Direction DRV/ RA/D
Laboratoire Génétique et Pathologie

framer

A.Thébault,

M. Robert,

B. Chollet,

M. Dumais,

JP. Joly,

C. Garcia,

T. Comtet,

M.J. Le Coguic,

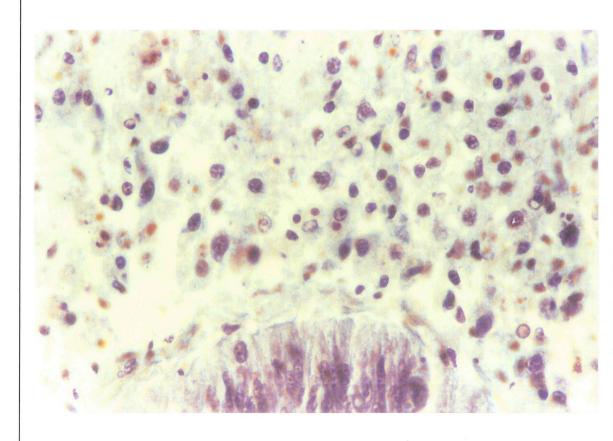
A. G. Martin,

Y. Pichot

.... nov-2001- R.INT.DRV/ RA/LGP/ n°

BILAN 2000 DU RESEAU REPAMO

Réseau National de surveillance zoosanitaire des mollusques marins



Direction DRV/ RA/D Laboratoire Génétique et Pathologie

A.Thébault,
M. Robert,
B. Chollet,
M. Dumais,
JP. Joly,
C. Garcia,
T. Comtet,
M.J. Le Coguic,
A. G. Martin,
Y. Pichot

nov-2001- R.INT.DRV/ RA/LGP/

BILAN 2000 DU RESEAU REPAMO

Réseau National de surveillance zoosanitaire des mollusques marins

Résumé

Le réseau REPAMO est un réseau de santé animale, qui a deux objectifs principaux : prévenir et détecter l'introduction et la propagation d'un agent pathogène émergent, rémergent ou exotique pour les productions de coquillages d'intérêt commercial et surveiller l'évolution des maladies à déclaration obligatoire. La première partie rappelle le fonctionnement du réseau en 2000. Le nombre d'individus analysés par histologie a augmenté, passant de 4220 en 99 à 5326 en 2000, dont 1500 pour l'espèce Crassostrea gigas. Le nombre d'analyses global a diminué en partie à cause de la diminution de l'utilisation des frottis et des PCR, passant de 11 000 à 9000. La qualité des analyses en histologie et en PCR a montré d'excellents résultats en 2000 entre les trois cellules. Les résultats de la surveillance de Bonamia ostreae et Marteilia refringens n'ont rien montré d'inhabituel. Le taux de prévalence en Haplosporidium nelsoni est inférieur à celui de 1999 qui était de 0,2% et celui de l'Herpès virus sur le naissain sans mortalité reste stable à environ 3% d'huîtres atteintes. Les analyses réalisées ont permis la détection de nouveaux agents infectieux sur les coques et les moules, et la première détection d'ADN de virus de type Herpès sur les larves du milieu naturel. Tous ces agents ont été observé sans mortalité anormale associée. Les analyses réalisées en 2000 n'ont pas révélé de nouvel agent pouvant être impliqué dans des mortalités anormales. La stratégie vis à vis des mortalités anormales a été revue et harmonisée entre les cellules de veille. Avec les DDAM et la DPMCM différents points de la surveillance zoosanitaires ont été revus, concernant les mortalités anormales et les transferts de coquillages, ce qui devrait permettre un gain d'efficacité. Le suivi de base a été élargi à la population d'adultes de Crassostrea gigas en élevage. Le suivi de base sur toutes les espèces a été fixé par les cellules et devrait permettre d'établir des comparaisons interannuelles des taux de prévalence.

PLAN DU RAPPORT

INTRODUCTION	2
1. RAPPELS SUR LES OBJECTIFS ET LE FONCTIONNEMENT DU REPAMO	3
1. 1. CADRE LÉGAL	3
1.2. OBJECTIFS DU RÉSEAU	4
1.3. ZONAGE ET ÉCHANTILLONNAGE 1.3.1. Principe du plan de zonage 1.3.2. Echantillonnage	4 4 5
1.4. FONCTIONNEMENT DU RÉSEAU EN 2000 1.4.1. Mode de collecte des données 1.4.2. Fonctionnement et sensibilisation 1.4.3. Acteurs du REPAMO 1.4.4. Outils utilisés 1.4.5. Contrôle qualité des analyses en 2000	7 7 8 8 9 11
1.5. RECUEIL DES DONNÉES DU REPAMO ET DIFFUSION DE L'INFORMATION	14
2. RÉSULTATS DES ANALYSES DU REPAMO EN 2000	15
2.1. EFFORT D'ANALYSE GLOBAL RÉALISÉ EN 2000	15
 2.2. EPIDÉMIOSURVEILLANCE 2.2.1. Suivi de Bonamia et Marteilia 2.2.2. Epidemiosurveillance d'Haplosporidium nelsoni sur Crassostrea gigas 2.2.2. Epidémiosurveillance du virus herpès de l'huître 	17 18 24 25
 2.3. EPIDEMIOVIGILANCE 2.3.1. Suivi des gisements naturels 2.3.2. Suivi d'élevages en l'absence de mortalités 2.3.3. Etude des cas de mortalités anormales 2.3.4.Contrôle des transferts 	27 27 43 53 67
2.4. ACTION DE SOUTIEN AUX PROGRAMMES DE RECHERCHE	68
2.5. RÉPARTITION DES AGENTS OBSERVÉS DE 1998 À 2000	70
CONCLUSION ET PERSPECTIVE	72
BIBLIOGRAPHIE	73

INTRODUCTION

Le réseau REPAMO (Réseau de Pathologie des Mollusques) est un réseau de santé animale, qui s'occupe des coquillages marins du littoral français métropolitain. Les mollusques marins des côtes françaises représentent une ressource par la pêche, mais sont surtout une part importante de l'aquaculture. Les pertes liées aux maladies dans ce domaine d'activité sont aujourd'hui considérées comme l'un des principaux facteurs limitants de son développement au niveau mondial.

Deux exemples récents suffisent à illustrer ce danger pour l'ostréiculture française :

- La culture de l'huître plate *Ostrea edulis*, déjà atteinte par un parasite, *Marteilia refringens*, est passée en quelques années de 20 000 tonnes à 1800 tonnes, suite à une épizootie. En effet à la fin des années 70, une maladie a été introduite accidentellement par des animaux porteurs d'une protozoose, *Bonamia ostreae*, d'origine exotique, puis la maladie s'est rapidement et largement propagée à toutes les zones de production.
- L'huître creuse portugaise, *Crassostrea angulata*, a quasiment disparu des côtes françaises en quelques années, au début des années 70, suite à une épizootie virale à Iridovirus. Des importations rapides et importantes d'une autre espèce d'huître creuse, *Crassostrea gigas*, en provenance du Japon avaient permis, à l'époque, de maintenir la production.

Le réseau REPAMO a été crée à la fin des années 80, en réponse à cette situation. Son activité, depuis est une obligation réglementaire pour la France. La première Directive Européenne concernant les aspects zoosanitaires des mollusque d'élevage date de 1991.

La surveillance s'exerce sur plusieurs espèces, des modes d'élevages et des agents infectieux variés. En effet, la surveillance s'exerce aussi bien sur des agents infectieux connus, présents sur le territoire (épidémiosurveillance), virus, bactéries ou parasites, que sur des agents exotiques, ou tout autre agent émergent (épidémiovigilance).

Les objectifs de la surveillance zoosanitaire sont d'apporter leur contribution pour :

- Prévenir l'introduction ou l'apparition d'agents infectieux.
- Prévenir la propagation à l'intérieur d'un bassin et surtout entre les bassins de production.
- Etudier les moyens de diminuer l'impact des agents infectieux, et surveiller leur évolution.
- Garantir les échanges avec nos partenaires commerciaux.

L'année 2000 a été une période de transition. D'abord pour la vigilance, la stratégie vis à vis des mortalités anormales a été revue, en terme de questionnaires, de stratégie d'échantillonnage et standardisée au niveau national. Le succès de la première réunion de travail entre l'IFREMER, les DDAM et la DPMCM, a permis d'aboutir à une procédure qui pourra être mise en place en cas de mortalités anormales, et ce type de réunion sera sûrement renouvelé.

Ensuite pour la surveillance, les sites du suivi de base ont été choisis, et le suivi de base sur *Crassostrea gigas* mis en place.

Cette année sera aussi marquée par l'échouage de l'Erika, qui, comme on le verra dans la suite du rapport et d'après les premiers résultats n'a eu que peu d'impact sur la santé des coquillages.

Enfin un certain nombre de personnes des cellules de veille en charge du diagnostic ont changées en cours d'année. Les essais interlaboratoires montrent cependant que cela n'a pas eu d'incidence sur la qualité des analyses réalisées.

1/ RAPPELS SUR LES OBJECTIFS ET LE FONCTIONNEMENT DU REPAMO

1. 1. CADRE LEGAL

Les activités du réseau REPAMO font partie des missions institutionnelles de l'IFREMER. Le réseau a été créé en 1986, par H. Grizel, au sein de l'IFREMER, et ceci avant la Directive 91/67 du 28 janvier 1991. Cette Directive impose aux états membres de contrôler l'état zoosanitaire des animaux et des produits d'aquaculture dans le cadre des échanges, dans la perspective du marché intérieur européen.

La Directive 95/70 précisait aux états européens de contrôler l'état zoosanitaire des mollusques bivalves dans leurs propres pays. Aujourd'hui tout un arsenal juridique national, communautaire et international intéresse les activités du REPAMO. La liste de ces textes est donnée en bibliographie. Parmi ceux-ci, dans les textes communautaires il convient de souligner l'importance des Directives 90/425 et 89/662, ainsi que des Décisions 94/306 et 95/352.

- En matière d'importation, au niveau français, les deux textes de référence sont toujours l'arrêté ministériel du 21 novembre 1969, modifié par l'arrêté ministériel du 28 juin 1991 qui rend obligatoire les demandes de dérogation à l'importation des pays tiers auprès des DDAM. IFREMER est consulté par les DDAM pour avis. La liste et la répartition des maladies à déclaration obligatoires de l'OIE et les différents types de transferts possibles entre zones sont rappelés dans les tableaux de <u>l'annexe 1</u>.
- En matière de mortalité anormale, le principal texte de référence est le Décret en conseil d'Etat 98-391 du 19 mai 1998. Une mortalité anormale est définie dans la réglementation comme une mortalité cumulée excédant 15% en 15 jours.
- Quelles sont les obligations lorsque le cas de mortalités anormales arrive ?
 - Toute personne constatant les mortalités anormales de mollusques sont tenus de les déclarer au préfet du département compétent (service des Affaires Maritimes).
 - Une enquête est alors mise en place par les Affaires Maritimes pour évaluer ces mortalités, et une enquête pour en déterminer l'origine est confiée à l'IFREMER. En matière zoosanitaire, l'IFREMER est le seul organisme habilité en France à effectuer des analyses de pathologie visant à détecter un certain nombre d'agents exotiques réputés très graves pour l'ostréiculture, ou la présence d'un nouvel agent pathogène.
 - Cette enquête va concerner notamment l'origine et les transferts des animaux avant l'apparition des mortalités. Ceci peut permettre de détecter l'origine et l'étendue potentielle du problème. Ceci ne pourra se faire qu'avec la collaboration du ou des professionnels concernés. C'est aussi l'objet de la tenue du cahier d'élevage rendu obligatoire en 1998.
 - Dans l'attente du résultat de ces analyses, les transferts de coquillages entre zones sont suspendus, dans la limite d'un arrêté préfectoral qui tient compte des constations des différents organismes concernés.
 - Lorsque les analyses réglementaires effectuées par IFREMER écartent l'hypothèse d'un agent infectieux majeur pouvant être à l'origine des mortalités, dans la limite prévue par la loi, les transferts sont de nouveau possibles.
- Quelques changements récents en matière réglementaire méritent d'être rappelés.

La réglementation en matière zoosanitaire, en l'occurrence le décret n°95-100 du 26 janvier 1995 modifié par le décret n°98-398 du 19 mai 1998 pose l'obligation de tenir à jour des registres d'élevage et de les conserver pendant 4 ans. Par ailleurs l'arrêté du 28 février 2000 (dont les dispositions sont explicitées par la circulaire du 20 mars 2000) relatif aux conditions de transport des coquillages vivants avant expédition impose que chaque transfert soit accompagné d'un bon de transport à conserver pendant 1 an. Toutefois, si l'archivage de ces bons est utilisée comme registre d'élevage, la durée de conservation est alors de 4 ans. Cette nouvelle réglementation a supprimé l'obligation d'enregistrement des mouvements effectués entre deux sites d'une même exploitation ce dont il convient de tenir compte pour la réalisation de l'enquête épidémiologique en cas d'événement zoosanitaire mettant en jeu des transferts intra entreprise.

1.2. OBJECTIFS DU RESEAU

- 1. Suivi de l'évolution des maladies à déclaration obligatoire et réalisation des analyses permettant de classer les zones : Les deux maladies concernées sont la Bonamiose et Marteiliose sur l'huître plate.
- 2. Surveillance de base des populations élevées et sauvages des mollusques bivalves.
 - Suivi de l'évolution de maladies importantes :
 - Evolution d'Haplosporidium nelsoni sur Crassostrea gigas. Cet agent appartient la liste des maladies à déclaration obligatoire mais Crassostrea Gigas est considére comme un porteur sain de la maladie.
 - Evolution de l'Herpèsvirose sur *Crassostrea gigas* (impact réel en cours d'étude)
 - Evolution de Marteilia maurini sur les moules Mytilus edulis et galloprovincialis
 - Evolution de *Perkinsus marinus* et de l'Anneau brun sur les palourdes
 - Suivi zoosanitaire général des principales espèces de coquillage d'intérêt commercial
- 3. Etude des cas de mortalités anormales.
- 4. Contrôle des échanges intra-européens ou avec des pays tiers
- 5. Contrôle du fonctionnement du réseau
- Actions de sensibilisation et de coordination entre les partenaires du réseau
- Mise en place d'essais interlaboratoires.

L'objectif 5 est traité dans la première partie de ce rapport.

1.3. ZONAGE ET ECHANTILLONNAGE

1.3.1. Principe du plan de zonage zoosanitaire du littoral français

- Les critères pour établir ce plan de zonage ont été les suivants :
 - Transferts fréquents et importants à l'intérieur d'une zone.
 - Unité administrative de décision.
 - Cohérence hydrologique et/ ou géographique.
 - Données de pathologie connues de présence ou d'absence de maladie à déclaration obligatoire.
 - Compatibilité avec les activités de contrôle.

- Les limites de zones sont les suivantes :
 - Zone 1 : étang d'Urbino et étang de Diane (Corse).
 - Zone 2 : de la frontière italienne à la rive gauche du Rhône.
 - Zone 3 : de la rive droite du Rhône à la rive gauche de l'Aude.
 - Zone 4 : de la rive droite de l'Aude à la frontière espagnole.
 - Zone 5 : de la frontière espagnole à la rive gauche de la Gironde. (bassin d'Arcachon).
 - Zone 6 : de la rive droite de la Gironde à la rive gauche de la Sèvre niortaise (Charente).
 - Zone 7 : de la rive droite de la Sèvre niortaise à la rive gauche de la Loire.
 - Zone 8 : de la rive droite de la Loire à la rive gauche du Couesnon. (Bretagne).
 - Zone 9 : de la rive gauche du Couesnon à la rive gauche de la Seine.
 - Zone 10 : de la rive droite de la Seine à la frontière belge.
- Les limites de zones sont montrées en annexe 2.
- La production et le nombre de concessions correspondantes sont indiqués ci-dessus.
 - Suivant les sources, les estimations sont sensiblement différentes.
 - Les données sont indicatives.

	Huîtres creuses	Huîtres	Moules(source	Nb de
	élevées (source	plates(source	CNC 98 en	concessions
	CNC 98 en	CNC 98 en	tonnes)	ostréicoles(sourc
	tonnes)	tonnes)		e DDAMCM
				1999)
Zone1, 2, 3, 4	10 000 T		7 000 T	2152
Zone 5	8 000 T			4478
Zone 6	30 000 T		2 000 T	27250
Zone 7	20 000 T		9 000 T(Ré	7218
			inclus)	
Zone 8	40 000 T	1 200 T	14 000 T	9695
Zone 9et 10	30 000 T		25 000 T	2472
	138 000 T	1 200 T	57 000 T	53 265

La taille des concessions et leur utilisation n'est pas forcément semblable d'une région à l'autre.

