

Unité Amélioration Génétique, Santé Animale et Environnement
 Laboratoire de Génétique et de Pathologie de La Tremblade

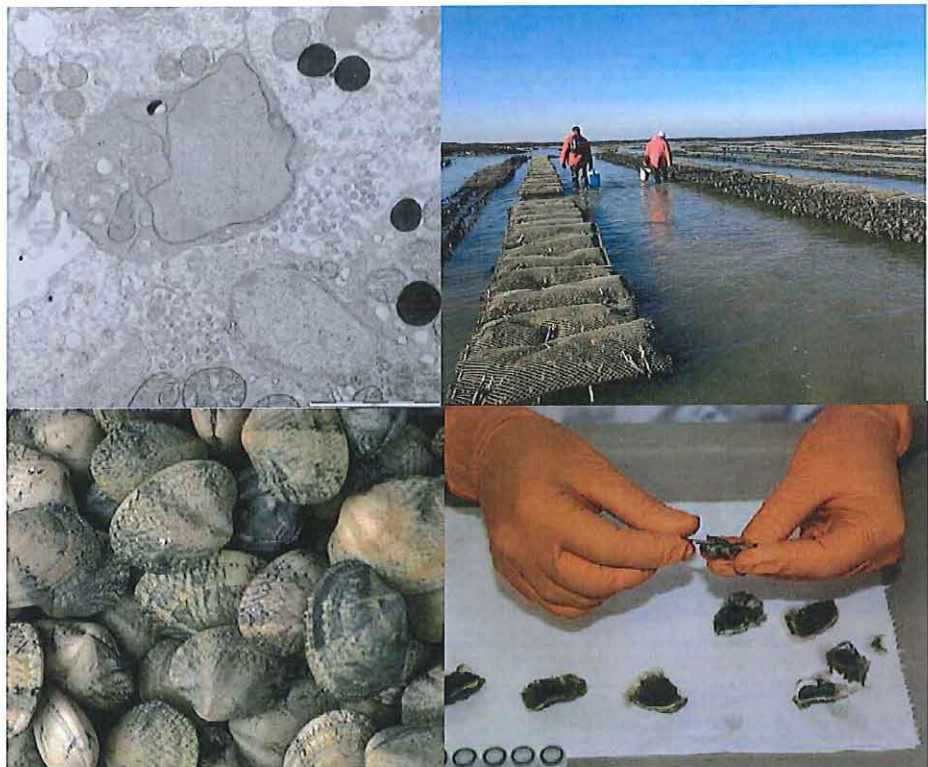
Benjamin Guichard, Cyrille François, Jean-Pierre Joly, Céline Garcia, Denis Saulnier,
 Jean-François Pépin, Isabelle Arzul, Emmanuelle Omnes, Delphine Tourbiez, Nicole
 Faury, Philippe Haffner, Bruno Chollet, Maeva Robert, Tristan Renault

et

Fabienne Rauflet, Éric Le Gagneur, Michel Ropert, Gilbert Mouillard, Daniel Gerla,
 Jean-Pierre Annezo, Dominique Le Gal, Aimé Langlade, Edouard Bédier, Stéphane
 Bréerette, Jean-Michel Chabirand, James Grizon, Stéphane Robert, Olivier Courtois,
 Myriam Rumebe, Christian Cantin, Patrick Le Gall, Marc Bouchoucha, Yoann Baldi,
 Christophe Ravel, Jean-Claude Masson et Anne-Geneviève Martin.

Bilan 2010 du réseau Repamo

Réseau national de surveillance de la santé des
 mollusques marins



Fiche documentaire

Diffusion : libre <input type="checkbox"/> restreinte <input checked="" type="checkbox"/> interdite <input type="checkbox"/>	Date de publication : 2011 Nombre de page : 22 Bibliographie : Non Illustration(s) : Oui Langue du rapport : Français
Titre et sous titre du rapport : Bilan 2010 du réseau Repamo Réseau national de surveillance de la santé des mollusques marins	
Auteur(s) principal(aux) : Guichard Benjamin - François Cyrille - Joly Jean-Pierre - Garcia Céline - Saulnier Denis - Pépin Jean-François - Arzul Isabelle - Omnes Emmanuelle - Delphine Tourbiez Chollet Bruno - Faury Nicole – Haffner Philippe - Robert Maeva - Renault Tristan	Organisme / Direction / Service, laboratoire RBE-AGSAE-LGP
Collaborateur(s) : Rauflet Fabienne Le Gagneur Eric - Ropert Michel Mouillard Gilbert - Gerla Daniel Annezo Jean-Pierre - Le Gal Dominique Langlade Aimé - Edouard Bédier Bréerette Stéphane Chabirand Jean-Michel – Grizon James Robert Stéphane - Courtois Olivier Rumebe Myriam – Cantin Christian Le Gall Patrick Bouchoucha Marc - Baldi Yoann - Ravel Christophe Masson Jean-Claude Martin Anne-Geneviève	Organisme / Direction / Service, laboratoire Ifremer/LER/LERBL Ifremer/LER/LERN Ifremer/LER/LERSM Ifremer/LER/LERCC Ifremer/LER/LERMPL Ifremer/LER/LERMPL Ifremer/LER/LERPC Ifremer/LER/LERPC Ifremer/LER/LERAR Ifremer/LER/LERLR Ifremer/LER/LERPAC Ifremer/DYNECO/VIGIES Ifremer/LER/LERMPL
Travaux universitaires : Diplôme : _____ Discipline : _____ Etablissement de soutenance : _____ Année de soutenance : _____	
Titre du contrat de recherche : REPAMO	N° de projet IFREMER : PJ0701/A070102A
Organisme commanditaire : Mission institutionnelle d'IFREMER à la demande de la Direction Générale de l'Alimentation (DGAl)	
Organisme(s) réalisateur(s) : Ifremer, Laboratoire de Génétique et Pathologie, 17390 La Tremblade	
Responsable scientifique : B. Guichard	
Cadre de la recherche : Projet : PJ0701-Observations, analyse et prévision des performances conchyliques Action : A070102A - REPAMO	

Résumé :

Créé en 1992, le réseau REPAMO (REseau de PATHologie des MOllusques) est un réseau de surveillance de la santé des mollusques marins du littoral français. Son activité s'inscrit dans le cadre de la Directive Européenne 2006/88/CE. Les objectifs du réseau sont de prévenir l'introduction et la propagation d'organismes pathogènes, en particulier ceux à déclaration obligatoire et de surveiller l'évolution de ceux déjà présents sur le territoire national. Ces activités font parties des missions institutionnelles de l'IFREMER.

La surveillance assurée par le réseau vise en premier lieu les infections à déclaration obligatoire présentes en France, la bonamiose à *Bonamia ostreae* chez l'huître plate *Ostrea edulis* et la marteilliose à *Marteilia refringens* chez l'huître plate *Ostrea edulis* et les moules *Mytilus edulis* et *M. galloprovincialis*. Le secteur en attente d'agrément vis-à-vis de ces deux maladies est la zone X. En accord avec l'autorité compétente, il a été décidé de suspendre cette surveillance depuis 2007 (difficulté d'accès à la ressource et très faible densité en huîtres plates en zone X).

