

Immunologie

QUELQUES ASPECTS DE L'IMMUNITÉ CHEZ LES MOLLUSQUES BIVALVES

par

Philippe ROCH

Les productions de mollusques bivalves subissent des fluctuations importantes dues principalement à des épisodes infectieux. Les micro-organismes incriminés sont variés et l'on y trouve aussi bien des bactéries que des protozoaires, des champignons ou des virus. Pour lutter contre les infections, les invertébrés ne possèdent pas d'immunité acquise, mais sont capables de réactions puissantes, non spécifiques et dépourvues de mémoire, regroupées sous le terme d'immunité innée, impliquant des processus aussi bien cellulaires qu'humoraux. Présents également chez les vertébrés, ces processus agissent en complément de l'immunité acquise.

Les hémocytes des mollusques peuvent être répartis en plusieurs populations cellulaires suivant des critères morphologiques. Lors d'une infection, les pourcentages relatifs de ces populations sont modifiés, sans que l'on en comprenne la signification. La phagocytose des pathogènes s'accompagne d'une production intra-hémocytaire de divers radicaux oxygénés qui interviennent dans la destruction des agents infectieux. Cependant, certains pathogènes sont capables d'inhiber spécifiquement la production de ces radicaux, se mettant ainsi à l'abri de leur toxicité. Il y aurait peut-être là une explication du succès de leur maintien chez l'hôte. Les protéines de stress ont un rôle dans la préservation des structures protéiques. Il a été montré qu'un stress de température déclenche la production de protéines spécifiques dans les hémocytes et que la présence de ces protéines serait en relation avec les saisons et la température des animaux durant l'exondaison.

Les mollusques possèdent également toute une panoplie d'effecteurs moléculaires, certains étant cytotoxiques, d'autres ayant une activité antimicrobienne. C'est ainsi que le plasma des moules contient naturellement une puissante activité cytolytique due à un complexe de masse moléculaire de 320 kDa capable d'oligomérisation à la surface des cellules pour créer des canaux transmembranaires.

L'activité antibiotique des moules repose sur de nombreux peptides répartis en plusieurs familles moléculaires dont la plupart a été séquencée. Stockés dans les granules des hémocytes, la libération des peptides est déclenchée par l'agression que représente la présence du pathogène mais non par une simple piqûre. Voisins des peptides cycliques des insectes, les peptides de moule s'en distinguent par la présence de 8 cystéines au lieu de 6, ce qui rend la molécule plus compacte. De manière constante, les précurseurs comportent deux séquences flanquantes, comme c'est le cas pour la tachyplesine de la limule.

Bulletin de la Société zoologique de France 124 (4)

Jusqu'à une date récente, les processus immunitaires des bivalves étaient largement inconnus. Ajoutés aux connaissances acquises chez les gastéropodes et les hirudiniées, ils permettent de replacer le système immunitaire des mollusques dans l'évolution des grandes fonctions biologiques.

Various aspects of bivalve mollusk immunity

The outcomes of marine bivalve farming are not secure, principally due to infectious diseases. All micro-organisms are involved, from bacteria to viruses, protozoans and fungi. To recover from infections, invertebrates do not possess acquired immunity, but they are capable of potent non-specific reactions, both humoral and cellular, belonging to the so-called innate immunity. Also present in vertebrates, innate immune reactions are considered as complementary to the acquired immune ones.

Mollusk hemocytes include several sub-populations according to morphological criteria. The percentages of these sub-populations were modified by the infection, putting in evidence the central role of these immune competent cells. As a general phenomenon, phagocytosis involve intra-hemocytic generation of reactive intermediate oxygen radicals which participated to the invader destruction. Meanwhile, some micro-organisms were capable of inhibiting the generation of radicals, escaping their toxicity and consequently succeeding in their pathogenicity.

Stress proteins are involved in preserving the protein structures. Heat shock induced the production of specific proteins into bivalve hemocytes. Such phenomenon would normally be used in the field according to the season or in relationship with recovery during tidal emersion.

Mollusks also possessed a large panel of molecular weapons, some of them being cytotoxic, others displaying antimicrobial activity. For instance, the mussel plasma contained a potent cytolytic activity due to a molecular complex of 320 kDa, acting by oligomerization at the cell membrane level, leading to the formation of transmembrane pores.

The mussel antibiotic activity involved numerous peptides belonging to several molecular families. Stored in the hemocyte granules, their release was triggered by pathogen entry but not by a sham injection. Closed to the insect cyclic peptides, the mussel peptides were originals as possessing eight cysteines instead of six, which argued in favour of a more compact molecular structure. Another characteristic was the constant existence of two extension sequences as reported only for *Limulus* tachiplesin.

Until recently, the bivalve immune capacities were largely unknown. In addition to the growing data obtained on gastropods and leeches, they contribute to the identification of the position of the mollusk immune system among the evolution of the fundamental biological functions.