1.3.2. Echantillonnage

- Les espèces concernées sont les espèces d'intérêt économique et les espèces pouvant être considérées comme des hôtes potentiels (réservoirs, porteurs) d'agents de maladies graves pour les espèces d'intérêt économique.
- Les espèces de mollusques d'intérêt économiques pour la France métropolitaine sont les suivantes, dans l'ordre de leur valeur marchande, *Crassostrea gigas*, *Mytilus edulis* et galloprovincialis, Ostrea edulis, Ruditapes philippinarum et decussatus, Cerastoderma edule, divers Gastéropodes (dont Haliotis tuberculata), Pectinidés (dont Pecten maximus).

- L'unité épidémiologique peut être une zone, une partie de zone, une concession ou un parc ostréicole, ou enfin un gisement naturel. La population concernée par l'échantillonnage du REPAMO est exhaustive : toutes les unités épidémiologiques peuvent être l'objet d'un échantillonnage, suivant les circonstances. Pour les huîtres Crassostrea gigas adultes, par exemple, la différence entre mollusques cultivés et sauvages est essentielle : les premiers peuvent être soumis à des transferts et à des mélanges, les seconds sont restés sur place jusqu'à leur prélèvement. Un prélèvement fait sur des huîtres creuses élevés est représentatif de la population en élevage, soumise aux transferts et aux échanges, mais pas forcément de la zone où le prélèvement a été fait. La caractérisation géographique d'un point sera donc davantage interprétable sur un prélèvement fait sur un gisement ou sur des animaux « sauvages ».
- L'échantillonnage va dépendre des objectifs définis plus hauts. Il n'était évidemment pas possible de définir un seul type d'échantillonnage qui aurait pu répondre à tous les objectifs. De façon générale, le nombre d'animaux requis pour caractériser une unité épidémiologique à un moment donné est de 30 à 450 animaux. Les détails de l'échantillonnage seront rappelés pour chaque objectif dans les parties correspondantes du rapport.
- Les points d'échantillonnage pour le suivi de base ont commencé à être définis géographiquement par espèces et par zones, sur différents critères qui ont été discuté entre les cellules de veille et les laboratoires côtiers de l'IFREMER. Le positionnement par GPS des points sera effectué en 2001. Ces critères sont les suivants :
 - Importance de la production ou de la pêche à pied de l'espèce dans la zone.
 - Pérennité quasi-certaine du site de prélèvement, le site devant servir de base à une comparaison interannuelle.
 - Données de pathologie déjà existantes sur le point, ou site suivi par d'autres réseaux de surveillance. Mais il s'agit toujours soit de production en élevage par des professionnels de la conchyliculture, soit de coquillages sauvages.
 - Un minimum d'espèces et de points doivent être suivis par zones.
 - La zone 8 Bretagne a été divisée en deux zones : Bretagne sud et Bretagne nord. En effet pour un certain nombre de pathologies, les taux de prévalence sont très différents entre ces deux zones.
 - Le zonage défini au départ pour la Bonamiose et la Marteiliose de l'huître plate, avait en effet quelques limites pour l'échantillonnage de toutes les espèces de coquillages : c'est en effet une unité décisionnelle adapté pour une fermeture de zone, mais pas forcément la plus logique pour la stratégie d'échantillonnage du suivi de base des principales espèces de coquillages.

- L'aspect quantitatif de l'échantillonnage est plus ou moins défini dans la législation. Le détail de la stratégie d'échantillonnage sera rappelé dans les parties correspondantes de ce rapport.
 - Objectif 1 : classement de zones indemnes : strictement défini par la législation
 - Objectif 2 : suivi de l'évolution des maladies à déclaration obligatoire : non défini par la législation.
 - Objectif 3 : suivi de base des espèces de mollusques : non défini par la législation.
 - Objectif 4: étude des cas de mortalités anormales: précisé dans quelques cas particuliers: dans les Décisions 94/306 (huîtres plates) et 95/352 à l'intention des pays tiers exportateurs de *C. gigas*.
 - Objectif 5 : contrôle des échanges : pour les contrôles à destination, l'échantillonnage n'est pas défini dans la législation ; pour les contrôles à l'exportation vers les pays tiers, les modalités de contrôle sont spécifiées dans le code OIE ou par des accords bilatéraux. Dans les autres cas, rien n'a été précisé dans la législation.
- La principale production étant *Crassostrea gigas*, un effort particulier est fait sur cette espèce, et a été mis en place en 2000. La stratégie d'échantillonnage sur *Crassostrea gigas* tient compte de la situation de la production et des classes d'âges, comme le précise <u>l'annexe 3</u>. La production en élevage est principalement issue du captage naturel de Charente et d'Arcachon, seulement 10% environ est produit en écloserie. Le naissain est ensuite transféré dans toutes les zones. Le suivi du REPAMO concerne pour l'instant le captage naturel. Le contrôle des larves du captage naturel est effectué en collaboration avec le suivi des pontes de la Direction de L'Environnement Littoral de l'IFREMER. Le suivi du naissain est effectué avec l'aide des professionnels de Charente (site sentinelle de Fouras) et d'Arcachon, sur des sites suivis de façon inter annuelles. Le suivi des autres classes d'âge est effectué sur toutes les zones de production. Le suivi des adultes en élevage permet de garantir nos échanges à l'exportation vis à vis des maladies à déclaration obligatoire (Thébault *et al.*, 2001), celles—ci s'exprimant surtout en période estivale. Le suivi en automne-hiver permet d'acquérir des informations comparatives.

1.4. FONCTIONNEMENT DU RESEAU EN 2000

Le fonctionnement du réseau est décrit en fonction des grilles d'évaluation les plus communément admises pour les réseaux de surveillance zoosanitaire des maladies animales (Dufour, 1997).

1.4.1. Mode de collecte des données :

- Le réseau est de type actif-passif:
 - Actif lorsque l'information est demandée par le réseau lui-même, par des prélèvements fixés à l'avance, ou lorsque l'animateur interroge de manière régulière les acteurs de terrain, ce qui est le cas en période estivale.
 - Passif lorsque les données produites sur le terrain remontent spontanément du terrain sans interrogation particulière.
 - Le tableau ci-dessous rappelle la situation du REPAMO, en fonction de ses objectifs :

COLLECTE ACTIVE	COLLECTE PASSIVE
 Classement de zones. Suivi de l'évolution des maladies à déclaration obligatoire. 	 Déclaration des cas de mortalité anormale. Déclaration d'importations et d'exportations.
 Suivi de base des mollusques. Suivi des mortalités anormales estivales. 	

1.4.2. Description du fonctionnement et sensibilisation des acteurs en 2000

<u>L'annexe 4</u> rappelle le fonctionnement du réseau en cas de mortalité anormale.

Le réseau fonctionne de façon **autonome**, c'est à dire qu'il ne s'appuie quasiment pas sur d'autres actions préexistantes, et qu'il doit financer la création des données qui seront exploitées (prélèvements, analyses). C'est aussi le cas, à IFREMER pour la plupart des réseaux de surveillance, comme le REMI.

- L'efficacité de la surveillance passive va dépendre du volontariat des professionnels et de l'obligation légale de la déclaration.
 - La sensibilisation du milieu professionnel à la surveillance zoosanitaire a pris différentes formes en 2000 :
 - Participation des laboratoires côtiers aux réunions avec les SRC (Syndicats Régionaux de la Conchyliculture) et des administrations concernées par la filière conchylicole.
 - Participation aux réunions de syndicat ostréicole.
 - Publication dans la lettre aux médias de l'IFREMER de mai 2000 d'un article sur le REPAMO.
 - Participation de l'animatrice du réseau à une réunion avec les SRC et la DDAM d'Arcachon, sur les mortalités des larves.
 - Organisation d'une réunion entre les personnes de l'IFREMER participant au REPAMO avec les DDAM, les DRAM des différentes régions du littoral et la DPMCM sur la surveillance zoosanitaire le 27 avril 2000.
 - Participation aux congrès et aux manifestations des professionnels.

1.4.3. Acteurs du repamo:

• Les partenaires extérieurs à IFREMER :

- Les professionnels sont soumis à une obligation de déclaration des cas de mortalité anormales, conformément au décret de mai 1998. Les conchyliculteurs ou leurs représentants sont parfois directement au contact des laboratoires d'analyses et effectuent par eux-mêmes les estimations de mortalité et les prélèvements nécessaires aux analyses. Les questionnaires leur sont soumis le plus souvent par téléphone ou par contact direct, voir par courrier dans certains cas.
- Les DDAM sont avertis en cas de mortalité anormale, en accord avec la législation. Les DDAM font alors appel à l'IFREMER pour établir les origines

possibles de mortalité. Les DDAM sont une source précieuse d'information, d'estimation des mortalités et de prélèvements pour le réseau repamo.

Au sein d'IFREMER

- Les laboratoires côtiers: Une partie du travail des laboratoires côtiers de l'IFREMER concerne le repamo. Les laboratoires côtiers de l'IFREMER effectuent les prélèvements et soumettent les questionnaires aux professionnels concernés. Ils effectuent aussi, suivant les cas, des estimations de mortalité. Une douzaine de laboratoires côtiers de l'IFREMER travaillent régulièrement avec le repamo. Les laboratoires côtiers étudient par ailleurs les aspects zootechniques et environnementaux des cas de mortalité anormale, ce qui peut permettre de mieux gérer la surveillance zoosanitaire.
- Les laboratoires d'analyse : Trois cellules de veille zoosanitaire (Palavas, La Tremblade et La Trinité) sont en charge des zones du littoral français leur correspondant (Méditerranée, Atlantique Sud et Nord Loire). Les personnes des cellules de veille peuvent aussi effectuer des prélèvements, des estimations et soumettre des questionnaires. Les modèles de questionnaires sont d'ailleurs issus des cellules de veille. Mais leur activité principale réside dans la recherche d'agents infectieux sur les prélèvements réalisés, dans l'analyse des résultats obtenus, la saisie informatisée et la communication des résultats obtenus.
- La coordination des trois cellules et l'animation du réseau sont actuellement assurés depuis le laboratoire de La Tremblade.
- Le réseau bénéficie aussi de l'apport des nouvelles techniques diagnostiques mises au point par l'équipe de chercheurs de La Tremblade, au sein du laboratoire de référence national et européen des maladies des mollusques.
- La situation géographique des différents laboratoires acteurs du réseau sont rappelés dans <u>l'annexe 5</u>.

1.4.4. Outils utilisés

1.4.4.1. Questionnaire et commémoratifs

Le travail mené entre les cellules de veille, les laboratoires côtiers et la coordination du réseau a permis l'élaboration d'un questionnaire unique pour les mortalités anormales en milieu ouvert, quelque soit l'espèce et la zootechnie utilisée. Ce questionnaire, est prévu pour être soumis par interview téléphonique ou interview directe. Dans le pire des cas, il peut aussi être envoyé par courrier, après de plus amples explications sur plusieurs paragraphes. Le modèle est donné en annexe 6.

Le travail mené entre l'IFREMER, la DPMCM et les DDAM, suite à la réunion de travail d'avril 2000, a permis de convenir d'une stratégie d'action en cas de mortalité anormale. Un certain nombre de renseignements sont accessibles à l'IFREMER via les DDAM, afin de permettre à l'IFREMER de mener au mieux une enquête épidémiologique sur l'origine d'une mortalité anormale. Le type de renseignements dont il question est donné en annexe 7.

1.4.4.2. Estimation des mortalités

Il s'agit d'une mesure difficile à établir avec exactitude et précision. Suivant les méthodologies employées, plus ou moins lourdes, la qualité de cette mesure sera plus ou moins correcte. Elle permet cependant d'établir si oui ou non les mortalités en cause sont audelà du seuil défini dans la législation (décret 98/391).

1.4.4.3. Prélèvements :

Les animaux sont prélevés vivants et entiers, puis expédiés rapidement en frais, avec ou sans protection du froid au laboratoire. En effet ne pourront être traités que des animaux encore vivants ou moribonds. L'échantillonnage a été détaillé plus haut.

1.4.4.4. Analyses de laboratoire au sein des cellules de veille

Les techniques utilisées vont dépendre, une fois encore, des objectifs, mais aussi éventuellement de l'espèce de mollusque, voir de la classe d'âge. <u>L'annexe 8</u> résume l'utilisation des techniques de diagnostic en fonction des objectifs.

• La technique de référence reste l'examen anatomo-pathologique, ou histologie classique avec fixation au Davidson et coloration à l'hémalun éosine, qui permet d'établir un diagnostic générique ou de suspicion sur le plus grand nombre d'agents infectieux connus. Cette technique est donc utilisée en priorité sur toutes les autres techniques, notamment en cas de mortalités anormales

D'autres techniques sont utilisées comme :

- histologie avec coloration de Feulgen et Rossenbeck : permet de préciser les anomalies nucléaires en cas de suspicion virale ou bactérienne.
- histologie avec coloration au Trichrome de Masson : comparable à l'hémalun-éosine.
- la microscopie électronique à transmission : en complément de l'histologie cette technique permet l'identification de l'agent rencontré, ou de confirmer la suspicion. La lourdeur et les contraintes de ce type d'analyse restreignent considérablement le nombre d'animaux, voir de tissus pouvant être analysés.
- l'examen macroscopique : accompli de façon globale systématiquement pour chaque analyse, cet examen peut être spécialisé dans la recherche de parasites macroscopiques comme *Mytilicola*, les crabes pinnothères.
- l'état frais : la dissection grossière de l'animal est suivie de l'examen au microscope photonique et permet l'identification de parasites, des Trématodes ou des Turbellariés, essentiellement.

- **le frottis** est une apposition d'organes, sur une lame observée au microscope photonique, après coloration à l'hémacolor. Cette technique est plus rapide que l'histologie pour la détection des parasites *Bonamia ostreae* et *Marteilia refringens*.
- l'analyse bactériologique : les analyses sont réalisées par ensemencement sur milieu gélose au Zobell et gélose TCBS, puis identification biochimique suivant les cas.
- la culture au thioglycollate : il s'agit d'un milieu sélectif permettant la détection quantitative du parasite *Perkinsus atlanticus* sur les palourdes *Ruditapes philippinarum et decussatus* au microscope photonique.
- la technique de détection par PCR (Polymérase Chain Reaction) de virus de type herpès sur larves et naissain d'huîtres (T. Renault, com. pers.). L'amplification enzymatique permet une multiplication exponentielle des copies de l'ADN viral recherché, ce qui le rend détectable sur un gel. En 1997 les amorces utilisées étaient A3-A4, A5-6 et la réaction était une Nested PCR (deux cycles de réactions d'amplification). En 1998 les amorces utilisées sont différentes, il s'agit d'OHV3-OHV4, et la réaction est une simple PCR (un seul cycle). En 1999, les amorces ont une nouvelle fois changé pour des amorces à priori plus sensibles, à savoir OHV3-OHV114, mais la réaction est toujours une PCR « simple ». En 2000, les amorces utilisées sont toujours OHV3-OHV114. Les animaux entiers sont analysés le plus souvent par pools de 5 animaux. Pour contrôler l'absence de contaminations, à chaque analyse sont systématiquement ajoutés des témoins négatifs. Des témoins contenant de l'ADN viral à différentes concentrations servent de témoins positifs.
- l'hybridation in situ. Cette technique permet de détecter, grâce à une sonde nucléique spécifique, une séquence nucléique (ADN ou ARN) de l'agent pathogène recherché, directement sur une lame histologique. Cette technique peut ainsi confirmer la suspicion de présence d'un agent, présent sur le territoire ou non, de façon plus rapide que la microscopie électronique. Cette technique a été utilisée en 2000 mais n'est pas encore utilisée en routine.

1.4.5. Contrôle de la qualité des techniques d'analyse en 2000 :

- en histologie : un essai interlaboratoire a pu être organisé entre les trois cellules de veille. Cet essai a été aussi utilisé au cours des essais interlaboratoires à l'échelon européen, entre laboratoires nationaux de référence, au cours la période 2000-2001.
 - Cet essai portait sur la détection de tous les agents de la liste des maladies à déclaration obligatoire de la Directive 95/70 et 91/67 (annexe1). L'essai portait également sur le diagnostic de *Perkinsus marinus* sur les palourdes, de *Marteilia refringens* sur les moules et de *Marteilioides* sur *Crassostrea gigas*.
 - 40 lames, mélangeant animaux sains et contaminés à différents stades d'infestation ont été lues en aveugle par les différents laboratoires.
 - Sur ces 40 lames, seule une lame très faiblement infestée en *Haplosporidium_nelsoni* sur *Crassostrea gigas* n'a pas été détectée par la cellule de veille de Palavas et de La Trinité. *refringens* n'a pas été détecté. La concordance est donc très élevée entre les trois cellules. La cellule de la Tremblade sert de référence en Europe, et la concordance entre les trois cellules est bien meilleure que celle obtenue avec les autres laboratoires nationaux de référence.