L'étude des cas des hausses de mortalités a été poursuivie avec 81 lots prélevés et analysés et 42 constats rédigés pour les huîtres creuses. Comme en 2009, des hausses de mortalités d'huîtres creuses (*Crassostrea gigas*) ont été recensées dans l'ensemble des bassins de production principalement en période estivale. Le naissain d'huîtres creuses a été principalement atteint (89 % des lots analysés), avec des taux de mortalité calculés particulièrement élevés. Aucun agent à déclaration obligatoire n'a été détecté dans les lots d'huîtres creuses analysés. Des agents viraux (herpèsvirus OsHV-1) et bactériens (bactéries du groupe de *Vibrio splendidus*, principalement) ont été détectés seuls ou en association dans de nombreux échantillons prélevés au cours des épisodes de mortalité 2010 aussi bien chez les huîtres creuses prélevées chez les producteurs que sur les animaux de l'observatoire conchylicole Ifremer. Il est à noter que les analyses en biologie moléculaire pour la recherche de l'herpès virus OsHV-1 et des bactéries *Vibrio aestuarianus* et *V. splendidus* sur les échantillons d'huîtres creuses prélevés au cours des épisodes de mortalité 2010 ont été réalisés par la cellule analytique du Laboratoire de Génétiques et de Pathologie (LGP) et par des laboratoires d'analyses externes agréés, pour lesquels deux essais de comparaison interlaboratoire ont été réalisés en 2010.

Des mortalités ont également affecté d'autres espèces de mollusques en élevage (moules, *Mytilus edulis*, dans le Nord-Pas-de-Calais, la Picardie, le Finistère et la Charente-Maritime) et en gisements naturels (flions tronqués, *Donax trunculus*, à Oléron, Quiberon, en baie d'Audierne et de Douarnenez). Un protozoaire du genre *Mikrocytos*, distinct des espèces connues chez d'autres mollusques bivalves a été détecté dans trois prélèvements de flions tronqués. Ce parasite a également été retrouvé dans un prélèvement de flions tronqués réalisé en 2008 dans le cadre de mortalités anormales, et fera l'objet d'une étude particulière en 2011.

Pour les années 2008- 2010, la surveillance zoosanitaire des populations élevées et sauvages de mollusques visait à caractériser les espèces des parasites *Bonamia* chez l'huître plate *Ostrea edulis* dans les principaux sites français de captage, de production et les gisements naturels. Les parasites *Bonamia ostreae* et *Bonamia exitiosa* ont été détectés en 2009 dans l'étang de Diana en Corse. En 2010, les recherches se sont focalisées sur l'étang de Diane, avec trois prélèvements de 150 individus en mai, août et novembre. Des *Bonamia* sp. ont été détectés dans chaque prélèvement et sont en cours de caractérisation pour en déterminer l'espèce.

Mots clés : réseau, surveillance, pathologie, mollusques, coquillages, santé

Table des matières

1. Objectifs et fonctionnement du Repamo	3
1.1. Rappel des objectifs et missions du réseau	3
1.2. Structure du réseau Repamo	3
1.3. Fonctionnement du réseau	5
1.3.1. <i>Recueil des commémoratifs et des prélèvements</i>	5
1.3.2. <i>Diffusion de l'information</i>	5
2. Stratégies d'échantillonnage en 2010	7
3. Résultats de la surveillance de la santé des mollusques en 2010	7
3.1. Etude des hausses de mortalité	7
3.1.1. <i>Définition et objectifs</i>	7
3.1.2. <i>Evènements mortalités par grand secteur de production conchylicole</i>	8
3.2. Surveillance zoosanitaire des populations élevées et sauvages de mollusques	15
3.2.1. <i>Objectifs et choix de la surveillance zoosanitaire</i>	15
3.2.1.1 <i>Objectifs et choix de la surveillance zoosanitaire</i>	15
3.2.1.2 <i>Plan d'échantillonnage des huîtres plates</i>	15
3.2.1.3 <i>Plan d'échantillonnage des huîtres plates</i>	16
3.2.2. <i>Surveillance du virus OsHV-1</i>	17
4. Conclusions et perspectives	18
Annexe : contacts avec les acteurs du Repamo	20

1. Objectifs et fonctionnement du Repamo

1.1. Rappel des objectifs et missions du réseau

• Le réseau Repamo (REseau de PATHologie des MOLLusques), est un réseau de surveillance visant à suivre l'état de santé des mollusques du littoral français métropolitain, qu'ils soient sur des gisements naturels ou en élevage. Il assure une mission réglementaire et une activité de service public déléguée par le (MAAPRAT) à travers la Direction Générale de l'Alimentation (DGAI). Il répond aux exigences réglementaires, en particulier à celles de la Directive 2006/88/CE relative aux conditions de police sanitaire applicables aux animaux et aux produits d'aquaculture, et relative à la prévention de certaines maladies chez les animaux aquatiques et aux mesures de lutte contre ces maladies.

• Les objectifs du réseau sont de surveiller l'état de santé des mollusques du littoral français et d'en dresser une image de référence, de prévenir l'introduction et la propagation d'organismes pathogènes, en particulier ceux à déclaration obligatoire, et de surveiller l'évolution de ceux déjà présents sur le territoire national.

• Ces objectifs sont assurés par l'application de trois protocoles d'épidémiologie :

(I) Surveillance des maladies à déclaration obligatoire présentes en France : l'infection à *Bonamia ostreae* et l'infection à *Marteilia refringens*

(II) Etude des cas de hausses de mortalité chez toutes les espèces de mollusques élevées et sauvages

(III) Surveillance de la santé des populations élevées et sauvages de mollusques en dehors des situations de hausse de mortalité

1.2. Structure du réseau Repamo



Figure 1 : localisation des acteurs du réseau Repamo

Correspondants repamo ★

- Au sein des laboratoires Ifremer LER (Laboratoire Environnement Ressources), répartis sur le littoral, des correspondants Repamo sont identifiés de manière à représenter le réseau localement sur le terrain (Figure 1). En 2010, le réseau s'est appuyé sur 11 correspondants titulaires et 8 correspondants suppléants.
- Les correspondants ont en charge la gestion du planning des prélèvements de leur secteur, la réalisation des prélèvements pour répondre aux objectifs du réseau, le recueil et la saisie sous la base de données Repamo des commémoratifs associés aux prélèvements et l'expédition des prélèvements vers les laboratoires d'analyses.

Coordination du réseau ●

- La coordination du réseau est assurée par un coordinateur (Dr Vétérinaire) , agent du LGP et localisé à La Tremblade.
- Le travail de coordination consiste à harmoniser les activités des différents acteurs du réseau, informer et former les acteurs du réseau, élaborer la stratégie de surveillance du réseau et la réactualiser en fonction du contexte réglementaire, scientifique et socio-économique, diffuser les résultats de la surveillance.

Agents responsables de la base de données Repamo et des sites intranet/internet.

- La gestion et l'amélioration de la base de données sont assurées par deux agents localisés à La Trinité sur Mer et à Nantes. Ces opérations entrent dans l'ensemble des actions concernant la gestion des données aquacoles et l'information associée. Elles sont réalisées en coopération avec les services DYNECO/VIGIES (Service Valorisation de l'Information pour la Gestion Intégrée et la Surveillance), IDM/ISI (Ingénierie des Systèmes Informatiques) et les utilisateurs de la thématique aquacole.
- La base de données Repamo permet la saisie des informations concernant les constats et les lots de mollusques prélevés et analysés dans le cadre des missions du réseau ou lors d'études en pathologie. Elle est accessible aux correspondants Repamo, à la coordination, au personnel de la Cellule Analytique du LGP.

Partenaires du réseau

Les différents partenaires du réseau Repamo sont :

- Les professionnels conchyliculteurs, pêcheurs et expéditeurs,
- L'autorité compétente (Direction Générale de l'Alimentation, bureau de la Santé Animale - DGAI) et les services déconcentrés (Directions Départementales des Territoires et de la Mer - DDTM).
- Les agents Ifremer, en particulier ceux du LGP de La Tremblade, impliqués dans le développement de nouveaux outils diagnostiques et l'acquisition de connaissances sur la pathogénie et l'épidémiologie des maladies infectieuses des mollusques.
- La Cellule Analytique du LGP La Tremblade réalise sous accréditation les analyses en cytologie et histologie et sous démarche qualité l'ensemble des autres analyses des échantillons de mollusques prélevés par le réseau Repamo.
- Les laboratoires d'analyses externes agréés pour la réalisation d'analyses en biologie moléculaire pour la recherche du virus OsHV-1 et des bactéries *Vibrio aestuarianus* et *V. splendidus* chez *Crassostrea gigas* dans le cadre du protocole II d'étude des hausses de mortalité.