Introduction

Le concept d'homologie tient une place centrale en biologie moderne. Il est basé sur la recherche de réactions et/ou d'effecteurs déjà connus chez d'autres groupes. Dès 1970, Susumo Ohno, alors chercheur au City of Hope de Duarte en Californie (USA), mentionnait que «rien dans l'évolution n'est créé *de novo* ; tout gène dérive de quelque chose de préexistant ». Nous sommes là au cœur du concept darwinien de descendance avec modifications successives, souvent mineures, et dont seules celles qui confèrent un avantage sélectif seront conservées. Ce concept est à la base de toute l'évolution de la vie sur Terre. Il est parfaitement applicable, non seulement aux espèces végétales et animales, mais aussi aux grandes fonctions biologiques, telle la fonction immunitaire.

Immunité chez les bivalves

On connaît l'énorme puissance et la complexité du système immunitaire des vertébrés et particulièrement des mammifères avec, comme corollaire, les nombreux processus de régulation nécessaires à la protection de l'individu. On connaît beaucoup moins les mécanismes de défense présents chez les invertébrés que sont les insectes, et l'on ne connaît pratiquement rien chez les mollusques. Pourtant, les invertébrés sont apparus sur Terre bien avant les vertébrés et leur succès évolutif est attesté par leur persistance jusqu'à nos jours. Ils ont donc développé des stratégies leur permettant de surmonter les diverses agressions du milieu, et notamment celles dues à des agents infectieux.

1. Évolution des réactions immunitaires

L'existence même de la vie nécessite d'être capable de se reconnaître (le soi) et/ou de discriminer ce qui est étranger (le non-soi). Cette notion de reconnaissance englobe des processus variés qui entrent aussi bien dans la construction de la colonie d'éponge ou de l'individu pluricellulaire à travers des processus d'adhésion, que dans la fécondation, la nutrition ou l'immunité. La phagocytose en est l'une des manifestations qui est probablement apparue pour des besoins alimentaires puis a évolué vers les mécanismes de défense. L'existence d'un polymorphisme allogénique, puis l'apparition de cellules immuno-compétentes avec mise en place d'une reconnaissance spécifique ont conduit à un système d'immunité cellulaire de plus en plus intégré (Figure 1). De ce point de vue, les mammifères représentent le sommet du développement avec de multiples populations lymphocytaires et monocytaires. L'immunité de nature humorale, c'est à dire mettant en

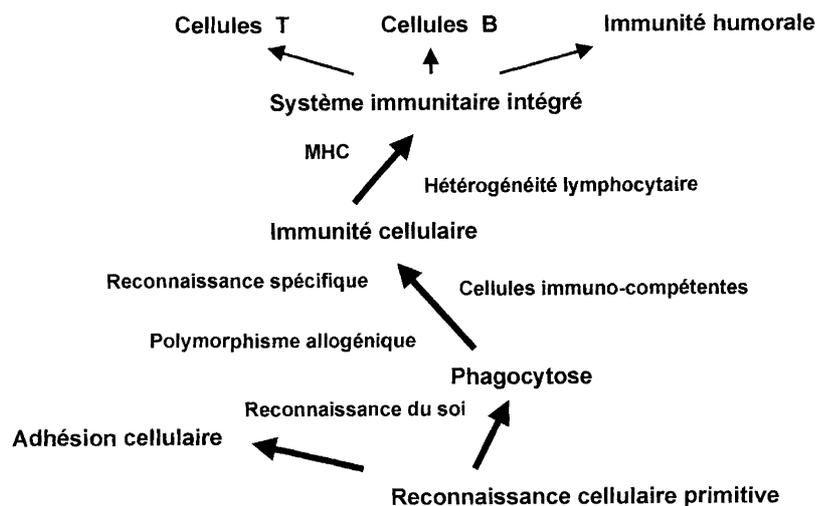


Figure 1

Schéma évolutif des processus immunitaires allant de la simple reconnaissance à l'existence d'un système intégré et montrant le continuum entre invertébrés et vertébrés.

Bulletin de la Société zoologique de France 124 (4)

jeux des protéines libres dans les liquides circulants, n'est pas l'apanage des vertébrés et de leurs immunoglobulines. Même si ces dernières en représentent l'état ultime de l'évolution actuelle, de nombreux autres effecteurs moléculaires sont découverts chez les invertébrés, et même chez les plantes, rendant ce système quasi universel.

