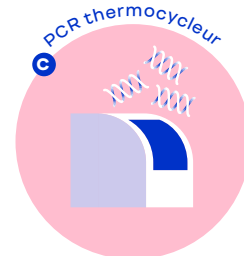
Cette technique de biologie moléculaire est utilisée pour identifier les agents pathogènes. Elle permet d'amplifier des millions de fois un fragment spécifique d'ADN ou d'ARN afin d'en obtenir une quantité suffisante pour le détecter.



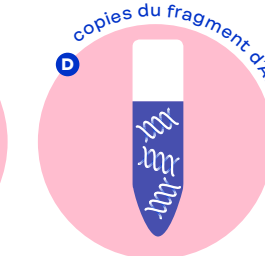
Les tissus de mollusques sont prélevés et placés dans un tube **A**.



Des réactifs sont ajoutés pour « digérer » les tissus afin d'en libérer l'acide nucléique (ADN ou ARN) contenu dans les cellules **B**.



**C** L'analyse par PCR consiste en une succession de réactions qui permettent la multiplication d'un fragment d'ADN...



**D** qui peut ainsi être détecté.