1.3. Fonctionnement du réseau

1.3.1. Le recueil des commémoratifs et des prélèvements

- Pour tout prélèvement, le recueil des informations de terrain ou commémoratifs (historique, zootechnie, données environnementales, typologie des mortalités...) est assuré par les correspondants Repamo à l'aide de questionnaires (E.D.E.0.02 et E.D.E.0.05). Des instructions ont été rédigées afin d'aider les correspondants à renseigner au mieux ces fiches d'information (I.D.E.0.03) et à réaliser, puis expédier les prélèvements (I.D.E.0.01 et I.D.E.0.02).
- Les renseignements notés sur ces fiches sont ensuite enregistrés par chaque correspondant dans la base de données Repamo. L'accès à cette base de données est restreint aux acteurs du réseau (correspondants, coordination du réseau) et à la Cellule Analytique du LGP. Des sorties sous Excel, Word et Acrobat sont possibles et certaines extractions sont automatisées.
- Les prélèvements sont ensuite envoyés à la Cellule Analytique du LGP. Dans le cadre du protocole II d'étude des hausses de mortalité, une partie des prélèvements est également expédiée vers des laboratoires d'analyses externes agréés pour la réalisation d'analyses en biologie moléculaire pour la recherche du virus OsHV-1 et des bactéries *Vibrio aestuarianus* et *V. splendidus* chez *C. gigas*.
- Les analyses effectuées à la Cellule Analytique du LGP dépendent à la fois du motif de prélèvement (surveillance des infections à *Bonamia ostreae* et à *Marteilia refringens*, hausses de mortalité...), de l'espèce de mollusque considérée et de la classe d'âge concernée. Les résultats des analyses sont saisis dans la base Repamo et validés par le responsable technique de la Cellule Analytique, qui édite ensuite un rapport analytique à partir de la base de données et le transmet au coordinateur du réseau. Les laboratoires d'analyses externes envoient directement leur(s) rapport(s) analytique(s) au coordinateur du réseau.

1.3.2. La diffusion de l'information

Information liée au fonctionnement du réseau

- Un site intranet à l'adresse : <http://w3.ifremer.fr/repamo/index.html> est opérationnel depuis 2003 et donne accès à l'application destinée aux extractions et éditions des données saisies dans la base de données Repamo. Il permet également l'accès aux informations régissant le fonctionnement du réseau : fiche de prélèvement, fiche mortalité, planning, comptes-rendus de réunions, documents de formation.
- Une liste électronique Repamo a été créée en 1997. Ce forum n'est pas contrôlé par un modérateur, mais est restreint aux acteurs et partenaires principaux du réseau (correspondants, coordination, Cellule Analytique et gestionnaires de la base de données Repamo). Cette liste est un outil de fonctionnement du réseau.
- Un site internet à l'adresse <http://wwz.ifremer.fr/repamo/> est également opérationnel depuis 2010. Il explique le fonctionnement du réseau et donne accès à différents documents dont le rapport annuel Repamo.

Système d'alerte en cas de hausse de mortalité

- Des bulletins infomortalités sont édités par le coordinateur du réseau sous forme de messages électroniques dès lors qu'une hausse de mortalité est déclarée. Ces infomortalités sont adressées à la liste Repamo, aux responsables de laboratoires LER/LGP, aux responsables de projets et de programme Ifremer concernés, aux DDTM ainsi qu'à la DGAI et à la DPMA.

Résultats des interventions Repamo

- Lors d'études particulières où le réseau est le demandeur, le coordinateur transmet les résultats directement au professionnel participant à l'étude et au correspondant.

- Lors de hausse de mortalité, le coordinateur transmet à l'autorité compétente locale (DDTM) un avis pour chaque intervention Repamo effective conduisant à la réalisation d'un ou plusieurs prélèvement(s) pour analyses en pathologie. Cet avis reprend les principaux commémoratifs et explicite les résultats de(s) rapport(s) analytique(s) individuel(s). Une copie de ces résultats est adressée au correspondant Repamo sous couvert de son responsable de laboratoire. Dans le cas où un agent d'une maladie réputée contagieuse (MRC) ou d'une maladie à déclaration obligatoire (MDO) est diagnostiqué, le coordinateur du Repamo en informe immédiatement la DGAI. Le professionnel concerné par la hausse de mortalité reçoit les résultats par la représentation locale de l'autorité compétente (DDTM).

- Des bulletins d'information non nominatifs détaillant les principaux résultats d'analyses concernant les prélèvements reçus pour hausse de mortalité sont édités mensuellement par le coordinateur du réseau et sont disponibles sur le site intranet. Un message indiquant leur mise en ligne sur le site est transmis via la liste Repamo aux correspondants et aux responsables des laboratoires LER/LGP. Ces bulletins sont également envoyés par messagerie électronique à la DGAI.

En situation de crise, la fréquence d'édition et la diffusion de ces bulletins sont étendues : les bulletins d'informations sont hebdomadaires et reprennent l'ensemble des résultats d'analyses de la période de crise ; ces bulletins sont diffusés par messagerie électronique aux mêmes destinataires en y ajoutant la cellule de crise Ifremer, la Direction des Pêches Maritimes et de l'Aquaculture (DPMA) et les représentants des producteurs conchyliques (CNC et SRC).

- Un rapport annuel synthétisant les principaux résultats du réseau est distribué auprès des différents partenaires du réseau. Ce rapport est disponible sur le site intranet pour les correspondants Repamo, les responsables de laboratoires LER/LGP, les responsables de projets et de programme Ifremer concernés et sur le site internet. Des éditions papier de ce rapport sont distribuées à la DGAI, à la DPMA, aux DDTM, au CNC et aux CRC.



2. Stratégies d'échantillonnage en 2010

- La surveillance assurée par le réseau vise en premier lieu les infections à déclaration obligatoire présentes en France, les infections à *Bonamia ostreae* et à *Marteilia refringens* chez l'huître plate *Ostrea edulis* et les moules *Mytilus edulis* et *M. galloprovincialis* pour la marteillose. Le secteur en attente d'agrément vis-à-vis de ces deux maladies est la zone X. En accord avec la DGAI, il a été décidé de suspendre cette surveillance et aucune analyse n'a été faite dans ce cadre en 2010.
- L'étude des cas de hausse de mortalité chez toutes les espèces de mollusques a été poursuivie en 2010 et répond aux exigences du décret n°2008-1141 [NOR : AGRG0823467D], de l'arrêté [NOR : AGRG0825593A] et du règlement européen 175/2010 relatif à la recherche du variant OsHV-1 µvar. La taille de l'échantillon est adaptée au cas par cas et varie de 50 individus minimum à plusieurs centaines d'individus, répartis en différents points du secteur présentant des mortalités. Le prélèvement peut concerner plusieurs espèces de mollusques, élevées et/ou sauvages.
- La surveillance zoosanitaire des populations élevées et sauvages de mollusques appliquée à un couple espèce hôte de mollusque/organisme pathogène. Cette surveillance concerne pour les années 2008-2010 l'infection de l'huître plate *Ostrea edulis* par les parasites du genre *Bonamia* ; il s'agit en particulier de caractériser les espèces du parasite *Bonamia* présentes en France dans les principaux gisements, sites de captage et de production d'huîtres plates.