La séparation des systèmes immunitaires entre vertébrés et invertébrés apparaît de plus en plus comme floue et probablement injustifiée. Il serait plus correct de parler de processus d'immunité innée, complétés et renforcés par une immunité de nature acquise (Tableau 1). Dans cette optique, l'immunité innée constitue un ensemble de réactions immédiates, toujours égales et non spécifiques, mettant en jeux des cellules spécialisées (granulocytes, macrophages) et de nombreux peptides. L'immunité acquise, quant à elle, nécessite un délai pour apparaître, comporte une mémoire du contact avec l'antigène ce qui induit une spécificité stricte. Elle met en jeux des cellules hautement spécialisées (les clones lymphocytaires) et des protéines hautement spécifiques (les immunoglobulines). En raison même de leurs différences fondamentales, immunité innée et immunité acquise ne sont pas opposables, mais bien plutôt complémentaires dans leur finalité. Si les invertébrés en sont, en général, au niveau évolutif de l'immunité innée, les vertébrés, et en particulier les mammifères, ont atteint le niveau de l'immunité acquise tout en conservant certaines caractéristiques de l'immunité innée, tels les peptides antimicrobiens.

Tableau 1

Quelques éléments caractéristiques des processus de l'immunité innée et de l'immunité acquise montrant leur complémentarité.

Immunité innée	Immunité acquise
Immédiate	Délai
Toujours égale	A mémoire (second set)
Non spécifique	Spécificité stricte
Spécialisation cellulaire	Clones cellulaires
Macrophages (granulocytes)	Lymphocytes
Peptides antimicrobiens	Immunoglobulines

2. Modifications cellulaires

Lors de la pénétration d'un pathogène dans un hôte, celui-ci réagit en mettant en place plusieurs réactions qui se traduisent par diverses modifications de son milieu intérieur, tant au niveau des cellules circulantes que de la composition du plasma. Du fait de leur facilité d'observation, les événements cellulaires furent les premiers à être étudiés.

a. Formule hémocytaire

Dans le cas de la palourde *Ruditapes philippinarum*, l'injection de la bactérie pathogène *Vibrio tapetis* produit une augmentation de la quantité globale des hémocytes circulants (OUBELLA *et al.*, 1994). Bien que débutant dès l'injection, cette augmentation est lente puisque le maximum n'est atteint que 14 jours après l'injection (Figure 2). Une quantité normale d'hémocytes n'est retrouvée qu'au bout de 4 semaines. Ce phénomène est bien dépendant de la présence du pathogène, et donc spécifique, car l'injection

Immunité chez les bivalves

d'une solution saline ne modifie pas la concentration des hémocytes circulants. Cependant, la question reste de savoir s'il y a multiplication ou simple mobilisation des hémocytes.

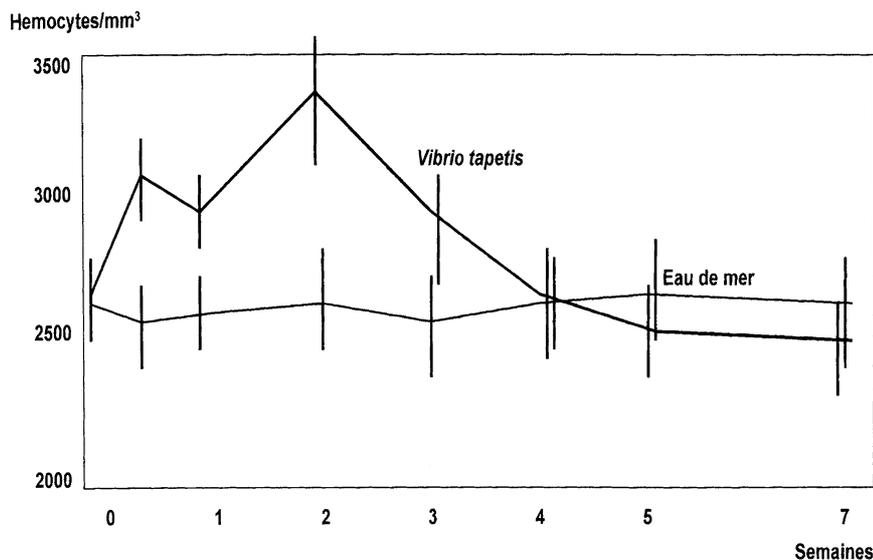


Figure 2

Augmentation de la concentration des hémocytes circulants chez des palourdes *Ruditapes philippinarum* ayant reçu une injection de bactéries pathogènes *Vibrio tapetis* par comparaison avec l'absence d'effet produit par une injection d'eau de mer (d'après OUBELLA *et al.*, 1994).

Des huîtres plates *Ostrea edulis* ont été élevées durant plusieurs générations en présence de leur pathogène, le protozoaire intra-hémocytaire *Bonamia ostreae*. On a ainsi sélectionné de manière empirique des animaux qui présentent une moindre sensibilité à ce pathogène. La comparaison des formules hémocytaires montre que les huîtres sélectionnées ont un déficit en grands hyalinocytes (BESNARD-COCHENNEC, 1997). Or, les grands hyalinocytes sont parmi les hémocytes ceux qui possèdent l'équipement enzymatique cytoplasmique le plus faible. Une explication de la moindre sensibilité de ces huîtres résiderait dans le fait qu'elles offrent moins d'opportunité de développement pour le parasite. Il ne s'agirait donc là, non pas d'une réponse immunitaire active de l'hôte, mais bien plutôt d'une élimination progressive des animaux dont le pourcentage élevé de grand hyalinocytes favorise le développement du parasite.