• en PCR: essais interlaboratoires 2000 pour la détection de l'ADN de virus de type herpès

La mise au point et les améliorations des outils de diagnostic pour la recherche d'ADN de virus de type herpès ont été réalisées par T. Renault. (IFREMER la Tremblade).

Les essais interlaboratoires sont l'occasion de contrôler l'intercalibration des techniques qui ont été utilisées au cours de l'été, au niveau des réactifs et des échantillons

L'objectif des essais interlaboratoires 2000 étaient le suivant :

• Valider les résultats obtenus au cours de l'année 2000, avec les amorces OHV3-OHV114, pour les trois laboratoires d'analyse.

Description des essais:

- Essai 1 : contrôle des réactifs, du thermocycleur et de la répétabilité du manipulateur avec les amorces OHV3-OHV114:
 - Le thermocycleur dispose de 54 positions différentes. Pour chaque position on dispose un tube de PCR contenant à la place de l'échantillon de l'eau ou du témoin virus purifié.
 - Résultats : la répétabilité est parfaite pour les trois cellules.
- Essai 2: détection sur des lots de naissain d'huîtres creuses avec les amorces OHV3-OHV114.
 - Une vingtaine de surnageants contenant des pools d'échantillon, venant de chaque cellule de veille, soit 60 surnageants en tout de différentes origines dont 20 surnageants trouvés positifs au cours de l'année 2000, ont été centralisé à la Tremblade. 5 de ces surnageants venant de la cellule de La Trinité/ mer avaient présenté de l'inhibition. Les échantillons ont été randomisés (essai en aveugle), divisés en trois lots et renvoyé aux deux cellules d'analyse de Palavas et de la Tremblade.
 - Résultats: la reproductibilité entre les trois cellules de veille en 2000 est excellente avec un kappa moyen de 0,9. Sur les 20 échantillons positifs, La Tremblade en détecte 19, Palavas 16 et La Trinité 14. La concordance la plus basse est entre La Trinité et La Tremblade, elle est de 0,85 avec un X2 significatif à 5%. La concordance entre Palavas et La Tremblade est de 0,9, comme celle de Palavas et de La Trinité, avec un X2 non significatif à 5%. La Tremblade a tendance a trouver davantage de positifs que les autres cellules, ce qui peut venir du thermocycleur, d'un modèle différent des deux autres cellules, ou du manipulateur, des réactifs ou de la lecture sous la table UV. On observe l'absence de contaminations pour toutes les cellules puisque tous les échantillons négatifs ont bien été trouvés négatifs. Cette concordance et cette reproductibilité sont cependant très satisfaisantes, bien supérieure à celle de 99 et de 98, de l'ordre de 0,7 et 0,5, et si on la compare à la reproductibilité moyenne d'autres techniques de santé animale, où un kappa de 0,6 est considéré comme une valeur satisfaisante (Grenier, 1989).
 - Le problème évoqué en 99 à Palavas venait donc bien à priori d'un problème de réactifs, ou de transport des échantillons.

- Essai 3 : test de l'inhibition de réaction.
 - Un fragment d'ADN viral néosynthétisé, et de taille attendue différente de celui du fragment d'ADN du virus natif a été rajouté dans chaque tube de surnageant négatif aux précédents essais.
 - Tous les surnageants trouvés négatifs ont été testé à l'aide d'un témoin interne. Cet essai a été effectué deux fois pour toutes les cellules de veille. Il n'a pas été retrouvé d'inhibition de réaction sur l'ensemble des surnageants négatifs, même sur les 5 surnageants classés dans cette catégorie. La concentration du fragment interne qui avait été utilisée à la Trinité, à titre expérimental, n'était pas la bonne, aboutissant à ce résultat excessif sur les 5 surnageants. Une fois ce problème résolu, la Trinité obtient les mêmes résultats que les autres cellules. Cette expérience, menée séparément, ne remet pas en cause les résultats obtenus à La Trinité en 2000, car le test de l'inhibition est mené à part, en dehors du test de détection.

Conclusion

Ces essais sont très encourageants en raison de l'absence de contaminations et d'inhibitions détectées. L'utilisation des amorces OHV3-OHV114 pour la détection d'ADN viral a été mis en place sans problème particulier en 2000.

1. 5. RECUEIL DES DONNEES DU REPAMO ET LA DIFFUSION DE L'INFORMATION

Le recueil des données

- Le recueil des données se fait au moyen de questionnaires pour les mortalités anormales ou de renseignements précis que l'agent préleveur communique aux laboratoires d'analyse.
- Les résultats d'analyse et les renseignements sur le lot sont enregistrés sur une version papier, mais aussi saisis sur une base de données, sous ACCESS.
- La base de données du REPAMO est accessible pour les trois cellules de veille et possède une sauvegarde automatique (A.G. Martin). Son accès est strictement limité aux personnes habilitées à la consulter. Des sorties sous EXCELL sont possibles et un certain nombre d'exploitations sont automatisées. Un travail en cours vise d'une part à relier les données de cette base aux bases de données sous ARCVIEW et d'autre part à rendre une partie de la base de données accessible aux autres réseaux de surveillance environnementaux de l'IFREMER.

• La diffusion de l'information

- Les compte rendus d'analyse sont envoyés directement et confidentiellement aux professionnels concernés par les laboratoires d'analyse, et une copie est envoyée au laboratoire côtier correspondant.
- Des avis techniques sont rendus aux DDAM et aux services préfectoraux et dans le cas de mortalité anormale d'une certaine ampleur.
- La liste électronique a été crée en 1997. Ce forum électronique est contrôlé par un modérateur, l'animateur du repamo. Depuis sa création cette liste interne à IFREMER a connu un succès non négligeable puisque plus de 65 personnes ont demandé à faire partie de la liste, appartenant à différentes directions de l'IFREMER. Cette liste est un outil qui répond à plusieurs objectifs :
 - Mobiliser les compétences et les informations le plus rapidement possible pour répondre aux situations de mortalités anormales.
 - Apporter des informations ou des connaissances sur le thème de la pathologie des mollusques, de la surveillance zoosanitaire, et des mortalités anormales de mollusques marins.
 - Les bulletins d'information sur les mortalités estivales :
 - 3 bulletins d'information sont diffusés tous les mois, via la messagerie électronique au sein de l'IFREMER, mais aussi vers la DPMCM et le CNC pour diffusion aux SRC. Ces bulletins permettent d'apprécier la situation zoosanitaire au cours de l'été dans les différents bassins/zones de production.
 - Le bilan annuel du repamo 1999 a été diffusé à plus de 150 exemplaires auprès des différents partenaires du réseau.

2/ RESULTATS DES ANALYSES DU REPAMO EN 2000

2.1/ EFFORT D'ANALYSE GLOBAL REALISE EN 2000

• Effort d'analyse global en fonction des zones

_	Histologie		Frottis		F	PCR		TOTAL		
Zones	Nombre de lots	Nombre d'individus								
0					1	30	1	30		
1	6	180	,				6	180		
2	3	90					3	90		
3	6	213			8	250	14	463		
4	4	120					4	120		
5	13	424			20	480	33	904		
6	17	498			64	1200	81	1698		
7	11	330			2	60	13	390		
8	66	1918	22	771	10	300	98	2989		
9	19	791	1	15			20	806		
10	9	762	3	284			12	1046		
Total 1996		2763		3362		3715		9840		
Total 1997		3776		4081		4665		12522		
Total 1998		4717		2395		9061		16173		
Total 1999	153	4220	84	2385	154	4524	391	11129		
<u>Total</u> 2000	154	5326	26	1070	105	2320	285	8716		

Le nombre de lectures histologiques, qui est la technique de référence, pour la surveillance et la vigilance augmente régulièrement depuis 1997 et ceci malgré les changements de personnels qui sont intervenus au sein des cellules de veille. Ceci correspond à un objectif de surveillance et de vigilance qui porte moins sur le virus Herpès que sur tous les autres agents, notamment ceux de la liste des maladies à déclaration obligatoire.

De surcroît ce nombre devrait encore augmenter pour 2000 car encore aujourd'hui, malheureusement, des lots fixés n'ont pas encore été lus.

Un résultat n'est pas dans le tableau mais doit être pris en compte : le nombre de *Crassostrea gigas* lus par histologie est cependant resté constant entre 1999 et 2000, passant de 1610 à 1578, ce qui correspond à un peu plus de 50 prélèvements de 30 individus sur tout le littoral.

Globalement le nombre d'analyses pour la surveillance zoosanitaire a chuté, mais ceci est dû à la baisse de l'utilisation des frottis et de la PCR. L'utilisation des frottis était d'ailleurs surtout utilisé au cours d'études particulières sur l'huître plate ou pour examen privé car ce n'est pas une technique de référence comme l'histologie. L'utilisation de la PCR pour le diagnostic de virus de type Herpès a diminué car le suivi du site de Fouras en zone 6 a été allégé, des études en zone 8 ont été arrêtées et le nombre de déclarations de mortalités anormales de naissain n'est pas très élevé en 2000.

• Larves de Crassostrea gigas

	PCR		Total		
Zone	Nombre de lots	Nombre d'individus	Nombre de lots	Nombre d'individus	
6	3	X	3	X	
5	12	X	12	X	

Ces larves, dont le nombre d'individus pourrait induire un biais dans le tableau précédent ont mis à part et ne sont pas comptés dans le tableau précédent.

• effort d'analyse en fonction des objectifs

Motifs	Nombre d'animaux analysés	Pourcentage du total
Suivi huîtres plates	1276	11,2
Suivi gisements	1532	13,5
Suivi élevages	2685	23,6
Mortalités anormales	2361	21,5
Contrôle aux Importations	328	2,9
Soutien aux programmes Test de souches huîtres plates	830	7,3
Soutien aux programmes Autres (croissance gigas et REMORA)	226	2
Essai génétique	1586	13,9
Privé	220	1.9
Autre étude	36	0.3
Total	11390	100

Il est normal de ne pas trouver les mêmes totaux entre les deux tableaux précédents, car le soutien aux programmes de l'IFREMER autres que zoosanitaires n'ont pas été reportés dans le premier tableau. La

charge des essais interlaboratoires n'a pas été comptabilisée dans les deux tableaux. Le suivi des huîtres plates a diminué ce qui correspond aux frottis, de même que le suivi d'élevage ce qui correspond aux PCR.

Effort d'analyse en fonction des espèces

Espèce	Nombre d'animaux analysés	% du total
Crassostrea gigas	4529	38,9
Ostrea edulis	4480	38,4
Mytilus galloprovincialis	90	0,8
Mytilus edulis	1267	10,9
Cerastoderma edule	468	4
Ruditapes decussatus	232	2
Ruditapes philippinarum	430	3,7
Haliotis tuberculata	6	0,1
Pecten maximus	30	0,3
Ostrea lurida	56	0,5
Scrobicularia plana	20	0,2
C. angulata	16	0,1
Crassostrea rhizophorae	29	0,2
Crassostrea gasar	1	0
Total	11654	100

L'ordre correspond aux objectifs du réseau et à l'importance économique des différentes espèces.

2.2. EPIDEMIOSURVEILLANCE

L'épidémiosurveillance concerne le suivi d'agents pathogènes précis sur une ou plusieurs espèces données, présents sur le territoire d'observation.

Plusieurs agents font l'objet d'études particulières :

- Il peut s'agir d'agents de maladies graves pour le coquillage, à déclaration obligatoire, comme *Bonamia* et *Marteilia* pour l'huître plate.
- Il s'agit d'Haplosporidium nelsoni sur Crassostrea gigas.
- Il peut s'agir d'un agent dont on ne connaît pas encore toutes les caractéristiques épidémiologiques, mais qui affecte la principale espèce de coquillage cultivé en France. Il s'agit de décrire la répartition et l'évolution d'un pathogène sous surveillance, le virus de type herpès sur le naissain de *Crassostrea gigas* principalement.
- Il s'agit de Marteilia refringens sur les moules, mais qui sera analysé dans les parties 3 et 4.
- Il s'agit de *Perkinsus marinus* et de l'Anneau brun à VP1 sur les palourdes, mais qui sera analysé dans les parties 3 et 4.

2.2.1. SUIVI DES MALADIES A DECLARATION OBLIGATOIRE PRESENTES SUR LE TERRITOIRE, BONAMIA ET MARTEILIA:

Le réseau effectue le suivi de maladies à déclaration obligatoire : Bonamia ostreae et Marteilia refringens sur Ostrea edulis.

Ces deux maladies ont été classées dans la liste II de la Directive 91/67/CEE et figurent dans la liste des maladies à déclaration obligatoire du Code Sanitaire International pour les animaux aquatiques de l'OIE.

Officiellement ce sont les deux seules maladies, touchant les mollusques, de cette liste qui sont présentes sur le territoire national.

L'échantillonnage requis pour suivre l'évolution de zones classées contaminées n'a pas été fixé par la législation, mais un minimum de trente animaux/zones, deux fois par an, semblait être le minimum pour détecter les deux agents.

• Rappels sur ces maladies :

La marteiliose est une maladie dont l'agent responsable est Marteilia refringens (Grizel et al., 1974), protozoaire du phyllum des Paramyxa (F. Berthe, et al, 1999) parasite de l'huître plate. En 1967 la maladie des Abers a déclenché des mortalités anormales dans l'estuaire de l'Aber Wrach, dans le Finistère, puis la maladie s'est rapidement propagée du nord de la Bretagne au bassin d'Arcachon (Herrbach,B.., 1971; Grizel 1985), provoquant une baisse importante de la production d'huîtres plates.

Le parasite est un protozoaire extracellulaire qui est principalement observé dans le tractus digestif, par histologie ou frottis. Il interférerait avec l'absorption de nourriture et provoque la destruction de l'épithélium digestif de l'hôte, ce qui peut conduire l'animal à la mort. Les modes de transmission de la maladie sont en cours d'étude (F. Berthe et al., 1998). Le cycle comporterait un hôte intermédiaire.

La marteiliose est une maladie saisonnière qui se caractérise par un taux d'infection très élevé en été et en automne, quand la température de l'eau dépasse 17°c. La deuxième année de présence sur un site infesté aboutit à la mort massive des animaux qui ont été exposés. La répartition de la maladie dans le monde est donnée en <u>annexe 9</u>. La maladie semble moins se développer au nord de la France et moins affecter les huîtres plates élevées en eau profonde. Différentes espèces de Marteilia ont été décrites en Europe, les relations taxonomiques de ces différentes espèces ont été étudiées sur la base de séquences du gène de la petite sous-unité ribosomale (Le Roux et al, 2001). Il n'existerait dans les zones européennes étudiées deux espèces de Marteilia, Marteilia refringens et maurini, qui ont respectivement un tropisme préférentiel pour les moules (Mytilus edulis et galloprovincialis) et les huîtres plates, respectivement (Le Roux et al, 2001). La marteiliose fait partie des maladies à déclaration obligatoire à l'OIE.

Bonamia ostreae est un protozoaire, du phyllum des Ascetospora, parasite de l'huître plate ostrea edulis, responsable de la Bonamiose. La maladie a été introduite accidentellement en Bretagne en 1979, et s'est rapidement propagée à l'ensemble du littoral français. L'agent a été décrit (Y. Pichot et Al, 1980) comme un parasite intracellulaire, infectant les hémocytes de l'huître, qui interviennent dans la défense immunitaire (N. Cochennec, 1997). Les mortalités liées à ce parasite sont massives pour l'huître plate. La transmission se fait d'individus à individus, mais la phase d'incubation est longue, 3 mois, pendant laquelle le parasite est non détectable.

Le parasite peut être détecté par histologie ou frottis. Les plus fortes prévalences sont trouvées pendant la saison estivale avec un pic en septembre. Des outils de détection par PCR et par hybridation in situ pour la détection de Bonamia ostreae ont été mis au point en 1999 et 2000. (N. Cochennec et al, 2000)

La bonamiose à Bonamia ostreae fait partie des maladies à déclaration obligatoire à l'OIE.

18

• Résultats sur Bonamia ostreae et Marteilia refringens sur Ostrea edulis

• Qualité des analyses: des essais inter-laboratoires ont été organisés en 2001 sur le diagnostic histologique des maladies à déclaration obligatoire entre les trois cellules d'analyses françaises. 40 lames ont été examinées par chaque laboratoire. Sur ces 40 lames, 10 portaient sur l'examen de Bonamia ostreae et de Marteilia refringens sur Ostrea edulis, mélangeant des individus indemnes et des individus atteints à différents niveaux d'infestation. La concordance des trois laboratoires, la Trinité, Palavas et La Tremblade a été totale sur ces 10 lames. Il s'agit du même test qui a été utilisé pour les essais interlaboratoires européens en 2001. Le laboratoire de la Tremblade est en effet le laboratoire de référence pour l'UE.