3. Résultats de la surveillance de la santé des mollusques en 2010

3.1. Etude des hausses de mortalité (protocole II)

3.1.1. Définition et objectifs

- La réglementation (article 10 et annexe I de la Directive 06/88/CE, décret n°2008-1141) les définit comme « un accroissement inexplicable et significatif de la mortalité au-delà du niveau considéré comme normal pour l'exploitation aquacole ou le parc à mollusques concernés dans les conditions habituelles. Le niveau d'accroissement à désigner comme une hausse de la mortalité doit être convenu par l'exploitant et l'autorité compétente ».
- L'étude des hausses de mortalité **dans le cadre du réseau Repamo** a pour **but premier d'écartier ou de confirmer une hypothèse infectieuse** ; elle permet **de relever la présence éventuels d'organismes pathogènes connus ou nouveaux** tout en reliant éventuellement ces résultats à des facteurs environnementaux et/ou à des pratiques culturelles.

3.1.2. Bilan des hausses de mortalités enregistrées en 2010

Mortalités affectant l'huître creuse :

• En 2010, 123 cas de mortalités (prélèvements et constats) ont été enregistrés chez *C. gigas* (Fig. 2), dont 89 % sur du naissain. Cela représente une augmentation de 29 % par rapport à 2008, et 43 % par rapport à 2009.

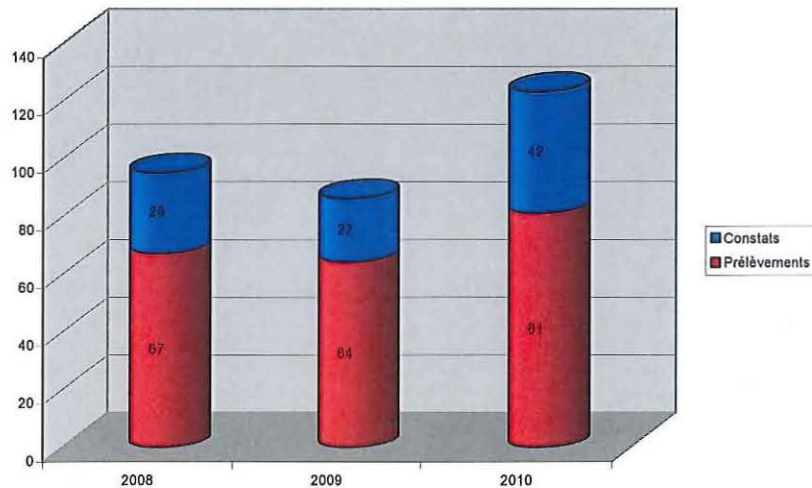


Figure 2 : évolution des prélèvements et constats concernant des cas de hausse de mortalité de *C. gigas* (2008-2010)

• À l'exception d'un cas en Charente-Maritime en mars, les cas de hausse de mortalités ont été rapportés en avril : en Corse, dans l'étang de Thau, en Charente-Maritime et en Vendée (Fig. 3). Des cas ont été ensuite enregistrés sur l'ensemble de la façade Atlantique en mai (18 cas au total), et rapportés sur les côtes de la Manche qu'en juin (28 cas, maximum de l'année), alors qu'aucune mortalité n'était plus signalée en Méditerranée. Après une forte diminution de ces rapportés en août-septembre (un seul cas), 8 cas de mortalité ont encore été enregistrés en octobre-novembre, principalement sur la façade Atlantique.

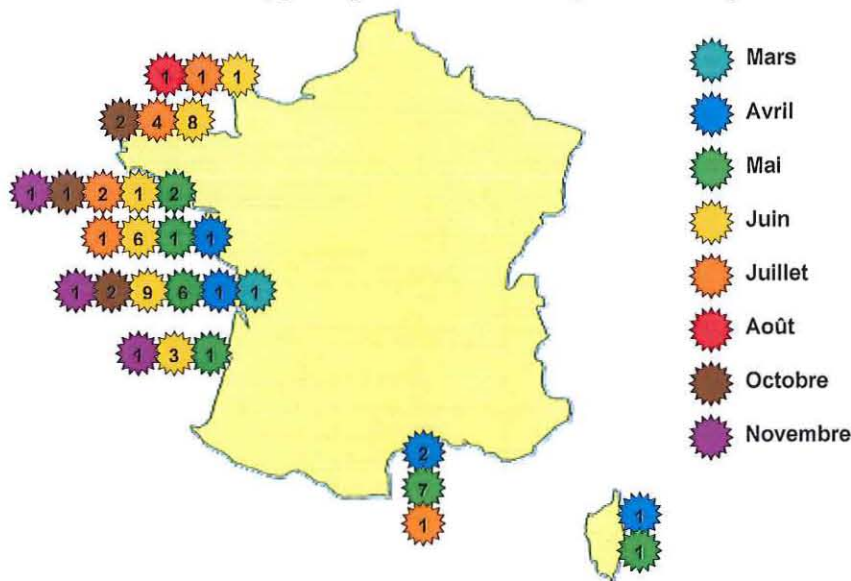


Figure 3 : chronologie et nombre de cas de hausse de mortalité en 2010

- L'herpès virus OsHV-1 a été détecté dans 86,4 % des lots analysés. Une progression sud-nord de la détection d'ADN du virus OsHV-1 μ Var est observée (Fig. 4). Les données relatives à la détection de l'herpès virus en 2009-2010 confirment la présence majoritaire du génotype OsHV-1 μ var associé aux surmortalités d'huîtres creuses.

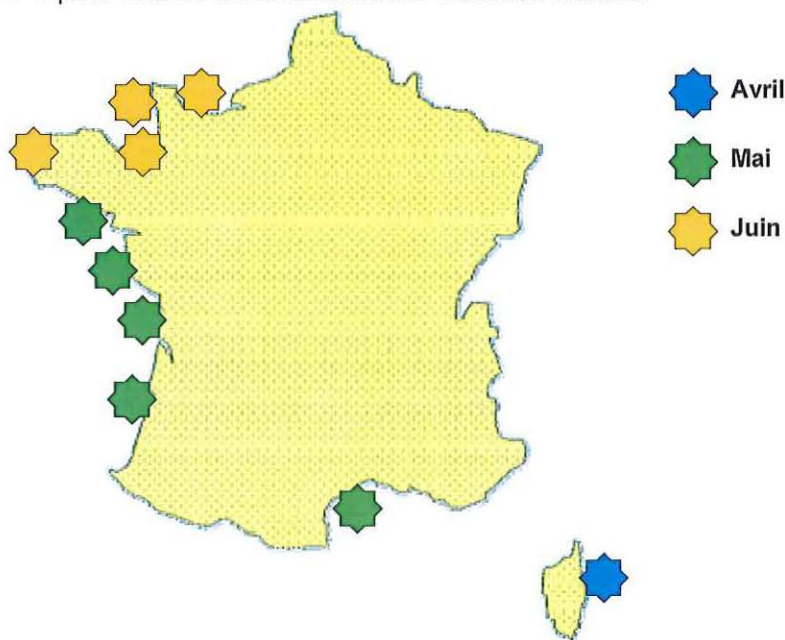


Figure 4 : chronologie d'apparition d'OsHV-1 μ var

- Tous les bassins de production ont été touchés par des hausses de mortalités d'huîtres creuses hormis le Nord de la France. Les cas de mortalité ont été les plus rapportés en Méditerranée, en Bretagne et dans le bassin de Marennes-Oléron (Fig. 5). Les prélèvements ont surtout été réalisés en Bretagne, à Marennes-Oléron et en Normandie, car en Méditerranée, les mortalités dans l'étang de Thau n'ont donné lieu qu'à des constats après des analyses ayant porté uniquement sur les premiers cas recensés.