b. Phagocytose

Le processus de phagocytose peut être suivi et quantifié à travers l'émission de radicaux oxygénés intermédiaires (ROI) qui sont facilement dosés grâce à une réaction de chimioluminescence (BACHERE *et al.*, 1991). Les ROIs sont extrêmement toxiques et largement répandus chez les êtres vivants y compris chez l'homme. Difficilement détectables dans des macrophages au repos, leur quantité est énormément augmentée

lors de la phagocytose, faisant qualifier cette réaction de bouffée respiratoire. La pénétration du protozoaire *Perkinsus marinus* chez l'huître américaine *Crassostrea virginica* déclenche une phagocytose qui se traduit par une production de ROIs (Figure 3). Cependant, au bout de vingt minutes, la production de ROIs décroît fortement pour être ensuite totalement inhibée (VOLETY & CHU, 1995). Face à ce même protozoaire, l'huître japonaise *Crassostrea gigas* n'a pas le même comportement. Sa pénétration et sa phagocytose ne semblent pas beaucoup augmenter la production de ROIs, mais cette production reste constante (Figure 3). Il faut préciser que *P. marinus* ne produit pas de mortalité chez *C. gigas*, alors qu'il représente un parasite redoutable pour *C. virginica*. Il se pourrait que le parasite soit capable d'inhiber activement les processus oxydatifs chez *C. virginica*, se mettant ainsi à l'abri de la réponse de l'hôte, chose qu'il ne sait pas faire vis à vis de *C. gigas*.

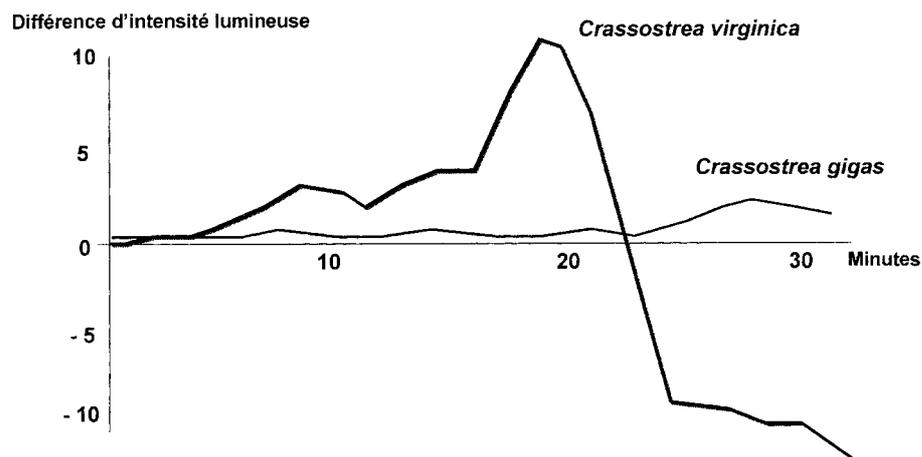


Figure 3

Différence comparative dans la capacité de production de radicaux oxygénés intermédiaires chez les huîtres *Crassostrea gigas* et *C. virginica* en présence du protozoaire *Perkinsus marinus*, parasite de *C. virginica*.

La capacité à produire des ROIs représenterait donc l'une des manifestations des capacités immunitaires des animaux. Cependant, une étude comparative menée entre plusieurs espèces dont les macrophages ont été stimulés par une substance chimique, du zymosan, montre des différences de comportement importantes (Figure 4). Certains mollusques comme *C. virginica* présentent une forte stimulation tandis que d'autres, comme *Mercenaria mercenaria* ou *Mya arenaria*, ne semblent pas réagir (ANDERSON, 1994). L'absence totale de production de ROIs a également été observée chez la palourde *Ruditapes decussatus* et la coque *Cerastoderma edule* (LOPEZ *et al.*, 1994) ainsi que chez *Corbicula japonica* (KUMAZAWA *et al.*, 1993) laissant supposer que cette réaction n'existe pas dans l'ordre des Veneroida.