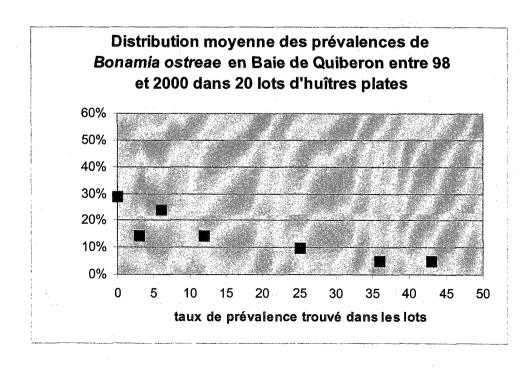
• Résultats des analyses réalisées dans les zones infectées :

• Pour Bonamia ostreae sur Ostrea edulis:

Les résultats de 2000 et la synthèse des résultats de 1998 à 2000 est donnée en <u>annexe 9 et 10</u>, respectivement.

Il existe une forte variabilité de prévalence, qui dépend du site, de la densité d'élevage, de l'âge des huîtres, et certainement d'autres facteurs comme la température et les pratiques d'élevage. La carte récapitulant les résultats d'analyses de 1998 à 2000 montre des taux de prévalence parfois très faibles, probablement parfois inférieurs à 0,5 %. Cela ne veut pas dire que la maladie n'existe plus ou n'est pas active, mais que les densités et les conditions d'élevages ont évoluées, et que nos échantillons n'optimisent pas forcément la détection du parasite, aboutissant à des estimations de taux de prévalence assez faibles. Il faut aussi tenir compte des variations inter-annuelles. Seule une série temporelle plus longue, menée sur des échantillons comparables permettraient de décrire des tendances, ce qui n'est pas encore le cas aujourd'hui. Le suivi sur 3 ans permet cependant de vérifier l'infection dans toutes les zones de 2 à 8.

Un exemple de ces variations de taux de prévalence, sur un site comme la baie de Quiberon, dans le graphe ci-dessous. Les variations de ces taux de prévalence montrent différents groupes qui correspondent surtout aux différences de classe d'âge, les taux de prévalence les plus élevés sont atteints par les classes d'âge les plus âgées.



• Pour Marteilia refringens

Les résultats de 2000 et la synthèse des résultats de 1998 à 2000 est donnée en annexe 11 et 12, respectivement.

Les considérations sur Bonamia ostreae sont aussi valides pour Marteilia refringens. Deux spécificités sont à noter cependant : il semble qu'il existe une barrière géographique au-delà du nord de la Bretagne, et d'autre part qu'il existe de fortes variations du taux de prévalence suivant le niveau d'exondation. Le bilan entre 1998 et 2000 montre assez bien que les plus forts taux de prévalence se rencontrent sur la facade méditerranéenne. Ceci est à pondérer en fonction de facteurs environnementaux locaux : si on considère par exemple la zone 6, le prélèvement est fait sur un gisement d'un secteur découvrant, mais dans une zone ouverte. Dans ce cas la prévalence en Marteilia refringens semble inférieure à 2%, à 5% d'erreur avec un test parfait. A des fins de recherche, des huîtres plates françaises d'origine d'écloserie, et vérifiées indemnes, ont été immergées dans des claires ostréicoles à quelques kilomètres de là, toujours dans la zone 6 (Audemard et al., 2001). Après quelques mois, les taux de prévalence rencontrés variaient dans ce type d'environnement de 20 à 60% pour la première année d'exposition, à 90% pour la deuxième année, sans observer, pour les animaux de la deuxième année d'exposition de variations du taux de prévalence entre mai et juillet (Audemard et al., 2001). Toutes ces huîtres qui montraient un taux de prévalence de 90% et un fort taux d'infestation sont d'ailleurs mortes massivement à la fin juillet, avec un taux de mortalité de 100%(Audemard et al., 2001).

On comprend alors qu'il faudrait pouvoir comparer les taux de prévalence entre régions à des niveaux d'exondation et de confinement comparables, ou au moins prêter attention à ces facteurs dans l'analyse des résultats. Enfin, dans le cas de la Bonamiose comme de la Marteiliose, il semblerait utile de tenir compte non seulement du taux de prévalence, mais aussi du taux d'infestation, qui influe sur la gravité des mortalités rencontrées et sur la sensibilité de la technique histologique utilisée.

Tableau des résultats pour l'année 2000

Zones	Sites	Mois	Age et origine	Nombre d'individus analysés / par quelle technique	Résultats pour Marteilia refringens	Résultats pour Bonamia ostreae
8	Cancale	Octobre	2 ans Captage 1998 coque de moule	• 50 frottis cœur	Non recherché	3/50
			golfe du Morbihan Semé printemps 1999 à Cancale	• 30 coupes histologiques	0/30	0/30
8	Baie de Quiberon	Novembre	3-4 ans Captage naturel Penthièvre tout-venant resté sur place	• 50 frottis cœur	Non recherché	14/50
8	Baie de Quiberon	Novembre	3-4 ans Captage naturel Banc Amodié Penthièvre	● 50 frottis cœur	Non recherché	18/50
8	Baie de Quiberon	Novembre	2-3 ans Captage naturel Banc Amodié Penthièvre	• 50 frottis cœur	Non recherché	12/50
8	Baie de Quiberon	Novembre	18 mois Captage naturel Penthièvre tout-venant resté sur place	• 30 coupes histologiques	Non recherché 0/30	2/50 1/30
8	Baie de Quiberon	Novembre	2-3 ans Captage naturel	• 30 frottis cœur	Non recherché	5/30

		,		7	,	
			Penthièvre			
			tout-venant			
			resté sur place			
			naissain			
8	Plouharnel	mars		• 50 frottis cœur	0/50	0/50
		1	Captage 1999	et glande digestive		
			coque de moule			
			Plouharnel			
			3-4 ans			
8	Rivière d'Etel	mars		• 30 frottis cœur	0/30	2/30
			Captage 1996	et glande digestive		
			Adulte en			
			élevage			
	!		Resté au sol			
7	Roches de	Mai	Adultes élevées	30/histo.	0/30	0/30
	Graisseloup					
				•		
6	Ile de Ré	Juillet	Adultes sauvages	29/histo.	O/29	0/29
5	Banc d'Arguin	Avril	Adultes sauvages	28/histo.	7/30	0/30
4	Port Leucate	Juillet-	Adultes	60 histo.	36/60	1/60
	0: 1	octobre	GN Port Leucate	20.11	01/00	0.00
4	Gisement de Port Leucate	juillet	adultes	30/histo	21/30	0/30
	Port Leucale		(24 mois) Gisement naturel			
			Gisement naturer			
3	Thau et Sète	An 2000	Jeunes	histo. et frottis	202 / 590	5 / 450
		121100	Ecloserie		2027 050	37 150
2	Golfe de Fos	06	Jeunes	30 histo.	25/30	0/30
	Carteau		GN Carteau			
2	Elevage de	juin	jeunes	30 histo	25/30	0/30
	Carteau		(10 mois)			
	(Golfe de Fos)		Gisement naturel			
		L	<u></u>			L

Résultats classification des zones en cours d'agrément

- Résultats des analyses réalisées sur les zones en cours d'agrément :
- Gisement de Granville (en eau profonde, en zone 9): entre 1992 et 2000, 1011 individus ont été examinés par examen histologique. La procédure d'agrément, conformément à la directive 94/306, comprend l'examen de 150 individus, deux fois par an, pendant deux ans, soit un examen de 600 individus. Si cet effort peut être ramené à un seul prélèvement, ce qui suppose qu'il n'y a pas eu de changements dans cette population, ni dans la qualité des analyses, ce qui peut se concevoir, la probabilité que cette population soit infectée à 2% (chiffre donné par la Directive) est inférieure à 1/10000, ce qui est bien inférieur au 5 % de probabilité, défini comme le seuil de risque de la Directive. Enfin, avec cette approche on peut garantir que ce gisement est indemne de ces maladies avec un niveau seuil de prévalence de 0,005 ou de 0,5 % avec un niveau de confiance supérieur à 95%.
- Zone 10: seul le gisement naturel de Veules Les roses (zone découvrante) a été retenu comme point de prélèvement pour la zone 10. A la fin 2000, 564 individus du gisement ont été analysés. 148 individus d'origine écossaise, d'une zone en cours d'agrément ayant produit un certificat de zone indemne vis à vis de la réglementation de l'OIE, après plusieurs mois de mise sur site ont été examinés par histologie. Ces animaux ne se sont pas contaminés. De la même façon que précédemment, tenant compte des résultats sur 564 individus, la probabilité que cette population soit infectée à 2% est inférieure à 1/1000.

Zones	Sites	Mois	Age et origine	Nombre d'individus analysés / par quelle technique	Résultats pour Marteilia refringens	Résult ats pour Bonam ia ostreae
9	Gisement de Granville	novemb re	adultes Gisement naturel	• 65 frottis cœur	Non recherché	0/65
				• 150 coupes histologiques	0/150	0/150
10	Veules les Roses	mai	18 mois Captage 1998 Ecosse	• 118 frottis cœur et glande digestive	0/118	0/118
			Transféré en mars 2000 à Veules les Roses	• 100 coupes histologiques	0/100	0/100
10	Veules les Roses	novemb re	2 ans Captage 1998 Ecosse	• 48 frottis cœur	Non recherché	0/48
			Transféré en mars 2000 à Veules les	• 48 coupes histologiques	0/48	0/48

			Roses			
10	Veyler les Doses		3 ans	1 00	0/100	0/100
10	Veules les Roses	re	Captage naturel 1997	● 100 coupes histologiques	0/100	0/100
			Veules les Roses			

Rappel sur l'effort d'analyse effectué les années précédentes

	1992	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	Total
Granville (zone 9)	152	50	150	132	151	76	150	150	1011
Veules les Roses (zone 10)					141	123	150	150	564

2.2.2/ EPIDEMIOSURVEILLANCE *D'HAPLOSPORIDIUM NELSONI* SUR *CRASSOSTREA GIGAS*

L'Haplosporidiose à *Haplosporidium nelsoni* (MSX) fait partie de la liste des maladies à déclaration obligatoire. Cette maladie crée de fortes mortalités sur *Crassostrea virginica*, aux Etats Unis, notamment dans la Baie du Delaware et occasionnellement dans la baie de Chesapeake, de Long Island et du Cape Cod. *Crassostrea virginica* n'est pas présente en Europe. Ce protiste appartenant au phyllum des *Haplosporida* infecte les hémocytes du tissu conjonctif et l'épithélium de la glande digestive. La sporulation d'*Haplosporidium nelsoni* se fait surtout dans les huîtres juvéniles d'environ 18 mois, mais est plus sporadique sur les adultes. La maladie apparaît en été, de la mi-mai à fin octobre, et provoque la destruction de la glande digestive des huîtres *Crassostrea virginica*. Une salinité supérieure à 20 pour mille aggrave les mortalités, tandis que les températures de l'eau supérieures à 20°c lui sont défavorables. Sur *Crassostrea gigas*, en France, la situation est très différente.

La présence de ce parasite n'est associée à aucun des épisodes de mortalité anormale étudiés dans le cadre du programme national de surveillance zoosanitaire des mollusques,

De très rares cas sont signalés une à deux fois par an, depuis l'introduction de *Crassostrea gigas* en France, de nombreuse années, à un faible niveau d'infestation sur un individu isolé, laissant présager une très faible prévalence du parasite : A l'échelle du bilan national, 4 animaux seulement ont été diagnostiqué positifs sur plusieurs milliers d'analyse en 1999.

Seul l'effort analytique mis en place et l'application de techniques nouvelles, comme l'hybridation in situ ont permis cette découverte. Avant ce parasite apparaissait sous la rubrique *Haplosporidium* sp., et c'est l'utilisation de l'hybridation in situ qui a permis son identification.

Compte tenu de la réglementation européenne visant à la surveillance et à la protection des cheptels, la présence du parasite n'est vraisemblablement pas liée à l'introduction récente de cheptels en provenance de pays tiers. Le parasite est vraisemblablement présent depuis quelques années, voir depuis l'introduction de l'espèce en France il y a une vingtaine d'année.

Ce parasite n'a pas non plus occasionné de mortalités anormales sur les autres coquillages présents sur le littoral de l'hexagone.

En 2000, entre mai et juin a eu lieu un suivi juvéniles et d'adultes de *Crassostrea gigas*, en vue de la détection de ce parasite. L'examen de 772 huîtres qui ne montraient pas de mortalités, par histologie et de 806 huîtres ayant présenté des mortalités, toujours par histologie, n'a permis la détection d'aucun cas d'*Haplosporidium nelsoni* sur *Crassostrea gigas* en 2000. En 1999, 4 cas sur 1610 animaux analysés par histologie avaient été détecté, soit un taux de prévalence de 0,25%. En 2000, 1578 huîtres au total ont été analysées.

223.EPIDEMIOSURVEILLANCE DU VIRUS DE TYPE HERPES SUR LE NAISSAIN D'HUITRES CREUSES

Le virus de type herpès de l'huître n'est pas considéré comme un agent de maladie grave ni à déclaration obligatoire. Sa surveillance répond à une demande d'information sur une maladie virale, sans préjuger de sa pathogénicité.

Des mortalités estivales ont été observées en écloserie sur des larves et sur des sites de captage sur le naissain d'huîtres creuses depuis le début des années 90. Un virus de type herpès a été associé à certains de ces épisodes de mortalités, ponctuellement (Nicolas *et al.*, 1992, Renault *et al.*, a et b, 1994). Ces mortalités avaient la caractéristique de rester en taches, sans extension à l'ensemble d'un site. Depuis 1996, la déclaration des mortalités de naissain a beaucoup diminué, et dans bien des cas celles-ci seraient associées à d'autres facteurs physiologiques ou environnementaux.

Ce phénomène s'est répété annuellement depuis 1993 pour atteindre son maximum en 1994 et 1995 et affecter les principaux bassins ostréicoles.

La présence de virus de type herpès chez des espèces de mollusques marins posaient la question de leur parenté avec d'autres virus de la famille des Herpèsviridae et tout particulièrement avec les herpèsvirus humains. Heureusement les travaux génétiques de séquençage, grâce à la purification du virus, ont montré qu'il n'existait pas de relation étroite ou d'identité entre ce virus avec les herpèsvirus déjà décrits, qui peuvent affecter les poissons, les mammifères, et parmi ceux-ci les êtres humains. La maladie a pu être reproduite expérimentalement sur des larves axéniques. (Le Deuff *et al*, 1994).

La purification du virus a été obtenue en 1995 (Le Deuff et al, 1995, Le Deuff et Renault, 1999), ce qui a permis la mise au point d'outils de diagnostic en biologie moléculaire pour la détection d'ADN viral. En effet, auparavant, la technique histologique, qui ne permettait qu'un diagnostic de suspicion, ne permettait pas d'étudier la présence du virus sur de grands échantillons d'animaux, compte tenu de nombreuses difficultés techniques.

Le premier virus de type herpès a été décrit en 1972 sur *Crassostrea virginica* (Farley *et al.*, 1972). Le virus de type herpès observé en France semble capable d'infecter des larves d'autres espèces de mollusques comme *Ostrea edulis*. Des virus de type herpès ont été aussi décrits sur des espèces d'huîtres exotiques comme *Ostrea angasi* (Hine et Thorne, 1997) et *Tiostrea chilensis* (Hine, 1997). Il faut aussi rappeler que les populations de *Crassostrea angulata* ont été décimées par un autre virus, d'une autre famille, les Iridoviridae.

Une des caractéristiques de cette famille de virus est son aptitude à se mettre en phase latente chez son hôte. Le virus ne rentre en phase de multiplication active qu'avec des conditions favorables. Cette caractéristique rend difficile l'étude du lien entre mortalités et détection d'ADN viral.

RESULTATS DE 2000 obtenus au sein du repamo:

Le virus de type herpès a été diagnostiqué dans toutes les zones de production françaises de Crassostrea gigas. (rapport repamo 1998).

• Niveau de détection sur les lots positifs en 2000

La méthode repose sur un échantillon de 30 individus poolés par 5.

On a donc en général 6 pools de 5 individus analysés.