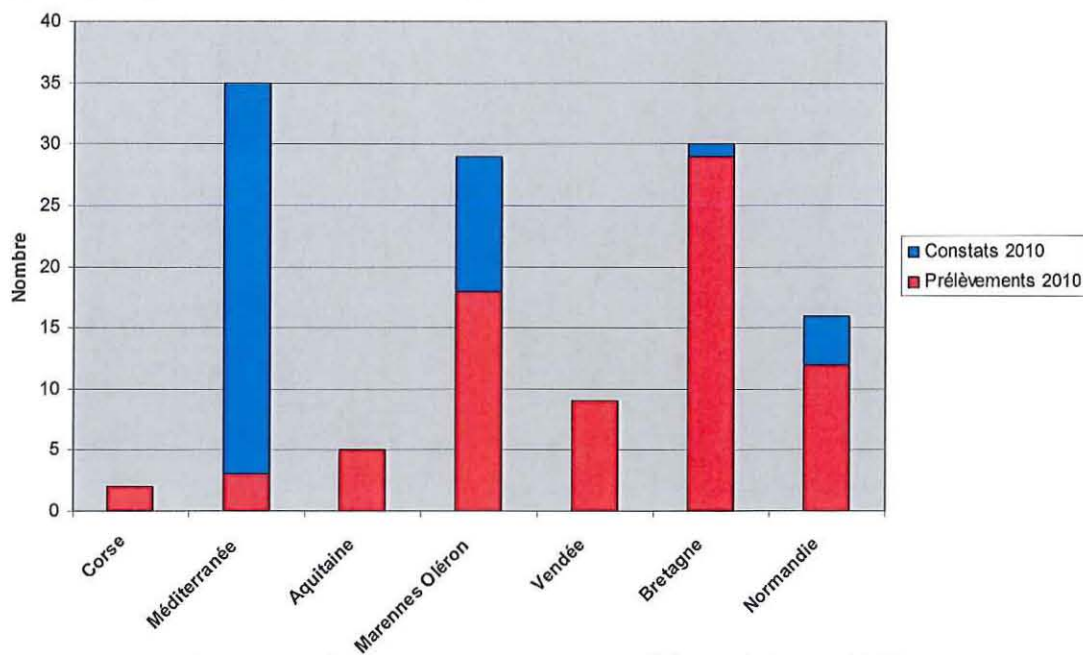


Figure 5 : prélèvements et constats mortalité par région en 2010

Sur la période 2008-2010, le nombre de cas de hausse de mortalité rapportés a augmenté en Méditerranée, en Bretagne et en Normandie, diminué en Aquitaine et à Marennes-Oléron, et est resté stable en Corse et en Vendée (Fig. 6).

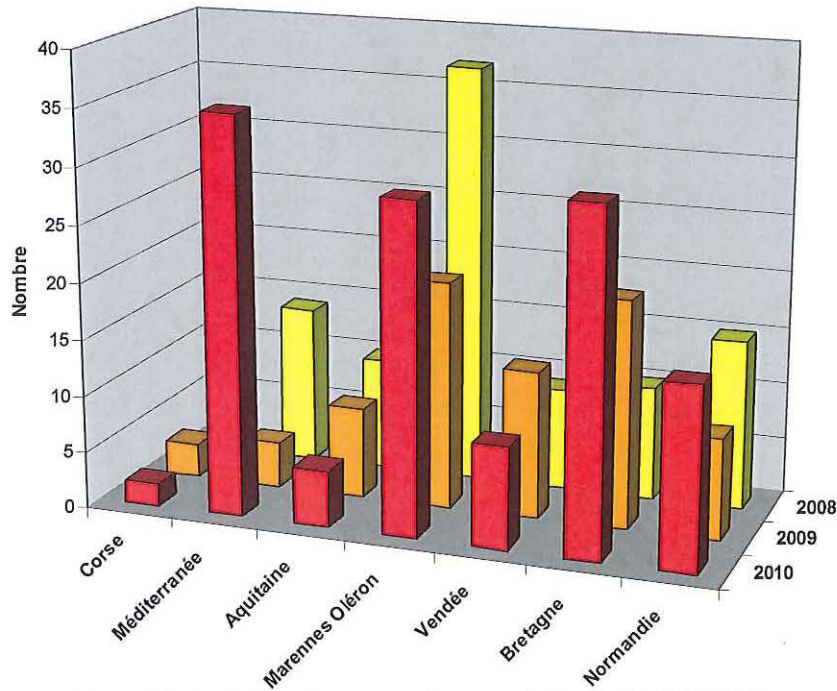


Figure 6 : évolution des cas de hausse de mortalité 2008-2010

• Les cas de hausse de mortalités constatés permettent de répartir les différentes régions en 3 groupes en fonction des pourcentages observés (Fig. 7) :

- Plus de 60 % de mortalité en Corse et Méditerranée
- Environ 50 % de mortalité en Aquitaine, à Marennes-Oléron, en Vendée et en Bretagne
- Moins de 40 % de mortalité en Normandie

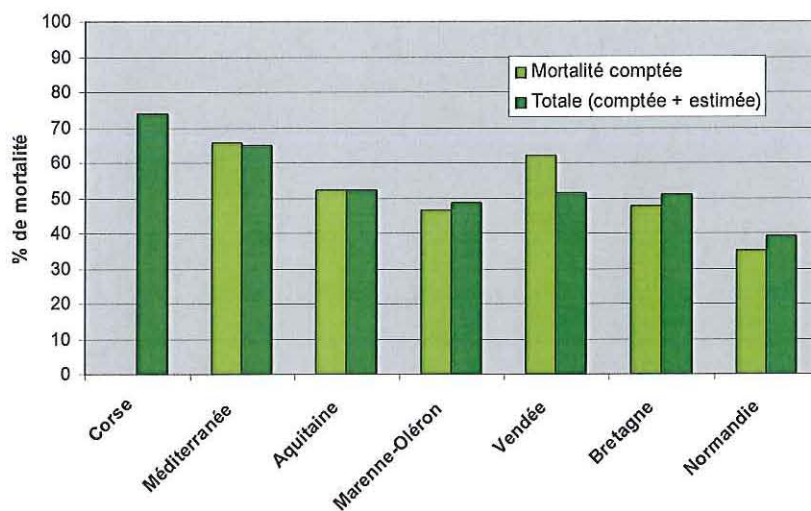


Figure 7 : mortalité moyenne au moment des évènements déclarés en 2010

Les différences parfois constatées entre mortalités estimées et mortalités comptées soulignent la nécessité de standardiser les modes de calcul de la mortalité.

• Effort analytique : 3015 analyses ont été réalisées en 2010 dans le cadre des cas de hausse de mortalités d'huîtres creuses, soit 21 % de plus qu'en 2008 et 59 % de plus qu'en 2009 (Fig. 8).

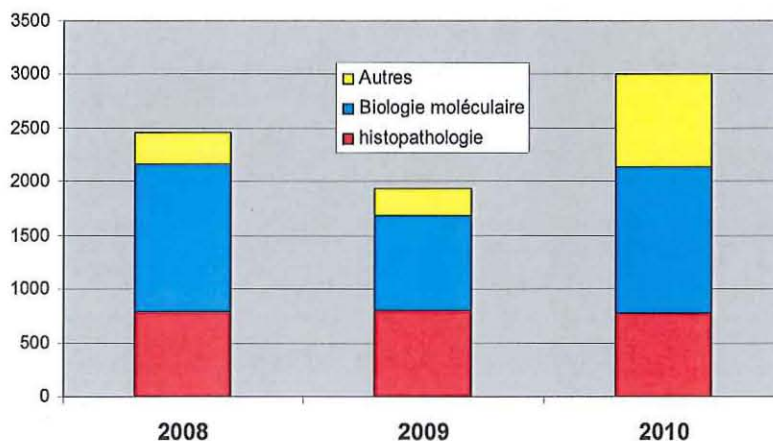


Figure 8 : Nombre total d'analyses réalisées au 01/12/10 dans le cadre des mortalités anormales d'huîtres