Immunité chez les bivalves

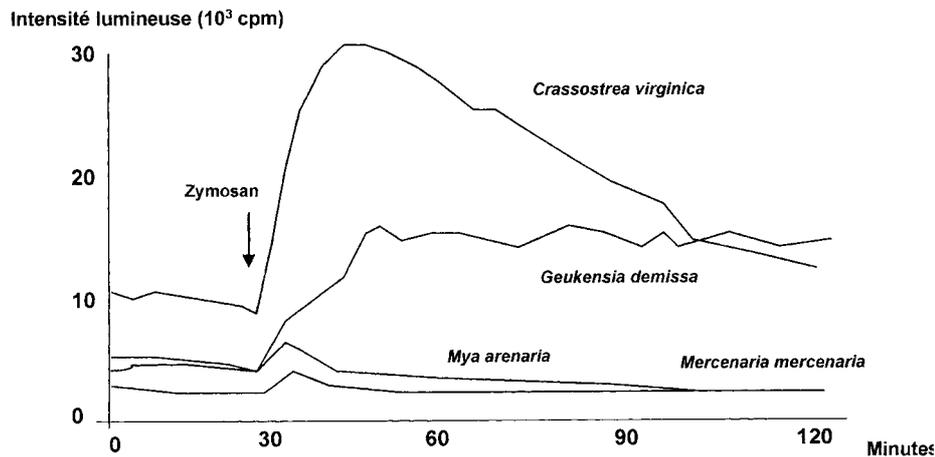


Figure 4

Comparaison de la capacité à produire des radicaux oxygénés intermédiaires chez quatre espèces de mollusques bivalves (d'après ANDERSON 1994).

3. Protéines de stress

Par réaction immunologique croisée à l'aide d'anticorps polyclonaux dirigés contre des protéines de stress de mammifères (ROBERTS *et al.*, 1997), il a été montré que les bivalves peuvent exprimer de telles protéines (Tableau 2). L'incorporation de traceurs radioactifs, a révélé que ces protéines sont néo-synthétisées à la suite de stress, et notamment de chocs thermiques d'où leur nom de hsp (HOFMANN & SOMERO, 1996 ; CLEGG *et al.*, 1998). Au moins deux familles de molécules sont constamment retrouvées : des protéines de 30 kDa et de 70 kDa. Les hémocytes en culture réagissent également à un choc thermique par la production de ces mêmes protéines (TIRARD *et al.*, 1995a).

Tableau 2

Principales protéines de choc thermique observées chez la moule *M. californianus* et chez les huîtres *C. gigas* et *C. virginica* (voir les références dans le texte).

<i>Mytilus californianus</i>	<i>Crassostrea gigas</i>	<i>Crassostrea virginica</i>
30		32
	34	34
	36	37
45		45
70	69 – 72 – 77	70 – 78
isoformes	isoformes	isoformes
		86

Plus intéressant est le fait que le parasite *Perkinsus marinus* réagit lui aussi à un choc thermique en élaborant des protéines particulières parmi lesquelles on retrouve les 30 et 70 kDa (TIRARD *et al.*, 1995b). On peut supposer que les processus mis en jeu, à la fois par le parasite pour envahir l'hôte et par l'hôte pour se débarrasser du parasite, représentent des stress réciproques qui se traduisent par la synthèse de ces protéines particulières. Bien que n'étant pas des effecteurs directs de la réponse immunitaire, les hsp peuvent être considérées comme faisant partie du système qui maintient l'intégrité de l'individu face aux agressions extérieures.

4. Activités humorales

a. Complexe cytolitique

Le plasma de la moule *Mytilus edulis* contient une activité cytolitique capable de lyser les hématies de nombreux vertébrés (LIEPPE & RENWRANTZ, 1988). Cette activité serait due à une protéine de 72 kDa ayant une activité de type estérase et qui agit à l'état de monomère (RENWRANTZ, 1990). Chez la moule de Méditerranée, *M. galloprovincialis*, la cytolysse est due à un hétéropolymère de 320 kDa formé de l'assemblage de trois espèces moléculaires (Figure 5) (ROCH *et al.*, 1996). Inactif sous cette forme circulante, la cytolysse nécessite la fixation des polymères sur la membrane plasmique, leur pénétration puis leur migration pour former des pores transmembranaires observables en microscopie électronique (HUBERT *et al.*, 1996a, 1997). Le mode d'action cytolitique de la moule serait donc semblable à celui décrit chez les Annélides, les Échinodermes et les Mammifères pour les défensines, les perforines, le complément ou les *pore-forming-proteins*. Il faut préciser que plusieurs gastéropodes marins du genre *Aplysia* possèdent également de puissantes activités cytolitiques dues elles aussi à de grosses protéines agissant sous forme multimérique (KISUGI *et al.*, 1992).

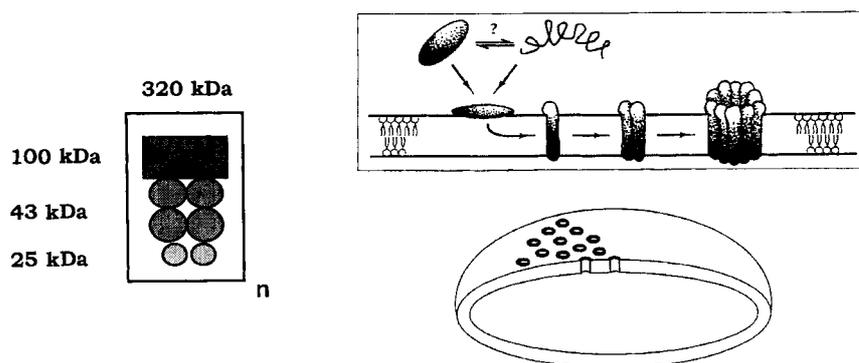


Figure 5

Structure moléculaire et interprétation du mode d'action du complexe cytolitique de la moule *Mytilus galloprovincialis* (d'après ROCH *et al.*, 1996 et HUBERT *et al.*, 1997).