La question qui peut être posée est de savoir quand un lot est positif, combien de pools sont positifs en moyenne ? Le tableau ci-dessous répond à cette question :

Origine du lot de naissain	date	Résultats positifs
Arcachon	Debut juin	1 lot à 1/6
Charente	juin	2 lots à 1/6
Charente	juillet	1 lot à 1/6
Thau (mortalités)	mai	1 lot à 1/6
Charente (mortalités)	Fin juin	1 lot à 1/6
Charente (mortalités)	août	1 lot à 2/6
Charente (mortalités)	août	1 lot à 3/6
Charente (mortalités)	août	1 lot à 6/6
Charente (mortalités)	août	2 lots à 1/6
Baie de Quiberon	août	1 lot à 2/6
Nurserie (mortalités)	Mi juin	1 lot à 6/6 et un lot
		à 1/6
Nombre de lots positifs		14 lots (dont 2 en
		milieu confiné)
Moyenne de pools		1,6 pools
positifs/lot positif		positifs/lot positif
		en milieu ouvert

Le nombre de pools positifs est en moyenne assez faible, mais les résultats devraient être ajustés sur d'autres éléments, ce qui n'est pas possible ici compte tenu du faible nombre de lots positifs. Les déclarations de mortalités anormales de naissain n'ayant eu lieu qu'en été, il est normal qu'on trouve des lots positifs en été. Si on ne tient compte d'aucun autre facteur, le taux de prévalence est inférieur à 3% d'animaux atteints, et autour de 11 % de lots contaminés. Mais cette année, des animaux baillants ont pû être examinés par PCR. C'est au sein des lots d'huîtres baillantes, et dans les lots dans lesquels on trouvait des animaux baillants, qu'on trouve les lots positifs à 6/6 et à 3/6+. Un lot à 6/6+ issu de nurserie, rééxaminé la semaine d'après ne montrait plus qu'un taux à 1/6.

Une des hypothèses pouvant être émise c'est que le virus devient rapidement indétectable après des mortalités trop anciennes. Il devient donc indispensable pour cet examen que le prélèvement soit le plus précoce possible par rapport au démarrage des mortalité, et que le lot comporte encore des animaux baillants.

2.3/ EPIDEMIOVIGILANCE

Le terme d'épidémiovigilance désigne les actions de veille destinées à détecter l'apparition d'une maladie, quelle soit exotique, émergente ou réemergente (Toma et al, 1996). Dans le cas de la vigilance, tout cas de maladie non présente sur le territoire doit être détectée précocement et déclencher l'alerte : les mortalités anormales font ainsi l'objet d'un suivi particulier. Comme ce suivi est peut être parfois tardif, et pour augmenter la confiance que l'on peut accorder à un résultat négatif, en matière de détection d'un pathogène nouveau, ainsi qu'accroître les données d'épidémiologie descriptive, un suivi des principales espèces de mollusques en l'absence de mortalités déclarées a aussi été mis en place. Le suivi de base a de ce fait un objectif intermédiaire entre l'épidémiosurveillance et l'épidémiovigilance.

2.3.1. suivi de base des gisements naturels de mollusques marins d'intérêt commercial

Ce suivi comporte trois intérêts principaux : donner une image de l'état zoosanitaire des différents gisements naturels de coquillages marins, en l'absence de mortalités anormales, détecter d'éventuels agents décrits sur d'autres espèces, apporter des connaissances nouvelles sur la pathologie des mollusques.

Aucun échantillonnage n'avait été particulièrement imposé. Le plus souvent un échantillonnage minimum de 30 individus pour les coques, les moules et les palourdes, deux fois par an, par zone ou région a été utilisé.

• 2.3.1.1. Suivi de la production sauvage ou de gisements de Crassostrea gigas

• suivi des adultes

Zones		Sites	Mois	Age	Nombre individus analysés	Résultats
5	•	Ferret	Mai	Adultes	30/histo	1/30 Trichodines 2/30 Ciliés 1/30 Mytilicola
6	•	Perquis	Mai	18 mois	30/histo	2/30 Mytilicola 1/30 Trichodines
	•	Agans	Mai	18 mois	30/histo	1/30 Ciliés 1/30 Mytilicola 1/30 Tissus nécrotiques
	•	Fouras	Mai	Adultes	30/histo	2/30 Mytilicola
7		Les Moutiers	Mai	Adultes	30/histo	4/30 Mytilicola 7/30 Atrophie DD 1/30 Néoplasie 1/30 Ciliés 1/30 Trématodes dans la lumière.

Le cas de néoplasie est le premier décrit depuis 3 ans, mais n'est pas une nouveauté en France sur Crassostrea gigas (Elston et Moore, 1992). Ces animaux sont issus d'une zone contaminée par l'Erika, mais il ne faut pas tirer de conclusion de ce cas très isolé.

Les agents rencontrés sont soit des opportunistes, soit des commensaux, et les niveaux de prévalence rencontrés sont plutôt bas, ce qui est plutôt un signe de bon état général. Ces animaux étant issus des gisements, ou sauvages, ils n'ont fait l'objet d'aucun transfert, on peut en déduire qu'ils sont représentatifs de l'histoire du secteur, sans être forcément représentatifs de toute la production en élevage, d'où l'intérêt des suivis d'élevage que l'on verra par la suite.

• suivi des larves en Charente et à Arcachon

Zones	Si	tes	Mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
5	•	Arams (Est)	Juillet	Etat frais et PCR	4 Pêches	4 lots 4/4-
			Août	Etat frais et PCR	2 Pêches	1 lot +, 1 lot -
	•	Piquey (Ouest)	Août	Etat frais et PCR	1 Pêche	1 lot 1/1 -
			Août	Etat frais et PCR	1 Pêche	1 lot 1/1 -
			Août	Etat frais et PCR	1 Pêche	1 lot 1/1 -
			Août	Etat frais et PCR	1 Pêche	1 lot 1/1 -
			Août	Etat frais et PCR	2 Pêches	2 lots 2/2 -
6			A - A4	E4-4 Code at DCD	1 D2 -1	11,1/1
6	•	Faulx	Août	Etat frais et PCR	1 Pêche	1 lot 1/1-
	•	Coux	Août	Etat frais et PCR	1 Pêche	1 lot 1/1-

Un suivi systématique de l'état des larves dans les zones de captage a été mis en place avec les laboratoires correspondants de la DEL. Cette année, l'absence d'anomalie et de mortalité anormale dans le recrutement a été confirmé par l'examen à l'état frais.

La recherche de virus herpès sur ces stades larvaires a aboutit à la **détection d'un lot positif**, à Arcachon, par la cellule de veille de La Tremblade sur des larves oeillées d'Arams. Ceci est la première détection sur un lot de larves de *Crassostrea gigas* en milieu ouvert, alors que cela a été régulièrement décrit sur des larves d'écloserie et dans ce cas, associé à des mortalités (Nicolas *et al.*, 1992). Il n'y a pas eu de microscopie électronique mais différentes amorces explorant différentes parties du génome viral ont toutes données un résultat positif, renforçant la spécificité du résultat. L'absence de microscopie électronique nous empêche cependant de garantir que ce virus était présent **dans** les larves de *Crassostrea gigas*. Le détail sur le suivi du recrutement à Arcachon se trouve dans le rapport de Maurer *et al.*, 2001. L'absence d'inhibitions et la recherche positive d'ADN de *Crassostrea gigas* renforcent la confiance dans les résultats -. En absence de mortalités ou de phase de multiplication du virus, il n'était pas évident, à priori de le détecter. En mettant en place ce suivi tous les ans, nous espérons pouvoir avoir des prélèvements de qualité ou suffisamment tôt pour mieux comprendre d'éventuelles anomalies de recrutement. Une banque de matériel est ainsi constituée qui pourra servir à d'autres types d'analyses dans l'avenir.

2.3.1.2. Suivi de gisements naturels de Mytilus edulis et Mytilus galloprovincialis

	1.2.Suivi de gisements na	tureis de 1/1 y i	us euuts c		provincialis
Zamas	G!4	3.7		Nombre	
Zones	Sues	Mois	Age	individus	Résultats
				analysés	
	• Banc des chiens	Juin	Adultes	30/histo	5/30 Métazoaires dans les
	(M.edulis et M.				palpes
	galloprovincialis)				
	• Arguin Sud (<i>M.eduli</i>	(s) Septembre	Adultes	30/histo	4/30 Mytilicola
			,		2/30 Ciliés
		İ	,		5/30 Himastla sp
5		Ì	ļ		2/30 Infiltration
					1/30 Inflammation
					1/30 Néoplasie
					1/30 Trématode
					1/30 Atrophie GD
					2/30 Gregarine
				'	1/30 Nécrose GD
					1/30 Cellule à granulations basophiles
	La Frandière	Mars	Adultes	30/histo	20/30 Atrophie des glandes
	(M.edulis)	.	ridditos	1	digestives
	(16/30 Ciliés
				1	6/30 Mytilicola
					1/30 Nécrose de la glande
					digestive
				, ,	1/30 Paravortex
					1/30 Nécrose des gonades
	• Ile Tudy	Mars	Adultes	30/histo	19/30 Ciliés
	(M.galloprovincialis)	1		i I	1/30 Gregarines
	,				1/30 Mytilicola
8				l I	1/30 Trématode
					4/30 Rénicola
					3/30 Inflammation
[1/30 Métazoaire
					2/30 Himastla sp
					1/30 Turbélarié
	Maresclé (<i>M.edulis</i>	Mars	Adultes	30/histo	25/30 Ciliés
	(1 1	4/30 Mytilicola
					3/30 Inflammation TC
					1/30 Renicola
					1/30 Perle
]	

	•	La Frandière (M.edulis)	Avril	Adultes	30/histo	14/30 Ciliés 3/30 Métazoaire enkysté
		()				11/30 Nécrose 2/30 Néoplasie
						1/30 Mytilicola 1/30 Sporocyte
		Ile Tudy (M.galloprovincialis)	Avril	Adultes	30/histo	29/30 Ciliés 3/30 Martelia maurini 4/30 Inflammation 2/30 Infiltration 6/30 Himastla sp 2/30 Dégradation TC 2/30 Sécrétions basophiles 3/30 Métazoaire 2/30 Rénicola 2/30 Mytilicola 1/30 Myicola 2/30 Gregarines 1/30 Perle
	•	Maresclé (M.edulis	Mai	Adultes	30/histo	22/30 Ciliés 1/30 Mytilicola 1/30 Gregarine 2/30 Infiltration
8	•	La Frandière (<i>M.edulis</i>)	Mai	Jeunes	30/histo	17/30 Ciliés 4/30 Métazoaire 2/30 Mytillicola 1/30 Inflammation 3/30 Infiltration de la glande digestive
	•	Le Croisic (M.edulis)	Mai	Adultes	30/histo	1/30 Rickettsies 11/30 Ciliés 14/30 Métazoaire 4/30 Himastla 1/30 Rénicola 1/30 Mytilicola 1/30 Infiltration du TC 2/30 Nécrose 2/30 Inflammation du TC
			į			30

	• Le Croisic (M.edulis)	Juin	Adultes	30/histo	2/30 Rickettsies 20/30 Ciliés 6/30 Himastla sp 3/30 Métazoaires indéterminés 10/30 Rénicola 1/30 Mytitlicola 2/30 Inflammation 2/30 Nécroses du TC 1/30 Atrophie de la glande digestive
	• Côtes d'Armor Plérin – Le rocher Martin (M. galloprovincialis)	Juin	Adulte	30/histo	2/30 Trématodes (métacercaire) 1/30 <i>Steinhausia mytilovum</i> 3/30 Rickettsies 13/30 Nécrose microscopique 12/30 <i>Mytilicola</i> sp. 3/30 Métazoaires indéterminés 2/30 Infiltration 24/30 Erosion diverticules digestifs 5/30 Ciliés indéterminés
	• Rivière de La Trinité Pointe de Kerbihan (<i>Mytilus edulis</i>)	Mars	Adultes	30/ frottis	13/30 Marteilia sp.
8	• Rivière de La Trinité Pointe de Kerbihan (Mytilus edulis)	Septembre	Adultes	15/frottis 30/histo	8/15 Marteilia sp. 1/30 Myicola sp. 10/30 Trématodes (métacercaire) 2/30 Granulocytome 1/30 Anomalies nucléaires 20/30 Nécrose microscopique 6/30 Mytilicola sp. 16/30 Infiltration 27/30 Grégarines 26/30 Erosion diverticules digestifs 7/30 Ciliés indéterminés
9	• Barfleur (Mytilus edulis)	Juillet	Adultes	30/macro et histo	2/30 Pinnothère 1/30 Myicola sp. 7/30 Granulocytome 2/30 Steinhausia mytilovum 12/30 Nécrose microscopique 1/30 Mytilicola sp. 2/30 Métazoaires indéterminés 13/30 Infiltration 9/30 Erosion diverticules

		digestifs
·	1	10/30 Ciliés indéterminés

Commentaires sur les résultats :

Le granulocytome est défini comme une infiltration cellulaire bien localisée, focale. *Steinhausia mytilovum* est une microsporidie qui a été détectée dans les ovocytes de moules. Il s'agit d'une première description sur cette espèce (Comtet *et al.*, 2001). Les néoplasies sont relativement couramment observées sur les moules (Elston et Moore, 1992).



Photographie 2: Steinhausia mytilovum, coloration Hémalun Eosine (Comtet et al., 2001)

Les travaux de F. Le Roux ont confirmé que le Marteilia des moules et de l'huître appartenaient à la même espèce, à savoir *Marteilia refringens*, mais à deux type différents (Le Roux *et al.*, 2001). *Marteilia refringens* ne semble pas avoir d'impact sur les moules d'origine françaises. Au sein des cellules de veille il a été tenté de différencier les moules *Mytilus edulis* et *galloprovincialis*, en sachant que l'hybridation était classique, et qu'on peut rencontrer ces deux types aux mêmes endroits. En effet la sensibilité au parasitisme n'est pas forcément équivalente, comme cela a été démontré par Christine Coustau (1991) vis à vis du trématode *Prosorynchus squamatus*, qui affecte davantage *Mytilus edulis*.

L'histologie classique ne permet pas de distinguer les Rickettsies des Chlamydies, en effet dans les deux cas il s'agit de bactéries intracellulaires dont la pathogénicité est faible (Lauckner, 1983). Les crabes pinnothères ont un impact faible sur la santé des moules, même si on soupçonne le champignon parasite du crabe Leptolegnia marina de pouvoir envahir les tissus de la moule. Parmi les métazoaires il sera difficile de savoir à qui précisément on a affaire, même si peu d'entre eux sont des agents considérés comme dangereux. Chez les trématodes seuls les stade cercaires et sporocystes peuvent être considérés comme préjudiciables à la santé des moules.

En histologie, il n'est pas possible de distinguer *Mytilicola intestinalis et orientalis*, introduit en France à la fin des années 70. Ces deux parasites ne semblent pas avoir un impact important sur la santé, avec un taux d'infestation modéré. Les Haplosporidies doivent faire l'objet d'un travail d'identification.

Les Ciliés, comme les grégarines ont une pathogénicité faible, ils peuvent être considérés comme un indicateur d'un milieu dégradé ou d'un mauvais état du coquillage. La comparaison *Mytilus edulis* entre sites exposés et non exposés aux hydrocarbures de l'Erika montre une plus grande présence de ciliés dans les zones exposées (Thébault *et al*, 2001). Mais une partie des analyses est toujours en cours et ces résultats ne sont que préliminaires.

• 2.3.1.3. Suivi d'Ostrea edulis en dehors du suivi Bonamia ostreae / Marteilia refringens.

Zones	Sites	Mois	Age et origine	Nb individus analysés/ quelle technique	Résultats
5	Banc d'Arguin	Avril	Adultes sauvages	28/histo.	7/28 Martelia refringens 1/28 Rickettsie
6 :	Ile de Ré	Juillet	Adultes sauvages	29/histo.	1/29 Néoplasie
7	Poches de Graisseloup	Mai	Adultes élevés	30/histo	1/30 Mytilicola 1/30 Kyste dans épithélium digestif
8	Baie de Quiberon Penthièvre	Novembre	2-3 ans	30/histo	10/30 ciliés 1/30 <i>Mytilicola</i> 1/30 Rickettsies 1/30 Métazoaire 3/30 Infiltrations
9	Granville Pointe du Roc	Novembre	Adultes	150/histo	0/150 Bonamia 0/150Marteilia 3/150 ciliés 1/150 Trichodina 3/150 Mytilicola 1/150 abcès visible 44/150 Infiltrations 69/150 Nécroses 10/150 Erosions branchiales

Le suivi en histologie permet de connaître d'autres pathogènes que Bonamia et Marteilia. A terme un suivi minimum en histologie devrait être mis en place en Bretagne sur l'huître plate.

• 2.3.1.4. Suivi de gisements naturels de Ruditapes decussatus et philippinarum

Ruditapes philippinarum a été introduite en France entre les années 1972 et 1975, en Angleterre dans les années 80, en Espagne et en Italie en 1985. Cette espèce s'est développée le long des côtes atlantiques, à côté de Ruditapes decussatus. Les agents trouvés sur ces deux espèces sont le plus souvent les mêmes.