Trois techniques analytiques ont été principalement employées pour la détection d'organismes pathogènes :

- Histologie : l'observation de lames d'histologie en microscopie photonique est réalisée sous accréditation et permet d'effectuer une recherche exhaustive d'organismes pathogènes (parasites protozoaires et métazoaires, foyers bactériens, foyers fongiques, anomalies cellulaires et tissulaires pouvant signaler la présence de virus). Elle a été réalisée sur 53 des 81 lots prélevés pour mortalité d'huîtres creuses en 2010.
- Bactériologie : la culture et l'isolement de souches bactériennes ont été réalisés sur 77 lots. Des outils biomoléculaires spécifiques (PCR en temps réel multiplex Taqman¹) ciblant des bactéries pathogènes connues (*Vibrio splendidus* et *Vibrio aestuarianus*) ont ensuite été appliqués sur les bactéries majoritaires isolées. Enfin, 677 souches bactériennes non identifiées par PCR en temps réel multiplex sont en cours de séquençage sur la base du gène codant pour l'ARN16 S afin de les identifier taxonomiquement.
- Virologie : un outil biomoléculaire spécifique (PCR quantitative SybrGreen²) ciblant le virus OsHV-1 a été appliqué sur 80 échantillons prélevés pour mortalité d'huîtres creuses en 2010. Un outil de diagnostic biomoléculaire (PCR CF/CR) a été également appliqué sur 72 échantillons pour la détection du génotype microvar³.

¹ Saulnier, D., S. De Decker, Haffner P. (2009). Real-time PCR assay for rapid detection and quantification of *Vibrio aestuarianus* in oyster and seawater: A useful tool for epidemiologic studies. *Journal of Microbiological Methods*, 77(2): 191-197.

² Pepin J.-F., Riou A., Renault T. (2008). Rapid and sensitive detection of ostreid herpesvirus 1 in oyster samples by real-time PCR. *Journal of Virological Methods*, 149-2: 269-276.

³ Segarra A., Pepin J.-F., Arzul I., Morga B., Faury N., Renault T. (2010). Detection and description of a particular Ostreid herpesvirus 1 genotype associated with massive mortality outbreaks of Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, in France in 2008. *Virus Research*, 153(1), 92-99.

Le choix des analyses réalisées repose sur un ensemble de critères qui sont essentiellement relatifs à la qualité de l'échantillon, l'organisme pathogène recherché, l'espèce de coquillage, la classe d'âge des animaux et le milieu dans lequel ils sont prélevés.

• Différents organismes pathogènes seuls ou en co-détection ont été identifiés dans tous les lots analysés comme potentiellement impliqués dans les mortalités observées :

- **l'herpès virus OsHV-1** dans 71 lots sur 80 analysés, soit 89 % des lots analysés (Fig. 9), dont 68 prélèvements positifs pour la détection d'ADN d'OsHV-1 μ var.

Le pourcentage de prélèvements positifs pour la détection d'ADN d'OsHV-1 est plus faible en Corse et Méditerranée que sur les façades Manche-Atlantique, mais sur un moindre nombre de prélèvements.

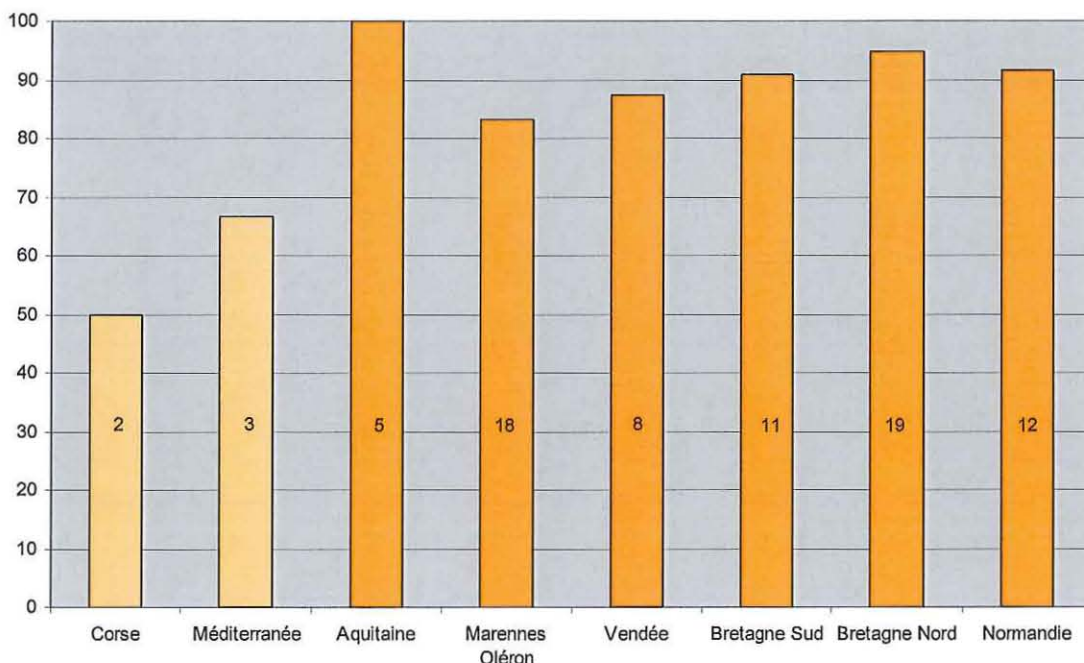


Figure 9 : pourcentage de prélèvements positifs pour la détection d'ADN d'OsHV-1

L'ADN du virus OsHV-1 a été détecté de janvier à décembre 2010 dans les échantillons prélevés lors de cas de hausse de mortalité d'huîtres creuses.

En 2008, sur la base d'essais d'infections expérimentales, le pouvoir infectieux du virus a été démontré sur le stade naissain. De plus, des essais complémentaires (par cohabitation) ont permis de démontrer la transmission horizontale du virus associée à l'apparition de mortalités⁴.

- **des bactéries *Vibrio splendidus* et *Vibrio aestuarianus***, dans 72 lots sur 78 analysés (92 %)

- 70 lots positifs pour la détection d'ADN de *V. splendidus*
- 11 lot positifs pour la détection de *V. aestuarianus*, principalement en Aquitaine et à Marennes-Oléron (Fig. 10)
- 10 lots présentant une co-détection par *V. aestuarianus* et *V. splendidus*

⁴ Schikorski David, Faury Nicole, Pepin Jean-Francois, Saulnier Denis, Tourbiez Delphine, Renault Tristan (2011). Experimental ostreid herpesvirus 1 infection of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*: Kinetics of virus DNA detection by q-PCR in seawater and in oyster samples. *Virus Research*, 155(1), 28-34.

De l'ADN de ces organismes pathogènes a été détecté de janvier à décembre 2010 dans les échantillons prélevés lors de cas de hausse de mortalité d'huîtres creuses.