Immunité chez les bivalves

L'activité de la moule se manifeste contre des hématies de vertébrés, des cellules tumorales de souris et même contre le protozoaire *Bonamia ostreae*, parasite des huîtres *Ostrea edulis*. Cependant, elle n'a aucun effet envers les souches bactériennes testées, ce qui laisse supposer une spécificité d'action envers les membranes eucaryotes, si l'on excepte les cellules du soi qui y sont insensibles. Présente chez toutes les moules testées, l'activité cytolitique est stimulée par injection de solution saline ou d'hématies. Interprétée comme étant le résultat d'une sécrétion accrue de molécules actives par les hémocytes, cette activité est perçue comme l'un des éléments de la stratégie de défense développée par les moules. L'existence d'une forte variabilité individuelle, non corrélée à la concentration protéique, ainsi que la réponse obtenue après stimulation, suggèrent que les moules prélevées dans la nature sont déjà plus ou moins engagées dans une réponse immunitaire.

b. Peptides antimicrobiens

A l'instar de nombreux insectes (voir la revue de BOMAN, 1995), les moules possèdent toute une panoplie de peptides d'environ 4 kDa dont les capacités antimicrobiennes commencent à être élucidées (Tableau 3). Ces peptides se trouvent aussi bien dans le plasma que dans les hémocytes circulants. Il s'agit toujours de peptides cycliques, riches en cystéines, comportant généralement 4 ponts disulfures intra chaîne. Seuls 2 peptides, dénommés défensine chez *M. edulis* (CHARLET *et al.*, 1996) et MGD-1 chez *M. galloprovincialis* (HUBERT *et al.*, 1996b), possèdent des caractéristiques qui les rapprochent des défensines d'arthropodes. Mytilines, myticines et mytimycine ont des structures primaires originales. De plus, ces peptides comprennent plusieurs isoformes chacun.

Tableau 3

Quelques exemples de peptides antimicrobiens isolés des moules *Mytilus edulis* et *M. galloprovincialis* (complété d'après HUBERT *et al.*, 1996b et CHARLET *et al.*, 1996).

Nom	<i>Mytilus</i>	Acides aminés	kDa	Cystéines
Mytiline A Mytiline B	<i>edulis</i>	34	3,7	8
Mytiline Ga Mytiline Gb	<i>galloprovincialis</i>	36	4	8
Défensine A Défensine B	<i>edulis</i>	35 - 37	4,3	6
MGD-1a MGD-1b	<i>galloprovincialis</i>	39	4,4	8
Myticine 1a Myticine 1b	<i>galloprovincialis</i>	39	4,4	8
MG2	<i>galloprovincialis</i>	39	4,4	8
Mytimycine	<i>edulis</i>	partielle sur 32	6,2	probable 12

Bulletin de la Société zoologique de France 124 (4)

L'analyse des ADNc a permis de déterminer que les peptides sont synthétisés sous forme de précurseurs dotés de caractéristiques communes : un peptide signal, suivi du peptide mature et d'une pro-région en C-terminal. Alors que les fonctions du peptide signal (adressage à la lumière du reticulum endoplasmique) et du peptide mature (activité antimicrobienne) sont définies, la fonction de la pro-région reste inconnue. L'existence même d'une pro-région est inhabituelle chez les peptides antimicrobiens des invertébrés, puisqu'elle n'est retrouvée que pour la tachyplésine de limule (SHIGENAGA *et al.*, 1990).

Par chromatographie analytique, nous avons montré que les peptides se trouvent à 95% dans les granules des hémocytes et seulement à 5% dans le plasma, sans savoir s'il ne s'agit pas d'un artefact intervenant lors du prélèvement des liquides. Suite à une injection de bactéries, il y a augmentation de la quantité relative des ARNm codant MGD-1, 24 h après la stimulation, alors que, dans le même temps, on observe une baisse aussi bien pour la myticine que pour la mytiline. Par la suite, on note une chute drastique des ARNm codant MGD-1 après 48 et 72 h ainsi qu'un maintien relativement bas des niveaux d'expression des messagers codant la myticine et la mytiline. Un retour au niveau des contrôles ne sera retrouvé que 11 jours après stimulation, et ce pour les trois peptides. Les hypothèses avancées comprennent soit une régulation transcriptionnelle des gènes, soit une expression dans un type cellulaire dont la représentativité varie à la suite de l'injection.