Zones	Sites	Mois	Age	Nombre d'individus analysés	Résultats
3	• Etang de Thau	Avril	Adultes (22mois) Ruditapes decussatus	70/histo et macro	34/70 Perkinsus 12/70 Bactéries 1/70 Haplosporidies 1/70 Ciliés 3/70 Métazoaires
	• Etang de Thau	Mai	Jeunes (11 mois) Ruditapes decussatus	33/histo et macro	15/33 Perkinsus 3/33 Haplosporidies 1/33 Ciliés 1/33 Rickettsies 1/33 Trématodes
	• Etang de Thau	Juin	Jeunes (12 mois) Ruditapes decussatus	40/histo et macro	14/40 Perkinsus 6/40 Haplosporidies 2/40 Bactéries 7/40 Rickettsies 1/40 Métazoaires
4	Etang de Salses- Leucate	Mai	Jeunes (11 mois) Ruditapes decussatus	60/histo et macro	22/60 Perkinsus 17/60 Bactéries 2/60 Copépodes
5	• La Touze (Ruditapes philippinarum)	Janvier	Adultes	30/histo	12/30 Perkinsus atlanticus 5/30 Paravortex cardii 3/30 Rickettsies 3/30 Dépôts calciques 1/30 Ciliés 2/30 Trichodines
	• La Touze (Ruditapes philippinarum)	Février	Adultes	30/histo	11/30 Perkinsus atlanticus 4/30 Dépôts calciques 5/30 Turbellarié 2/30 Rickettsie
	• La Touze (Ruditapes philippinarum)	Septembre	Adultes	71/thio	31/71 Perkinsus atlanticus
6	• La Mortane (Ruditapes philippinarum)	Août	Adultes	30/hito	3/30 Paravortex cardii 10/30 Rickettsies 3/30 Foyers

					bactériens dans les branchies 3/30 Métazoaire 1/30 Sporocystes de trématode
. 7	• Noirmoutier (Ruditapes decusatus et philippinarum)	Mai	Adultes	30/histo	13/30 Rickettsies 3/30 Métazoaire enkysté dans MA 3/30 Trichodines 1/30 Paravortex
8	• Le Guilvin (Ruditapes philippinarum	Février	Mélange	30/histo	1/30 Anneau brun 7/30 Turbélarié 5/30 Rickettsies 4/30 Inflammation des gonades 1/30 Métazoaire 2/30 Ciliés
	• Croisic (Ruditapes philippinarum)	Avril	Mélange	30/histo	4/30 Anneau brun 6/30 Rickettsies 5/30 Paravortex cardii 2/30 Métazoaire 3/30 GD dégradée
	• Croisic (Ruditapes philippinarum	Mai	Adultes	30/histo	4/30 Anneau brun 9/30 Rickettsie 3/30 Métazoaire 1/30 Himasla sp 1/30 Ciliés 2/30 Nécrose 1/30 Inflammation
	Croisic (Ruditapes philippinarum	Juin	Adultes	30/histo	8/30 Rickettsies 1/30 Perkinsus atlanticus 2/30 Gregarine 1/30 Himastla 1/30 Coccidies*1/30 Métazoaire
	Golfe du Morbihan Truscat	Août	Adultes Ruditapes phillipinarum	30/histo et macro	1/30 anneau brun 6/30 Perkinsus 6/30 Rickettsies 4/30 Paravortex 2/30 Métazoaires 1/30 Trichodina
					3

	Rivière de Pont l'Abbé Ile Tudy	Juin	Adultes Ruditapes phillipinarum	30/histo et macro	1/30 anneau brun 6/30 Rickettsies 1/30 Paravortex 4/30 Trichodina 4/30 métacercaires de trématodes 18/30 érosion des diverticules digestifs 2/30 infiltrations 4/30 nécroses
8	Rivière de Pont l'Abbé Ile Tudy	juin	Adultes Ruditapes decussatus	29 en macroscopie et en histologie	1/29 anneau brun 1/29 grégarines 8/29 Paravortex 1/29 Trichodina 12/29 métacercaires de trématodes 7/29 sporocystes de trématodes 4/29 ciliés 6/29 Perkinsus 5/29 plasmodes d'Haplosporidies 6/29 métazoaires

Afin d'obtenir un bilan national le plus représentatif possible, Christine Paillard de l'UBO de Brest nous a communiqué ses résultats de 2000 sur la maladie de l'anneau Brun (MAB) chez les palourdes, *Ruditapes philippinarum* et *Ruditapes rhomboides* (Paillard *and al.* 2001, Paillard and Marais, 2000; Paillard and Allee, 2001).

Date	Espèce	Lieu de prélèvement	Origine	Type de palourdes	Nombre total de palourdes	Prévalence MAB
02/00	Ruditapes philippinarum	Ile aux oiseaux Golfe du Morbihan(56)	Population naturelle	Enfouies	142	14.1
02/00	Ruditapes philippinarum	Ile aux oiseaux Golfe du Morbihan (56)	Population naturelle	Remontante s	35	65
2/00	Tapes rhomboïdes	Archipel des Glènans 29	Population naturelle	Enfouies	20	20
7/00	Ruditapes philippinarum	Archipel de Chausey (50)	semis	0	100	0
7/00	Ruditapes philippinarum	Rade de Brest (29)	semis	0	100	0
7/00	Ruditapes philippinarum	Ile de Bailleron Golfe du Morbihan (56)	semis	1.2	100	1.2
7/00	Ruditapes philippinarum	Marennes (17)	semis	0	100	0
10/00	Ruditapes philippinarum	Archipel de Chausey (50)	semis	0.7	100	0.7
10/00	Ruditapes philippinarum	Rade de Brest (29)	semis	0	100	0
10/00	Ruditapes philippinarum	Ile de Bailleron Golfe du Morbihan (56)	semis	0	100	0
10/00	Ruditapes philippinarum	Marennes (17)	semis	0	100	0
11/00	Ruditapes decussatus	Mer de Gâvres (56)	Population naturelle	Enfouies	100	2

Parmi les agents relevés dans ces tableaux, trois types d'agents ou de lésions sont à surveiller en priorité, car sont susceptibles d'avoir un effet sur la santé des palourde (Bower, 1994) :

• Perkinsus atlanticus: il peut affecter Ruditapes decussatus et philippinarum. On trouve en 2000 un plus grand taux de prévalence chez Ruditapes decussatus que philippinarum, mais il n'y a qu'en bretagne que

la comparaison est possible. Les zones sud comme Arcachon montrent un taux de prévalence plus élevé (40%)qu'au nord, mais on peut trouver du Perkinsus en Bretagne (10%) tandis qu'on n'en détecte pas en Charente.

- L'anneau brun, lésion non spécifique, mais qui peut être causée notamment par une bactérie particulièrement virulente *Vibrio* P1, cette lésion pouvant dans les cas graves entraîner un défaut de fermeture et la mort de l'animal. Les résultats de Christine Paillard (2001) confirment certains de nos résultats et les complètent. Ainsi en Charente la détection n'a pas été possible. *Ruditapes decussatus* semble aussi sensible (Paillard, 2001) mais il n'est pas possible de le détecter dans les zones méditerranéennes en 2000, ni en 1999. Globalement les taux de prévalence rencontrés sont faibles, sauf dans le cas de mortalités rencontrées en février dans l'Ile aux oiseaux (Paillard, 2001), avec d'ailleurs une forte différence entre palourdes enfouies et remontantes.
- Les Haplosporidies sont rencontrés à des taux de prévalence plus élevés dans l'étang de Thau que dans les autres zones (excepté le cas de l'Ile Tudy) entre 1 et 15%. En 98 sur l'étang de Thau on pouvait observer un taux de 20%. En 99 on pouvait aussi les trouver en Vendée.
- La calcification du muscle adducteur de la palourde est un phénomène qui a été observé à plusieurs reprises sur Arcachon. Les essais pour isoler ou détecter un pathogène associé se sont révélés infructueux.
- La comparaison des taux de prévalence des différents agents infectieux entre les palourdes de sites exposés et non exposés aux hydrocarbures de l'Erika, n'a pas montré de différence, mais un certain nombre d'analyses sont encore en cours (Thébault et al., 2001).

Rappels sur *Perkinsus atlanticus*: le protozoaire *Perkinsus atlanticus* (Azevedo 1989), serait responsable de la diminution de la production de *Ruditapes decussatus* et *philippinarum* au Portugal, en Espagne et en Italie (Bower et Figueras, 1989; Figueras *et al.*, 1991). Les palourdes fortement parasitées ont leur capacité respiratoire réduite, et leur indice de condition est faible. L'organe cible est souvent la branchie, mais en forte infestion les parasites peuvent envahir les autres tissus. Parmi les autres parasites du genre *Perkinsus*, deux agents de maladie graves de mollusques, *Perkinsus marinus* et *Perkinsus olseni*, provoquent des mortalités massives et appartiennent à la liste OIE des maladies à déclaration obligatoire, en <u>annexe 9</u>.

2.3.1.5. Suivi de gisements naturels de coques Cerastoderma edule

Zones	Sites	Mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
5	Banc des chiens	Septembre	Jeunes	30/histo	22/30 Rickettsie 5/30 Meiogymnophalus minutus
					1/30
					infiltration
					2/30 Himastla sp
					3/30 Gregarine
					3/30 Néoplasie
					1/30 Métazoaire
6	• Ronce	Juin	2-3 ans	30/histo	18/30 Tissus mals conservés
					8/30 Labratrema
					8/30 Meiogymnophalus minutus
					2/30 Inflammation
			1		4/30 Paravortex cardii
					13/30 Gregarine
]					6/30 Rickettsie
8	Gros Banc	Mars	3-4 ans	30/histo	12/30 Himastla sp
					9/30 Meiogymnophalus minutus
					9/30 Gregarine

						4/30 Paravortex cardii
	1					1/30 Néoplasie
			ľ			1/30 Renicola
						3/30 Protozoaire
	ł		1			6/30 Rickettsie
				1		1/30 Labratrema
						1/30 Haplosporidii
						2/30 Inflammation
						2/30 anomalie nucléaire TC
			1			5/30 lésions fongiques
]					o, o o restono rongiques
	•	Gros Banc	Avril	2-3 ans	30/histo	1/30 Ciliés
						22/30 Gregarine
				İ		4/30 Meiogymnophalus minutus
	1		1			6/30 Labratrema
						8/30 Himastla sp
						5/30 Paravortex cardii
						1/30 Mytilicola
	1					10/30 Inflammation du TC
						3/30 Nécrose
						1/30 Trichodines
	ļ			,		1/30 Infiltration du TC
	•	Gros Banc	Mai	2-3 ans	30/histo	11/30 Rickettsies
						1/30 Ciliés
۴			1			1/30 Haplosporidie
				,		11/30 Meiogymnophalus minutus
	1					7/30 Grégarine
						9/30 Himastla
	İ					1/30 Paravortex
			ļ			4/30 Métazoaire
						8/30 Inflammation du rein et du TC
						1/30 Néoplasie du TC
						3/30 Nécrose de la glande digestive
						3/30 lésions fongiques
	•	Gros Banc	Juin	2-3 ans	30/histo	5/30 Rickettsies
						10/30 Gregarine
						9/30 Meiogymnophalus minutus
						3/30 Labratrema
					,	14/30 Himastla
						4/30 Inflammation
						19/30 Nécrose du TC
						1/30 Métazoaire
						12/30 lésions fongiques
		~ ~	Juillet	2 2	20/1-:	
	•	Gros Banc	Junet	2-3 ans	29/histo	9/29 Grégarine
]			5/29 Labratréma
			1			7/29 Meiogymnophalus minutus
						2/29 lésions fongiques
						1/29 Néoplasie
			1			1/29 Turbellarié
		0 5	Août	2-3 ans	5/histo	1/5 Labratrama
	•	Gros Banc	Zioui	2-3 all8		1/5 Labratrema
					(remontantes)	1/5 Rickettsies
			1			1/5 Meiogymnophalus minutus
			1			1/5 Himastla
						3/5 Tissus nécrotiques
						2/5 lésions fongiques
				L		

		r		1050: (0 :)	1 5 10 5 P. 1
				25/histo (enfouies)	5/25 Rickettsies
1		Ì		į	7/25 Meiogymnophalus minutus
1 1		ļ	ļ		5/25 Himastla
1					2/25 Rénicola
1		}			1/25 Turbélarié
l i					13/25 Inflammation du TC
1		1		•	5/25 Tissus nécrotiques
					2/25 lésions fongiques
	■ Côtes d'Armor	Août	Adultes	30 histo	1/30 Infiltration
	Baie d'Yffiniac	Aout	Addites	JO MISIO	3/30 Copépodes indéterminés
}	Date u Tillilac	}	1		1/30 Turbellarié
1 1					2/30 Métazoaires indéterminés
]		1			1/30 Rickettsies
		ł			3/30 Trichodina sp.
					1/30 Trématodes indéterminés
1			Ì		
		į			13/30 Trématodes (sporocyste)
1 1]			18/30 Trématodes (métacercaire)
					27/30 Grégarines
	Vilaine		Jeunes	30 histo	29/30 Grégarines
			'		15/30 Rickettsies
1 1		octobre)		7/30 Métazoaires indéterminés
1 1			ļ		1/30 Mytilicola sp.
					1/30 Nécrose microscopique
1		}	}		1/30 Infiltration
			!		
9	Baie des Veys	Juillet	Jeunes	30 histo et macro	1/30 Pinnothère
1	(50)				5/30 Bactéries
	(50)				1/30 Trichodina sp.
]					1/30 Ciliés indéterminés
					1/30 Paravortex cardii
1					1/30 Rickettsies
		})		9/30 Trématodes (sporocyste)
		Į	Į.		3/30 Trématodes (métacercaire)
					25/30 Grégarines

COMMENTAIRES:

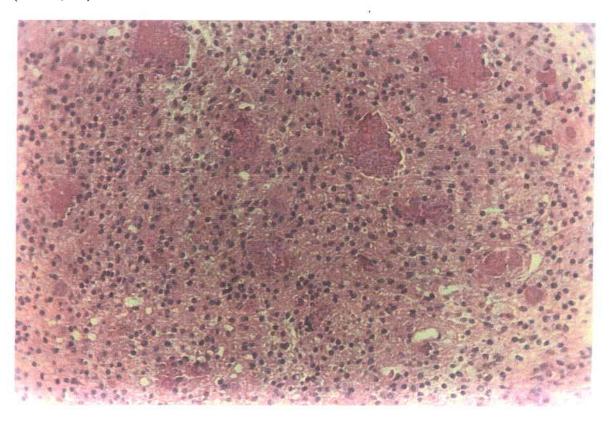
Les agents que l'on peut rencontrer chez la coque sont nombreux. Dans le tableau ont été surlignés en gras les agents pouvant avoir une action sur la santé des coques. L'histologie permet de distinguer des petits parasites, tandis que l'état frais permet de distinguer les différents Trématodes (Lauckner, 1983).

• Les trématodes

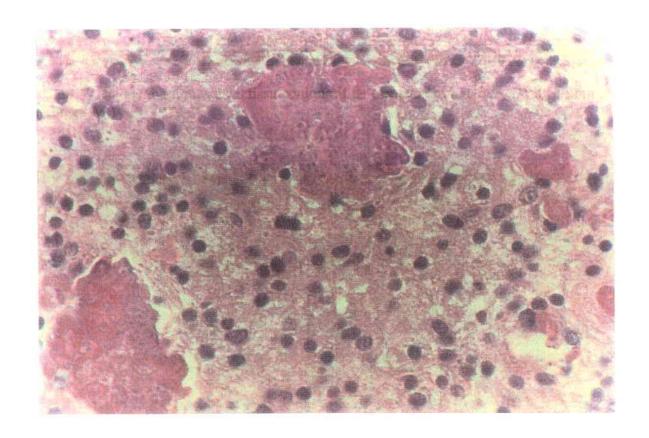
- « Meio » pour *Meiogymnophallus Minutus* est un trématode répandu mais peu envahissant et peu pathogène qui se localise sous l'umbo.
- « Labra » pour *Labratrema minimus* est aussi un trématode mais qui peut prendre un caractère envahissant et peut causer la mort de l'individu concerné. Les taux de prévalence en *Labratrema* observés sur ce tableau sont modérés, mais ce parasite est présent sur tous les bassins étudiés.
- « Hima » pour une famille de Trématodes, les *Himasthla*, sont des trématodes enkystés qui sont impliqués dans l'afaiblissement des individus concernés à des forts taux d'infestation.