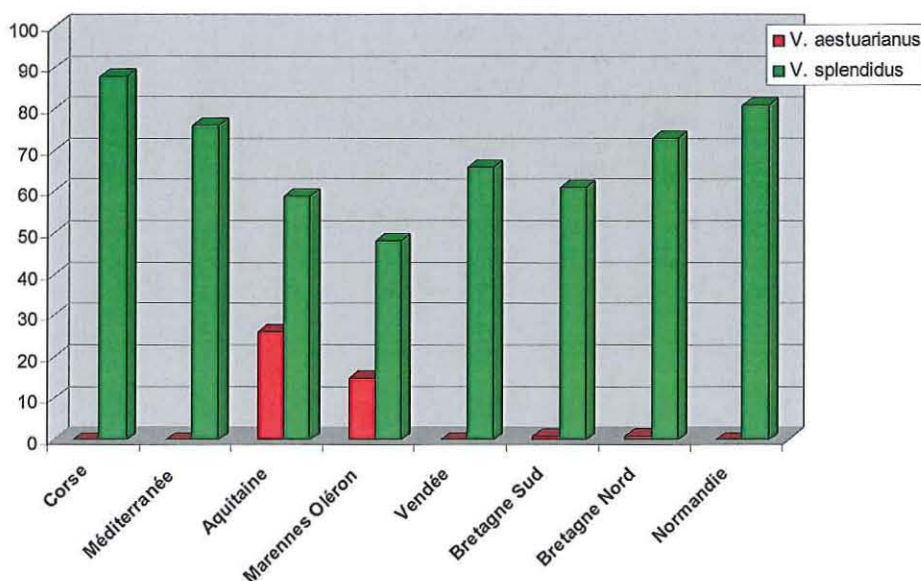


Figure 10 : pourcentage d'huîtres infectées par les vibrions dans les prélèvements pour mortalité

- agent infectieux à déclaration obligatoire

Par ailleurs, aucun agent infectieux à déclaration obligatoire (Directive 2006/88/CE et Code sanitaire pour les animaux aquatiques de l'OIE 2009) ou réputé contagieux ((Décret n°2008-1155 du 7 novembre 2008, NOR : AGRG0826266D) n'a été mis en évidence dans les 53 échantillons analysés en histologie excepté sur un lot où une huître creuse était infectée par le parasite *Marteilia refringens*.

Des organismes pathogènes (OsHV-1 μ Var et vibrions) ont donc été détectés lors de cas de hausses de mortalités ; certains peuvent être impliqués dans les mortalités. Cependant, certains cas de mortalité ne sont pas associés à la détection d'organismes pathogènes. Des facteurs environnementaux (envasement, phénomène météorologique...), zootechniques (forte densité, manipulation lors de la période de reproduction des coquillages...), physiologiques (maturation, faible croissance...) peuvent intervenir de manière directe ou indirecte dans les mortalités constatées.

Mortalités d'espèces de mollusques autres que l'huître creuse

Treize prélèvements concernant des espèces de mollusques autres que l'huître creuse *Crassostrea gigas* ont été traités :

- Sept prélèvements concernant des moules *Mytilus edulis* adultes : six au mois de mai dans le Nord-Pas de Calais, la Picardie et le Finistère, un au mois d'octobre en Charente-Maritime.

Vibrio splendidus a été isolé dans 6 des 7 lots prélevés, de l'ADN du virus OsHV-1 a été détecté dans trois lots (confirmation OsHV-1 μ var dans un lot).

- Cinq prélèvements de flions tronqués *Donax trunculus* sur des gisements sauvages à Oléron, Quiberon, en baie d'Audierne et de Douarnenez, présentant des mortalités de 50 à 80%. L'analyse histologique de trois des prélèvements a révélé la présence d'un protozoaire parasite du genre *Mikrocytos*, distinct des espèces connues chez d'autres mollusques bivalves. Ce parasite a également été retrouvé dans un prélèvement de flions tronqués réalisé en 2008 dans le cadre de mortalités anormales et fera l'objet d'une étude particulière en 2011.

Nombre total de lots analysés en 2010 :

Au total, le nombre de lots analysés pour mortalité anormale dans le cadre du Repamo s'élève à 94 en 2010, soit une multiplication par plus de trois depuis 2005 (Fig. 11).

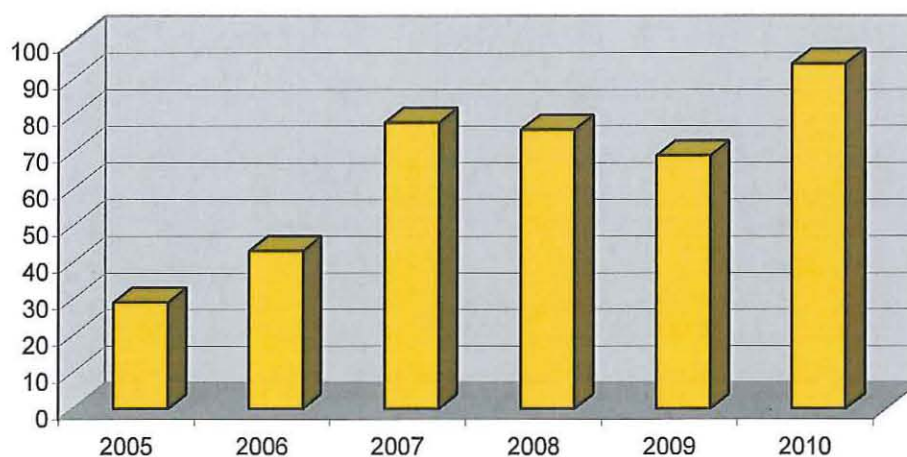


Figure 11 : nombre de lots analysés pour mortalités anormales de 2005 à 2010

3.2. Surveillance zoosanitaire des populations élevées et sauvages de mollusques

3.2.1. Surveillance des parasites du genre *Bonamia*

3.2.1.1. Objectifs et choix de la surveillance zoosanitaire

- L'objectif de la surveillance zoosanitaire des populations élevées et sauvages de mollusques est d'obtenir des informations sur l'état zoosanitaire des coquillages en dehors des situations de crise (mortalités anormales).

- En 2008-2010 cette surveillance visait à caractériser les espèces des parasites du genre *Bonamia* chez l'huître plate, *Ostrea edulis*, dans les principaux sites français de captage et de production et les gisements naturels. Ce choix a été motivé par la détection du parasite *Bonamia exitiosa* en 2007 en Espagne, en Italie et en Corse, parasite à déclaration obligatoire et considéré jusqu'alors comme exotique au sein de l'Union Européenne.

3.2.1.2. Plan d'échantillonnage des huîtres plates

- En 2009, cinq secteurs ont été étudiés (Fig. 12) : la rivière de la Rance (LER/FBN), le Golfe du Morbihan et la baie de Quiberon (LER/MPL), le pertuis d'Antioche (LER/PC), le golfe de Fos (LER/PAC).

Un sixième secteur a été investigué en complément du plan d'échantillonnage initial : il s'agit de l'étang de Diana en Corse où un projet de recherche (LGP, LER/PAC) visant à étudier le cycle du parasite *Marteilia refringens* a été l'occasion de réaliser des prélèvements également pour la caractérisation des parasites du genre *Bonamia* sur ce secteur.

- La taille d'échantillonnage a été déterminée en fonction des prévalences connues de ce parasite sur les différents sites. Le nombre d'individus analysés dépend du nombre d'huîtres ayant pu effectivement être prélevées. Pour chaque secteur, 1 à 5 prélèvements d'huîtres plates de taille commerciale (> 18 mois) ont été effectués avec comme objectif de disposer de 150 huîtres plates au total par secteur. L'échantillonnage a été réalisé de la mi-mars à début avril 2009, hormis pour les prélèvements en baie de Quiberon (août et en octobre) et à l'étang de Diana (juillet). Au total, 890 individus ont été analysés par la Cellule Analytique du LGP.



Figure 12 : plan d'échantillonnage des huîtres plates en 2009

- Du suivi organisé en 2009, il ressort que :
 - Il n'a pas été détecté de parasite du genre *Bonamia* dans les prélèvements d'huîtres plates *Ostrea edulis* réalisés sur les gisements naturels du Pertuis d'Antioche et du golfe de Fos.
 - Le parasite *Bonamia ostreae* est présent dans les prélèvements d'huîtres plates *Ostrea edulis* réalisés sur les gisements naturels de la **rivière de la Rance** et de la **baie de Quiberon (banc de Penthièvre)** et sur un site d'élevage à Larmor Baden dans le **golfe du Morbihan**. Le parasite *Bonamia exitiosa* n'a pas été détecté dans ces secteurs au cours de la surveillance menée en 2009.
 - Les parasites *Bonamia ostreae* et *Bonamia exitiosa* ont **été détectés** en 2009 dans **l'étang de Diana**. Le parasite *Bonamia exitiosa*, **agent infectieux exotique, réputé contagieux⁵ et à déclaration obligatoire⁶** avait déjà été détecté en 2007 sur ce même gisement naturel d'huîtres plates *Ostrea edulis* situé dans l'étang de Diana en Corse, ainsi que sur des filières en mer ouverte face à l'étang de Thau en 2008.