Outre une activité inhibitrice contre la bactérie Gram + *M. luteus*, avec des concentrations inhibitrices minimales (MIC) de 0,3 à 1,2 μM et des concentrations bactéricides minimales (MBC) de 0,6 à 5 μM , seule la mytiline présente une activité significative contre la bactérie Gram - *E. coli* avec une MIC et une MBC de 0,17 à 0,34 μM . La synthèse chimique de MGD-1 a été réalisée dans le but d'établir la structure tridimensionnelle et de pouvoir modifier le peptide pour étudier la relation structure-fonction dans le cas d'une défensine, certes connue chez les arthropodes, mais adaptée à la forte force ionique du milieu marin. Les premières données montrent que le peptide synthétique se replie de telle façon qu'il possède la même activité que le peptide natif et que la présence des ponts disulfures est indispensable à l'activité.

Discussion

Les grandes fonctions biologiques ont une finalité clairement définie. Par exemple, la reproduction assure la pérennité de l'espèce tandis que la nutrition apporte à l'organisme l'énergie nécessaire à son fonctionnement. L'immunité, quant à elle, gère les rapports avec le monde extérieur. Ainsi, le système immunitaire est à l'interface, assurant la communication entre l'individu et son environnement. Si des espèces sont parvenues jusqu'à nous, c'est qu'elles ont trouvé un équilibre entre les agressions du milieu externe et la façon de juguler ces agressions. Cet équilibre n'est pas statique mais en constante remise en cause, ce qui nous ramène au concept d'évolution, ou plutôt de co-évolution de l'hôte et de ses pathogènes. L'étude des pathologies consiste en fait le plus souvent à étudier l'adaptation du vivant à son environnement, englobant la notion de stress au sens large, l'infection étant alors considérée comme créant un stress biologique.

Immunité chez les bivalves

De par sa nature, le système immunitaire s'exprime au niveau individuel et les diverses réactions qui le composent ne sont pas homogènes d'un individu à l'autre, introduisant la notion de variabilité individuelle. On a donc un glissement du niveau de compétence immunitaire de l'espèce vers l'individu. Ceci est particulièrement vrai dans le cas de l'immunité acquise où chaque individu s'avère très tôt différent alors que les potentialités du départ étaient, *a priori*, identiques. Par contre, ceci semble faux dans le cas de l'immunité innée où l'on peut considérer que tous les individus partagent les mêmes capacités invariables. Il y a donc exclusion de la notion d'individu chez les invertébrés où seule la survie de l'espèce compte. L'individu n'a pas d'importance, comme cela semble être le cas dans les sociétés de fourmis, d'abeilles ou de termites, à l'exception de quelques génitrices dont le rôle pour l'espèce est évident.

Le raisonnement précédant suppose que, à un instant donné et au sein d'une population d'invertébrés précise, tous les individus soient au même état de réactivité immunitaire, c'est à dire tous au repos ou engagés au même niveau dans une réponse immunitaire. Pourtant, ceci n'est qu'une vue de l'esprit et l'on s'en rend très vite compte dès que l'on quantifie les réactions au niveau individuel. Il faut bien admettre l'existence d'une variabilité individuelle des invertébrés, mais qui repose cette fois-ci sur notre carence à définir un état normal dit de repos. Par opposition, nous ne savons pas également définir les modalités d'une stimulation des réactions immunitaires, particulièrement chez les bivalves, et ceci entrave largement nos essais de compréhension d'un système qui s'avère plus complexe que supposé.

UMR 219 Défense et Résistance chez les Invertébrés Marins (DRIM),
 Université de Montpellier 2, cc 80, Place E. Bataillon, F-34095 Montpellier Cedex 5
 Tel : 04 67 14 46 25 - Fax : 04 67 14 46 22 - e-mail proch@ifremer.fr

RÉFÉRENCES

- ANDERSON, R. S. (1994).- Hemocyte-derived reactive oxygen intermediate production in four bivalve mollusks. *Dev. Comp. Immunol.*, **18**, 89-96.
- BACHÈRE, E., HERVIO, D. & MIALHE, E. (1991).- Luminol-dependent chemiluminescence by hemocytes of two marine bivalves, *Ostrea edulis* and *Crassostrea gigas*. *Dis. Aquat. Org.*, **11**, 173-180.
- BESNARD-COCHENNEC, N. (1997).- La bonamiose : caractérisation du parasite *Bonamia ostreae* et étude de ses interactions avec l'hôte, l'huître plate *Ostrea edulis*. *Mémoire EPHE Sciences de la Vie et de la Terre*, p. 1-173.
- BOMAN, H. G. (1995).- Peptide antibiotics and their role in innate immunity. *Annu. Rev. Immunol.*, **13**, 61-92.
- CHARLET, M., CHERNYSH, S., PHILIPPE, H., HETRU, C., HOFFMANN, J. & BULET, P. (1996).- Innate immunity. Isolation of several cysteine-rich antimicrobial peptides from the blood of a mollusc, *Mytilus edulis*. *J. Biol. Chem.*, **271**, 21808-21813.
- CLEGG, J.S., UHLINGER, K.R., JACKSON, S.A., CHERR, G.N., RIFKIN, E. & FRIEDMAN C.S. (1998).- Induced thermotolerance and the heat shock protein-70 family in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Mol. Marine Biol. Biotechnol.*, **7**, 21 :30.