- Les Rickettsies : comme chez les autres espèces de mollusques les Rickettsies ne peuvent être distinguées en histologie des *Chlamydies*. Ces bactéries intracellulaires ne sont pas réputées pathogènes.
- Il en va de même pour le Turbellarié « Parav » pour *Paravortex cardii*, qui est fréquemment observé à l'extérieur des tissus et ne semble pas avoir d'action néfaste sur la coque.
- Les Grégarines et les Ciliés n'auraient une action qu'en cas d'infestation massive, ce qui n'a pas été observé.
- Les métazoaires sont un terme qui décrit des agents pouvant être aussi bien des Trématodes, des Turbellariés, ou tout organisme pluricellulaire qui ne peut être identifié par la technique histologique.
- Les « coccidies » ont été observés dans le rein sans lésions associées. Les taux de prévalence sont faibles, les taux d'infestation sur un même individu sont modérés, aussi, même si leur pathogénicité n'est pas connue, et en s'appuyant sur ce qui est connu chez la moule, il n'est pas possible de leur imputer un rôle dans des mortalités à ce jour.
- Les haplosporidies observées posent toujours la question de leur taxonomie avec les agents de maladies graves. Leur pathogénicité sur la coque dépendrait du niveau d'infestation observé. Sur quelques cas sporadiques cette infestation a parfois été élevée.
- L'hyperplasie hémocytaire atypique est une maladie, transmissible chez la coque (C. Collins), qui a particulièrement été étudiée en Bretagne (Auffret et Poder, 1986) et en Irlande. Les taux de prévalence relevés par le Repamo sur le littoral sont très faibles, comme ce tableau et ceux qui suivent sur la coque permettent de le constater. Cette maladie sur certains sites a en effet pu atteindre des taux de prévalence beaucoup plus élevés de l'ordre de 40% (Auffret et Poder, 1986), ce qui n'a pas été observé cette année sur les sites suivis par le REPAMO. La maladie a été détectée au Croisic en 1999, et les taux de prévalence observés en 2000 au Croisic restent modérés (cf paragraphe 2.3.3.5).
- Les lésions fongiques ont été détectées pour la première fois au Croisic en 2000 (M. Robert, com pers.), mais il a été possible de retrouver un animal infecté datant de 1997. Dans les foyers d'infiltration cellulaires disséminés dans le tissu conjonctif, de la glande digestive, et du pied surtout, entourent des amas acidophiles. A l'intérieur des hémocytes, comme dans l'amas on distingue ce qui ressemble à des spores. La microscopie électronique à transmission a permis de mettre en évidence des structures interprétées comme des champignons. L'émergence de ce pathogène, uniquement au Croisic coïncide avec le naufrage de l'Erika. Cependant, seule une étude menée sur un plus long terme permettra de conclure sur le lien éventuel entre les deux évênements (Thébault et al., 2001).

Photographie 3 : lésions fongiques dans tissu conjonctif de *Cerastoderma edule*, G20, coloration Hémalun – Eosine (Robert, M.)



Pho. Phie 4 : lésions fongiques dans tissu conjonctif de Cerastoderma edule, G100, coloration Hémalun – Eosine (Robert, M.)



• 2.3.1.6.suivi des coquilles Saint Jacques et autres espèces

Zones	Sites	Mois	Age	Nombre d'individus analysés	Résultats
9	Baie de Seine	juin	Jeunes	30 histo et macro	30/30 Rickettsies 29/30 Nécrose microscopique
					3/30 Métazoaires indéterminés
					1/30 Bactéries
					1/30 Pinnothère

Un fort taux de prévalence de Rickettsies dans les branchies de coquilles Saint Jacques en Baie de Seine a déjà été observé en 1998. L'implication des Rickettsies dans le cas de mortalités anormales (Le Gall *et al.*, 1988) n'est pas évident, car aucun problème particulier n'a été décrit en Baie de Seine.

Les autres agents observés cette année sur la Coquille Saint Jacques ne sont pas réputés pathogènes.

suivi des autres espèces

Zones	Sites	Espèce	Mois	Age	Nombre individus analysés	Résultats
6	Plage de Ronce	Scrobicularia plana	Juin	Mélange	20/histo	3/20 Sporocystes de trématodes 3/20 Gregarine

Commentaires:

Cette espèce de coquillage est fréquemment rencontrée près ou dans des sites d'élevage et il est intéressant de savoir si un parasite peut infester différents hôtes.

2.3.2. Suivi d'élevages en l'absence de mortalités

- Ce suivi permet, en théorie, de donner une image de l'état zoosanitaire des animaux en élevages en l'absence de mortalités. Aucune législation n'a décrit les modalités d'application d'un tel contrôle. Ce contrôle repose sur une démarche volontaire soit d'IFREMER, soit des éleveurs. Les grands principes d'échantillonnage sont les mêmes que pour les gisements naturels, à savoir une trentaine d'animaux par site, une à deux fois par an. Ce suivi est important pour différentes raisons :
- *pour des maladies à incubation longues, ce suivi peut permettre de déceler un nouvel agent avant que ses effets ne se fassent sentir.
- *ce suivi est le garant de nos exportations, puisqu'il décrit le type d'animaux qui pourraient faire l'objet de transactions.
- *ce suivi permet de garantir, en partie, le caractère indemne de maladies exotiques les animaux d'élevage français.
- *ce suivi permet aussi d'avoir un historique infectieux sur toutes les zones.
- *ce suivi permet de surveiller des animaux qui sont dans des situations proches d'un élevage intensif, en état de stress, ce qui peut dans certains cas révéler des agents infectieux qui peuvent être comparés aux animaux de gisements.

2.3.2.1. suivi de C. gigas et O. edulis

• Suivi d'adultes de C. gigas

Zones	Suivi d'adultes de <i>C. giga</i> Sites	Mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
5	Grand Banc	Mai	Adulte	30/histo	2/30 Mytilicola 1/30 Rickettsie 1/30 Myicola 1/30 Métazoaire indéterminé 1/30 Trichodine sp 1/30 Ciliés
	• Ferret	Mai	Adulte	30/histo	1/30Trichodines 2/30 ciliés 1/30 Mytilicola
6	• Fiers d'Ars (île de Ré)	Mai	Adulte	30/histo	4/30 Nécrose du TC 1/30 Inflammation du TC 1/30 Mytilicola 1/30 Myicola
	• Loix (île de Ré)	Mai	Adulte	30/histo	6/30 Mytilicola 1/30 Myicola 1/30 Coccidie 1/30 Rickettsie 1/30 Trichodine
7	• Paillard	Mars	Adulte	30/histo	1/30 Rickettsies 10/30 Nécrose TC 14/30 Atrophie GD 2/30 Infiltration TC 7/30 Ciliés
	• Coupelasse	Mai	Adulte	30/histo	7/30 Mytilicola 3/30 Rickettsies 3/30 Dégradation GD
	Paillard	Mai	Adulte	30/histo	1/30 Mytilicola 3/30 Ciliés 1/30 Trichodines 1/30 nomalie nucléaire dans le TC
	Gril Nord	Mai	21 mois	30/histo	4/30 Mytilicola 1/30 Trichodine

	_		Mous	Adultas	29/histo	3/29 Inflammation
8	•	La Northe	Mars	Adultes	29/1118W	1/29 Rickettsie 3/29 Atrophie de la glande digestive
				:	į	1/29 Mytilicola
						2/29 Tissus nécrotiques
						1/29 Myicola
	•	La Northe	Juin	Adultes	27/histo	1/27 Inflammation du TC 2/27 Infiltration des gonades et de la glande
						digestive 5/27 Mytilicola
						2/27 Myicola
						1/27 Atrophie de la glande digestive
	•	Baie de Quiberon	Mai	Adultes	30/histo	
						2/30 Infiltration 3/30 Nécrose
						microscopique
						12/30 Ciliés indéterminés 1/30 <i>Trichodina</i> sp.
						1/30 Métazoaires
				A 1 1,	20/1:-4-	indéterminés
	•	Cancale	Octobre	Adultes	30/histo	2/30 Myicola sp. 5/30 Mytilicola sp.
						3/30 Nécrose
						microscopique
						4/30 Infiltration
			Novembre	Adultes	30/histo	1/30 Myicola sp. 1/30 Mytilicola sp.
	•	Morlaix	THOVEINORE	rautes		1/30 Trichodina sp.
						5/30 Ciliés indéterminés
						2/30 Nécrose
			Nav1	Adultes	30/histo	microscopique 5/30 Infiltration
		• Golfe du Morbihan	Novembre	Adultes	30/msto	3/30 Trichodina sp.
		Baie de Kerdélan				8/30 Ciliés indéterminés
						5/30 Mytilicola sp.
		•				22/30 Infiltration
						2/30 Anomalies nucléaires 5/30 Nécrose
						microscopique
						26/30 Erosion diverticules
						digestifs 9/30 Ciliés indéterminés
						2/30 Trichodina sp.

					2/30 Mytilicola sp. 1/30 Myicola sp. 1/30 Métazoaires indéterminés
9	Baie des Veys (14) Moulière Blainville	Mai	Adultes	30/histo	2/30 Métazoaires indéterminés 2/30 Mytilicola sp. 2/30 Myicola sp. 4/30 Nécrose microscopique 1/30 Anomalies nucléaires 5/30 Infiltration 2/30 Trichodina sp. 17/30 Ciliés indéterminés
	• Pirou	Mai	Adultes	30/histo	9/30 Trichodina sp. 21/30 Ciliés indéterminés 1/30 Mytilicola sp. 13/30 Erosion diverticules digestifs 7/30 Anomalies nucléaires 28/30 Nécrose microscopique 30/30 Infiltration
					1/30 Métazoaires indéterminés 6/30 <i>Trichodina</i> sp. 19/30 Ciliés indéterminés 3/30 Anomalies nucléaires 2/30 Erosion diverticules digestifs 27/30 Nécrose microscopique 29/30 Infiltration

Ce suivi d'adultes de *Crassostrea gigas* en élevage a été mis en place pour la première fois cette année. Les agents rencontrés sont les mêmes que pour les huîtres sauvages ou de gisement. Mais l'intérêt n'est pas là. Il s'agit d'effectuer un minimum de contrôle sur Crassostrea gigas afin de garantir la France indemne de maladies graves décrites à l'étranger et de garantir nos échanges à l'exportation.

Les résultats montrent effectivement l'absence de maladies à déclaration obligatoire, et l'absence de maladie émergente. Il n'y a pas, non plus de différence observée entre les huîtres exposées ou non à l'Erika (Thébault et al., 2001). Aucun des agents cités ici n'est préjudiciable à la santé de ces huîtres, à des taux d'infestation modéré ce qui était le cas.

• suivi de naissain de C.gigas

Zones	Sites	Mois	Age	Nombre d'individus analysés	Résultats
1	Corse Etang d'Urbino	rbino mai		30 histo	RAS
	Corse Etang d'Urbino	octobre	Adultes (22 mois)	30 histo	RAS
	Corse Etang de Diana	mai	Jeunes (15 mois)	30 histo	RAS
	Corse Etang de Diana	octobre	Adultes (22 mois)	30 histo	RAS
5	Arcachon	Avril	Naissain	4 lots de 30 animaux soit 120/PCR	4 à 6/6-
		• Mai	Naissain	120/PCR 26/histo	4 à 6/6- 2/26 Mytilicola 1/26 Ciliés dans les diverticules digestifs
		• Juin	Naissain	120/PCR	3 à 6/6- et 1 à 1/6+
		• Juillet	Naissain	90/PCR	3 à 6/6-
6	Les Doux	• Mai	Naissain	30/histo	1/30 Bactéries dans le TC 1/30 Grégarines 1/30 Mytilicola
	Ronce les Bains	• Mai	Naissain	30/histo	2/30 Mytilicola 1/30 Trichodine 2/30 Inflammation
	Fouras	• Mai	Naissain	30/histo	6/30 Mytílicola 1/30 Rickettsie 1/30 Ciliés
	Fouras	JuinJuillet	Naissain Naissain	360/PCR et 2 lots 30/histo	10 à 6-/6 et 2 à 1+/6 2/29 Trichodine 3/29 Mytilicola 1/29 Cilié 1/29 Myicola 1/29 Suspicion Herpes virus
7	Grill Nord (Baie de Bourgneuff)	Mai	21 Mois	360 PCR 30/histo	1 à 1+/6 et 11 à 6-/6 4/30 Mytilicola 1/30 Trichodine

• Les lésions ou les agents rencontrés ici par histologie ne sont pas inhabituels, ni considérés à ces niveaux comme dangereux pour la santé du naissain. Les taux de ces opportunistes sont faibles et sont les mêmes (sauf pour le virus herpès) que ceux qui sont rencontrés chez les adultes.

• Le suivi des deux sites sentinelles en Charente et à Arcachon, permet de suivre le naissain qui sera ensuite vendu ou déplacé sur routes les côtes françaises. La PCR effectuée d'une année sur l'autre permet de comparer les taux de prévalence qui restent modérés (cf épidémiosurveillance). Le suivi à Fouras s'est poursuivi jusqu'en août, mais apparaît dans le paragraphe sur les mortalités anormales.

• suivi d'élevage d'Ostrea edulis en dehors de Bonamia ostreae et Marteilia refringens

Zones		Sites	Mois	Age	Nombre d'individus analysés	Résultats
7	•	Roches de Gresseloup	Mai	Adultes élevées	30/histo	1/30 Mytilicola 1/30 Kyste dans épithélium digestif
8		• Quiberon	Juillet	2-3 ans	30/Frottis	4/30 Martelia refringer 2/30 Bonamia ostreae
	•	Quiberon	Juillet	2-3 ans	30/Frottis	13/30 Martelia refringens 1/30 Bonamia ostreae
;	• ,	Cancale	Octobre	2 ans	50 frottis cœur	3/50 Bonamia 0/50 Marteilia
					30 coupes histologiques	1/30 Bactéries 8/30 Ciliés 7/30 Nécroses 1/30 Infiltrations
	•	Plouharnel	Mars	Naissain	50 frottis cœur et glande digestive	0/50 Bonamia 0/50 Marteilia 2/50 Ciliés
	•	Rivière d'Etel	Mars	3-4 ans	30 frottis cœur et glande digestive	2/30 Bonamia 0/30 Marteilia 1/30 Ciliés
10	•	Veules les Roses	Mai	18 mois	118/frottis	0/118 Bonamia 0/118 Marteilia 8/118 Hexamita 4/118 Bactéries
					100/histo	8/100 Ciliés 1/100 Mytilicola 66/100 infiltrations 30/100 Nécroses 1/100 Granulocytome 3/100 Anomalies nucléaires

	Veules les Roses	Novembre	2 ans	48/frottis	0/48 Bonamia 0/48 Marteilia
				48/histo	5/48 Ciliés 32/48 Infiltrations 32/48 Nécroses 1/48 Métazoaire 2/48 Anomalies nucléaires 6/48 Erosion branchiale 1/48 Erosion glande digestive
10	• Veules les Roses	Novembre	3 ans	100/histo	0/100 Bonamia 0/100 Marteilia 2/100 Mytilicola 1/100 Myicola 52/100 Infiltrations 68/100 Nécroses 2/100 Granulocytomes 4/100 Erosion branchiale 2/100 Atrophie glande digestive 1/100 Anomalies nucléaires

Aucun agent observé n'est à un taux inhabituel et il n'y a pas de nouveau pathogène détecté.

• 2.3.2.2. suivi de Mytilus edulis

Zones	Sites	Mois	Age	Nombre individus analysés	Résultats
1	Corse Etang de Diana (M. galloprovincialis)	Mai	Jeunes (13 mois)	30/histo	1/30 Granulocytome
	Corse Etang de Diana (M. galloprovincialis)	Octobre	Jeunes (18 mois)	30/histo	RAS
2	Golfe de Fos Carteau (M. galloprovincialis)	Mai	Jeunes (14 mois)	30/histo	1/30 Grégarine 1/30 Mytilicola
	Rade de Toulon Le Lazaret (<i>M. galloprovincialis</i>)	Septembre	Jeunes (78 mois)	30/histo	RAS
6	• Roullières (M.edulis)	Juin	Jeunes	30/histo	1/30 Turbellarié 1/30 Ciliés
7	• Le Maresclé (M.edulis)	Mars	Adultes	30/histo	25/30 Ciliés 4/30 Mytilicola 3/30 Inflammation 1/30 Renicola 1/30 Perle
7	• Le Maresclé (M.edulis)	Juin	Adultes	30/histo	22/30 Ciliés 1/30 Mytilicola 1/30 Gregarine 2/30 Infiltration
9	• Agon Coutainville (M. edulis et M. galloprovincialis)	Juin	Jeunes	30/histo	1/30 Néoplasie 5/30 Trématodes (métacercaire) 2/30 Granulocytome 11/30 Nécrose microscopique 2/30 Mytilicola sp. 2/30 Infiltration 3/30 Grégarines 13/30 Erosion diverticules digestifs 24/30 Ciliés indéterminés
	Baie du Mont Saint Michel Vieux Plan	Juin	Adultes	30/histo	1/30 Grégarines 1/30 Trématodes (sporocyste)

	(M. edulis et M.	4/30 Trématodes
1	galloprovincialis	(métacercaire)
		19/30 Mytilicola sp.
		1/30 Infiltration
		18/30 Ciliés
		indéterminés

Commentaires:

Les moules en élevages ne présentent pas de différences flagrantes en terme de pathogènes ou symbiontes avec les animaux trouvés sur des gisements. Les mêmes espèces sont trouvées à des taux comparables, et le commentaire sur les moules de gisements est aussi valide pour ces moules en élevage.