- En 2010, les recherches se sont focalisées sur l'étang de Diane en l'absence de possibilité d'avoir des huîtres plates des autres secteurs de Méditerranée, avec trois prélèvements de 150 individus en moyenne en mai, août et novembre. Des *Bonamia* sp. ont été détectés dans chaque prélèvement et sont en cours de caractérisation moléculaire pour en déterminer l'espèce.

Période	Nombre d'individus prélevés	Nombre d'individus infectés en histologie	Caractérisation moléculaire
Mai	150	2 <i>Bonamia</i> sp. 0 <i>Marteilia</i> sp.	En cours
Août	150	En cours (5 sur 70 analysés)	En cours
Novembre	135	1 <i>Bonamia</i> sp. 0 <i>Marteilia</i> sp.	En cours

3.2.1.3. Techniques diagnostiques employées

- Les huîtres prélevées ont été analysées dans un premier temps en histologie pour la détection des parasites du genre *Bonamia*.
- Des analyses en biologie moléculaire (PCR, hybridation *in situ*, séquençage) seront ensuite réalisées afin de déterminer l'espèce du parasite.

⁵ Décret n°2008-1155 du 7 novembre 2008, NOR : AGRG0826266D

⁶ Directive 2006/88/CE, Code Sanitaire pour les Animaux Aquatiques de l'Organisation Mondiale de la Santé Animale, OIE 2009.

3.2.2. Surveillance du virus OsHV-1

Un suivi de certains gisements naturels d'huîtres creuses, *Crassostrea gigas*, vis-à-vis de la présence du virus OsHV-1 (recherche d'ADN viral) a été réalisé dans la région Aquitaine afin de compléter celui réalisé en Charente-Maritime dans le cadre d'un projet financé dans le cadre du CPER Poitou Charentes. Trois sites ont été échantillonnés en juin 2010 : un dans l'estuaire de l'Adour (site isolé par rapport aux élevages d'huîtres creuses) et deux dans le bassin d'Arcachon (Ares, site éloigné des zones d'élevage et Gahignon, site proche des zones d'élevage). De l'ADN du virus OsHV-1 μ var a été détecté sur ces trois sites.

Période	Site	Nombre d'individus prélevés	Nombre d'individus positifs pour la détection d'ADN viral	Caractérisation moléculaire
Juin	Adour	150	10	Génotype μ Var pour l'ensemble des individus
Juin	Ares (bassin d'Arcachon)	150	2	Génotype μ Var pour l'ensemble des individus
Juin	Gahignon (bassin d'Arcachon)	150	19	Génotype μ Var pour l'ensemble des individus

4. Conclusions et perspectives

Comme en 2009, des cas de hausses de mortalités d'huîtres creuses (*Crassostrea gigas*) ont été recensés dans l'ensemble des bassins de production principalement en période estivale (81 lots prélevés et analysés, 42 constats). Le naissain d'huîtres creuses a été principalement atteint (89 % des lots analysés) avec des taux de mortalité calculés élevés. Aucun agent à déclaration obligatoire n'a été détecté dans les lots d'huîtres creuses analysées. Des agents viraux (virus OsHV-1), et bactériens (bactéries du groupe de *Vibrio splendidus* principalement) ont été détectés seuls ou en association dans de nombreux échantillons prélevés au cours des épisodes de mortalité 2010 aussi bien chez les huîtres creuses prélevées chez les producteurs que sur les animaux de l'observatoire conchylicole Ifremer.

Au regard du nombre de lots trouvés positifs pour la détection d'ADN d'OsHV-1 (89 % des échantillons analysés pour la recherche de cet organisme pathogène) ou par des bactéries du genre *Vibrio* (détection d'ADN de *V. splendidus* dans 90 % des échantillons analysés pour la recherche de cet organisme pathogène), il est possible de suspecter une libération massive de ces agents infectieux dans l'environnement au cours des épisodes de mortalités observés en 2010 qui ont pu ainsi se transmettre, d'huître à huître, de poches en poches, de bancs en bancs et d'un bassin de production à un autre. Dans ce contexte, les courants d'une part et les transferts de cheptels d'autre part apparaissent comme des facteurs favorisant la dissémination des agents infectieux. De plus, la détection dans de nombreux échantillons du génotype μ var nouvellement décrit du virus OsHV-1 pose la question des mesures d'analyses et de gestion de risques à mettre en œuvre face à l'émergence d'un agent infectieux non encore décrit ou d'une nouvelle forme d'un agent infectieux connu.

Des mortalités ont également affecté d'autres espèces de mollusques en élevages (moules de bouchot dans le Nord-Pas-de-Calais, la Picardie, le Finistère et la Charente-Maritime) et en gisements naturels (flions tronqués à Oléron, Quiberon, en baise d'Audierne et de Douarnenez). Un protozoaire parasite du genre *Mikrocytos*, distinct des espèces connues chez d'autres mollusques bivalves a été détecté dans trois prélèvements de flions tronqués. Ce parasite a également été retrouvé dans un prélèvement de flions tronqués réalisé en 2008 dans le cadre de mortalités anormales, et fera l'objet d'une étude particulière en 2011.

L'étude des hausses de mortalité sera reconduite en 2011. Dans le cas de l'huître creuse *Crassostrea gigas*, l'étude des cas de hausses de mortalité réalisée par l'Ifremer en 2010 est une surveillance mixte : passive (déclaration des professionnels aux DDTM et enclenchement de la procédure hausse de mortalité) et active en liaison avec l'Observatoire Conchylicole mis en place par l'Ifremer (suivi de lots d'animaux sentinelles placés sur des sites référencés et instrumentés).

Pour les années 2008- 2010, la surveillance zoonitaire des populations élevées et sauvages de mollusques visait à caractériser les espèces des parasites *Bonamia* chez l'huître plate *Ostrea edulis* dans les principaux sites français de captage, de production et les gisements naturels. Les parasites *Bonamia ostreae* et *Bonamia exitiosa* ont été détectés en 2009 dans l'étang de Diana en Corse. En 2010, les recherches se sont focalisées sur l'étang de Diane, avec trois prélèvements de 150 individus en mai, août et novembre. Des *Bonamia* sp. ont été détectés dans chaque prélèvement et sont en cours de caractérisation pour en déterminer l'espèce.

Un suivi vis-à-vis du virus OsHV-1 sur des gisements naturels d'huîtres creuses en Aquitaine a également été mené et a révélé la présence de ce virus, génotype microvar, sur tous les sites suivis.

Les actions menées les années précédentes pour optimiser le fonctionnement du réseau seront poursuivies en 2011 et complétées par :

- Une étude cas/témoin sur les mortalités anormales d'huîtres creuses en Charente-Maritime,
- Une étude sur la présence potentielle de la bactérie *Nocardia crassostreae* chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*, dans trois sites d'intérêt : Marennes-Oléron, étang de Thau et baie de Quiberon,
- Une recherche du protozoaire *Mikrocytos* sp. chez le flion tronqué *Donax trunculus* à Oléron, visant à déterminer la période la plus favorable à la détection du parasite et à mieux connaître son rôle dans les mortalités constatées depuis 2008,
- Une évaluation du Repamo pour en définir les perspectives d'évolution.