Bulletin de la Société zoologique de France 124 (4)

- HOFMANN, G.E. & SOMERO, G.N. (1996).- Protein ubiquitination and stress protein synthesis in *Mytilus trossolus* occurs during recovery from tidal emersion. *Mol. Marine Biol. Biotechnol.*, **5**, 175-184.
- HUBERT, F., COOPER, E.L. & ROCH, P. (1997).- Structure and differential target sensitivity of the stimuable cytotoxic complex from hemolymph of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Biochim. Biophys. Acta*, **1361**, 29 :41.
- HUBERT, F., NOËL, T. & ROCH, P. (1996b).- A member of the arthropod defensin family from edible Mediterranean mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *Eur. J. Biochem.*, **240**, 302-306.
- HUBERT, F., VAN DER KNAAP, W., NOËL, T. & ROCH, P. (1996a).- Cytotoxic and antibacterial properties of *Mytilus galloprovincialis*, *Ostrea edulis* and *Crassostrea gigas* (bivalve molluscs) hemolymph. *Aquat. Living Resour.*, **9**, 115-124.
- KISUGI, J., OHYE, H., KAMIYA, H. & YAMAZAKI, M. (1992).- Biopolymers from marine invertebrates. XIII. characterization of an antibacterial protein, dolabellin A, from the albumen gland of the sea hare, *Dolabella auricularia*. *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 1537-1539.
- KUMAZAWA, N.H., MORIMOTO, N. & OKAMOTO, Y. (1993).- Luminol-dependent chemiluminescence of hemocytes derived from marine and estuarine molluscs. *J. Vet. Sci.*, **55**, 287-290.
- LEIPPE, M. & RENWRANTZ, L. (1988).- Release of cytotoxic and agglutinating molecules by *Mytilus* hemocytes. *Develop. Comp. Immunol.*, **12**, 297-308.
- LOPEZ, C., VILLALBA, A. & BACHERE, E. (1994).- Absence of generation of active oxygen radicals coupled with phagocytosis by the hemocytes of the clam, *Ruditapes decussatus* (Mollusca : Bivalvia). *J. Invertebr. Pathol.*, **64**, 188-192.
- MIYATA, T., TOKUNAGA, F., YONEYA, T., YOSHIKAWA, K., IWANAGA, S., NIWA, M., TAKAO, T. & SHIMONISHI, Y. (1989).- Antimicrobial peptides, isolated from horseshoe crab hemocytes, tachyplesin II, and polyphemusins I and II : chemical structures and biological activity. *J. Biochem.*, **106**, :663-668.
- OUBELLA, R., PAILLARD, C., MAES, P. & AUFFRET, M. (1994).- Changes in hemolymph parameters in the manila clam *Ruditapes philippinarum* (Mollusca Bivalvia) following bacterial challenge. *J. Invertebr. Pathol.*, **64**, 33-38.
- RENWRANTZ, L. (1990).- Internal defense system of *Mytilus edulis*. In *Neurobiology of Mytilus edulis*, G. Ed., Manchester University Press, pp. 256-275.
- ROBERTS, D.A., HOFMANN, G.E. & SOMERO, G.N. (1997).- Heat-shock protein expression in *Mytilus californianus* : acclimatization (seasonal and tidal-height comparisons) and acclimation effects. *Biol. Bull.*, **192**, 309-320.
- ROCH, P., HUBERT, F., VAN DER KNAAP, W. & NOËL, T. (1996).- Present knowledge on the molecular basis of cytotoxicity, antibacterial activity and stress response in marine bivalves. *Ital. J. Zool.*, **63**, 311-316.
- SHIGENAGA, T., MUTA, T., TOH, Y., TOKUNAGA, F. & IWANAGA S. (1990).- Antimicrobial tachyplesin peptide precursor : cDNA cloning and cellular localization in the horseshoe crab. *J. Biol. Chem.*, **265**, 21350-21354.
- TIRARD, C.T., GROSSFELD, R.M., LEVINE, J.F. & KENNEDY-STOSKOPF, S. (1995a).- Effect of hyperthermia *in vitro* on stress protein synthesis and accumulation in oyster haemocytes. *Fish Shellfish Immunol.*, **5**, 9-25.
- TIRARD, C.T., GROSSFELD, R.M., VOLETY, A.K. & CHU, F.L.E. (1995b).- Heat shock proteins of the oyster parasite *Perkinsus marinus*. *Dis. Aquat. Org.*, **22**, 147-151.
- VOLETY, A.K. & CHU, F.L.E. (1995).- Suppression of chemiluminescence of eastern oyster (*Crassostrea virginica*) hemocytes by the protozoan parasite *Perkinsus marinus*. *Develop. Comp. Immunol.*, **19**, 135-142.