2.3.2.. Suivi de Cerastoderma edule

Zones	Sites	Mois	Age	Nombre individus analysés	Résultats
	• Sissable	Juin	Mélange	28/histo	20/28Grégarine 16/28 Meiogymnophalus minutus 7/28 Himastla 2/28 Paravortex 2/28 Rickettsies 1/28 Néoplasie 1/28 Lésions fongiques
	• Sissable	Août	Mélange	22/histo (remontante)	5/22 Himastla 9/22 Grégarines 12/22 Meiogymnophalus minutus 4/22 Labratrema 1/22 Infiltration dans TC 4/22 Lésions fongiques
8	:			29/histo (enfouie)	18/29inflammation u TC 3/29 Turbélarié 13/29 Meiogymnophalus minutus 5/29 Himastla 18/29 Gregarine 6/29 Lésions fongiques
	Grand Trait	Août	Mélange	30/histo (remontante)	3/30 Tâches blanches sur les palpes 3/30 Pinothère 1/30 Coccidie 26/30 Gregarine 1/30 Rickettsies 2/30 Inflammation du TC 4/30 Himastla

		17/30 Meiogymnophalus minutus 1/30 Trichodines 3/30 Turbellarié 1/30 Rénicola 1/30 Sporocystes 8/30 Lésions fongiques
	30/histo (enfouie)	21/30 Gregarine 17/30 Meiogymnophalus minutus 3/30 Paravortex 2/30 Infiltration dans le TC 1/30 Métazoaire 2/30 Lésions fongiques

Commentaires:

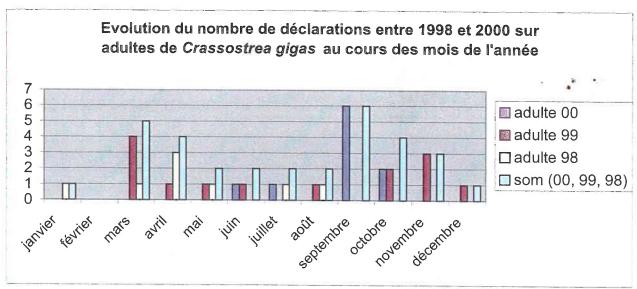
Les coques en élevages ne présentent pas de différences flagrantes en terme de pathogènes ou symbiontes avec les animaux trouvés sur des gisements. Les mêmes espèces sont trouvées à des taux comparables, et le commentaire sur les coques de gisements est aussi valide pour ces coques en élevage

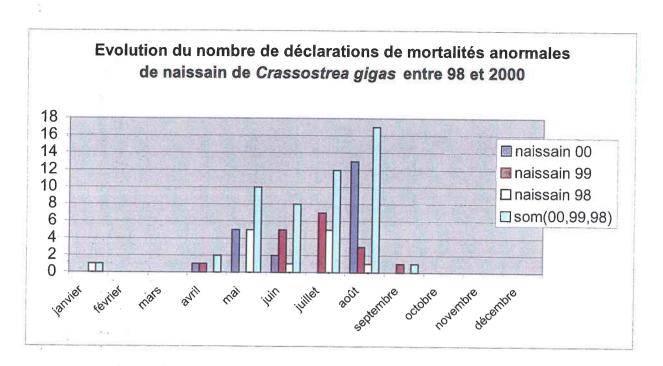
2.3.3/ Etude des cas de mortalités anormales et baisse anormale des performances zootechniques

La recherche d'un agent infectieux en cas de mortalité anormale est une obligation pour les pays producteurs. L'échantillonnage requis communément admis pour une zone est de 100 à 150 animaux en cas de mortalités anormales (suivant les textes internationaux de l'OIE, 1997). En fait pour les zones non agrées, il n'a pas eu de recommandations. En France l'échantillon requis au sein du réseau est au minimum de 30 animaux, dans le cas de mortalités isolées n'entraînant pas d'interdiction de transfert, qui doivent être examinés par histologie classique. Cet échantillon peut atteindre plusieurs centaines d'individus, suivant les situations, notamment si les mortalités concernent tout un secteur. Plus le risque est élevé que les mortalités soient liées à un pathogène et non à une cause environnementale connue, plus l'échantillonnage est élevé. Un minimum de 30 individus pour une unité (concession, gisement) a été requis par précaution. L'intérêt est majeur : prévenir la propagation d'un agent infectieux. Aucune mortalité n'a donné lieu a une interdiction de transfert en 2000 soit que le cas soit très isolé, soit que l'origine zootechnique ou environnementale des mortalités ait été rapidement et fortement suspectée. Une procédure plus complexe a été élaborée en 2000, afin de permettre des investigations en cas de mortalité à l'échelle d'un bassin (Thébault, 2001), mais qui n'a pas été appliquée car le cas ne s'est pas produit. Le nombre de déclarations de mortalité anormale, toute espèce confondue est plus faible que celui de 1999.

2.3.3.1. évolution et répartition du nombre de déclarations de mortalités anormales sur *C. gigas* en France

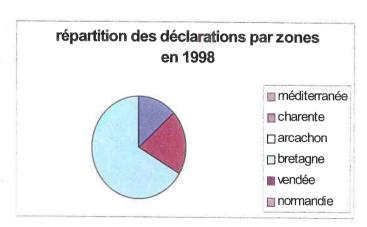
Le nombre de déclarations de mortalités anormales ayant donné lieu à des prélèvements sur adultes *Crassostrea gigas* était de 8 en 98, de 14 en 99 et de 10 en 2000. Il n'y a donc pas d'évolution sensible du chiffre de déclaration sur cette classe d'âge. Les mortalités d'adultes, comme le montre la somme sur le graphe ci-dessous semblent plutôt être déclarées à l'automne et au printemps. Il faut être prudent sur l'interprétation car le mois de septembre et d'octobre correspond aussi aux périodes de transferts vers la Charente d'un certain nombre de zones de productions, les mortalités pouvant être parfois un peu plus anciennes.

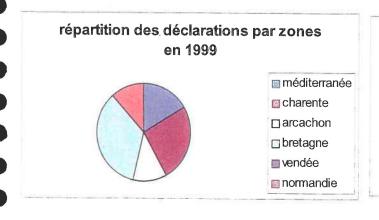


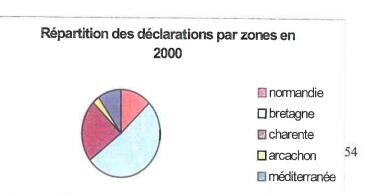


Le nombre de déclarations de mortalités anormales ayant donné lieu à des prélèvements sur le naissain de *Crassostrea gigas* était 13 en 98, de 17 en 99 et de 20 en 2000. La série est encore trop limitée pour en déduire une tendance. L'évolution saisonnière est montrée dans le graphe ci-dessus. A la différence des adultes, les déclarations de mortalité sont toujours estivales. En 2000, la plupart des déclarations de mortalité ont eu lieu en août, ce qui est plus tardif que les années précédentes, et probablement à rapprocher des basses températures de juillet, en 2000, comparées aux autres années.

Un autre effet peut biaiser ce résultat. En effet les déclarations de mortalités anormales de naissain sont souvent plus tardives au fur et à mesure que l'on remonte vers le nord de la France. Or la part relative de la Bretagne et de la Normandie a augmenté en 2000. Seules les mortalités déclarées en août en Charente paraissent confirmer ce retard. Si des mortalités de naissain ont parfois été relevées dans le passé en août, au cours des périodes de pontes, elles semblent avoir été plus fortes que d'habitude en Charente.







Il faut considérer ces données avec précaution, car le nombre de déclarations va dépendre d'un ensemble de facteurs, notamment la sensibilisation des professionnels, le moment des pertes, leur estimation de ce qui est normal et anormal, qui varie selon les bassins et les classes d'âge.

Depuis l'introduction de *Crassostrea gigas* en France des mortalités estivales ont été régulièrement observées. Le phénomène se serait accru depuis 1991 et a atteint son maximum en 1994-1995 et un peu moins en 1996. Ces mortalités concernent davantage le naissain de 8 à 14 mois. La seule exception concerne le site de Ronce-Perquis, où ce sont plutôt des adultes qui sont atteints en période estivale, mais pas forcément à des taux que la législation considère comme anormaux.

Ces mortalités de naissain se présentent par taches, à l'échelle d'une concession, entre concessions ou entre secteurs. Elles sont limitées dans le temps et ne présentent pas d'extension fulgurantes. La température semble jouer un rôle direct ou indirect dans ces mortalités. L'année 2000 a été plutôt calme, et l'augmentation des déclarations est plutôt considérée comme étant liée à une bonne sensibilisation des professionnels. Le rééquilibrage entre régions du nombre des déclarations est aussi probablement à imputer en partie au fait que le réseau REPAMO commence à se faire connaître.

2.3.3.2. événements marquants de 2000 par secteurs :

• Normandie

Un cas un peu particulier de mortalités massives de moules dans le Nord de la Baie de Somme a été signalé fin Mai 2000, qui n'a pas donné lieu à des prélèvements de pathologie. En fait les mortalités sont constatées après que les bouchots supportant les moules se soient entièrement recouvert de vase au point de faire disparaître les moules. Ces dernières meurent alors massivement (> 80%). Les professionnels sont d'autant plus inquiets qu'un phénomène exactement similaire c'est déjà produit en 1996. A l'époque, le secteur avait bénéficié du statut de calamité agricole, la production habituelle du secteur, estimée à 1500 tonnes, étant tombée à 250 t. Cette année, le schéma est le même, malgré les efforts développés par les professionnels pour nettoyer les bouchots (à l'aide de nettoyeurs haute pression). En effet, la période du moi de mai c'est caractérisée par une vague de conditions environnementales exceptionnelles sans doute à l'origine d'une réaction en chaîne. Début mai a été une période de très fortes pluviométrie (orages catastrophiques en Seine Maritime) provoquant un lessivage considérable. Dans le même temps, la température de l'eau qui a été relevée dans la Baie de Somme était exceptionnellement élevé pour la saison (> 15°C). La conséquence s'est traduite par un violent bloom de Phaeocystis rarement observé (DEL Boulogne). En se désagrégeant, la structure gélatineuse du Phaeocystis, combiné aux importantes remises en suspension, liées aux conditions orageuses, s'est sans doute agglomérée sur les bouchots, étouffant les moules. L'influence directe de la dessalure est à écarter du fait que le secteur le plus touché est le plus éloigné de la Baie de Somme. Des vers ont proliféré dans ces dépots vaseux, il semblerait que ce soit des annélides du genre Capitella, vraisemblablement Capitella capitata.

Des mortalités sont survenues fin août; elles ne concernent que le secteur de la baie des Veys. Le laboratoire conchylicole de Normandie a mis en place une vaste étude de différents paramètres (physiologiques, climatologiques, zootechniques...) avec notamment un relevé des mortalités sur différents points. Ils ont constaté fin août une augmentation de la mortalité (5 à 8%). Celle-ci ne concerne que les adultes de taille commerciale. La mortalité du naissain est minime (<3%). Concernant les professionnels, les renseignements étaient variables. Selon certains, il n'y a rien de particulier alors que pour d'autres, la mortalité était de 30 à 40%. Elle concernerait à la fois les adultes et le naissain. Cependant, les mortalités seraient apparues dans les jours qui ont suivi de violents orages. Les huîtres étaient en pleine phase de maturité sexuelle, mais sans signe de pontes. Le rapport d'activité sur ces mortalités expliquent plus complètement le phénomène qui semble faire intervenir des paramètres physiologiques, environnementaux et zootechniques.

• Bretagne Nord

Des mortalités d'huîtres de 15 mois ont été signalées en mars dans l'aber wrach, les analyses de pathologie n'ont rien révélé d'anormal, hormis la présence de Ciliés pouvant traduire un mauvais état général.

Un cas de mortalité de naissain d'huîtres creuses a été signalé au mois de mai que la mortalité de naissains de creuses signalée dans la baie de Roscanvel (Rade de Brest), quelques jours après le transfert de Charente vers la Bretagne Sud et dont l'analyse de pathologie n'a rien révélé d'anormal. Un cas de mortalité a été signalé et confirmé fin juillet sur du 18 mois en Baie de Morlaix de l'ordre de 50%. Les analyses de pathologie n'ont rien révélé, mais une origine environnementale (produit phytosanitaire ou autre) a été envisagé. Un deuxième cas de mortalité a été signalé par un professionnel fin juillet en Rade de Brest sur du naissain de l'ordre de 25%. Ces cas sont restés isolés. Dans le Finistère Nord, aucune mortalité n'est à signaler excepté un cas en baie de Morlaix fin juillet. Deux commissions de visite ont eu lieu en août mais un arrêt des mortalités a été constaté. Dans la région de Cancale, un cas de mortalité (50%) a été signalé sur du naissain fin août. Les analyses de pathologie n'ont rien révélé d'anormal.

• Bretagne Sud

En juillet un professionnel a signalé des mortalités sur des huîtres de 2 ans dans le Golfe du Morbihan, près de Larmor-Baden, le taux estimé sur 2 parcs mitoyens étaient d'environ 50%. Les densités en élevage étaient très élevées, selon le préleveur. Selon l'ostréiculteur les mortalités auraient commencé à la mi-juin, puis se seraient accélérées en juillet. Il n'y aurait pas de mortalité sur les parcs en surélevé proches ou sur les parcs à plat situés plus haut sur estran. Les professionnels accusent les lâchés d'eau douce de l'étang de la Pompe en amont. Les analyses de pathologie n'ont rien révélé d'anormal.

Dans la baie de Quiberon, un cas de mortalité (30%) sur du naissain a été signalé à la mi-août. Le virus de type herpès a été mis en évidence par PCR sur un lot à un taux de 2/6. D'autres lots ont ensuite été prélevés, fin août –début septembre, mais sans la mise en évidence de virus de type Herpès. Fin août, dans le même secteur, un cas de mortalité (15 à 20%) sur des adultes (3 ans) a été rapporté. Début août, un cas de mortalité (30 à 50%) a été signalé sur du naissain dans le secteur de la rivière de Saint Philibert. Dans tous ces cas les analyses de pathologie n'ont rien révélé d'anormal.

• Croisic et Baie de Bourgneuf

Malgré l'impact de l'Erika, un seul cas de mortalité anormale a été signalé sur des palourdes en baie de Bourgneuf en mars. Des remontées de coques ont été observées au mois d'août au Croisic, mais sans que cela atteigne des taux inhabituels. Au cours du mois d'août, des professionnels de Charente ayant des concessions en Baie de Bourgneuf ont déclaré des taux de mortalités comparables sur le naissain de *Crassostrea gigas* à ceux qu'ils observent en Charente, de l'ordre de 20 à 40%, mais sans effectuer de prélèvement et sans pouvoir déterminer le début des mortalités.

• Charente maritime

Un cas de mortalités de palourdes a été signalé sur Oléron, les analyses de pathologie n'ont rien révélé d'anormal et le phénomène a été attribué aux mortalités post-hivernales de la palourde, d'origine physiologiques et environnementales (Goulletquer, 1989).

Plusieurs professionnels du même secteur se sont plaints fin juin de mortalités subites sur du naissain de l'ordre de 50%, au nord de la Rochelle. Les analyses en PCR ont montré dans un cas sur 2, la présence du virus de type herpès, mais à un faible taux. Une origine environnementale (utilisation de produits phytosanitaires ou autres) a été mise en cause par les professionnels concernés. Sur le secteur suivi chaque année à Fouras les mortalités atteignaient à peu près 10% à la mi-juillet, les mortalités ayant démarré avec un léger décalage, par rapport à 99, de fin juin à début juillet.

Début août en charente, dans quelques secteurs, des mortalités en taches sont signalées et estimées entre 20 et 80%. En 1999, 1998 et 1997 il n'y avait pas eu de déclarations de mortalités anormales de naissain au mois d'août en Charente, ni de constatation de mortalité « anormale » dans le site suivi sur Fouras.

Ceux qui ont tourné, criblés déplacés ou transférés leurs poches à cette période sont plutôt dans les pourcentages maximum. Il n'y a pas d'effet de la taille des animaux, têtes et queues de lots sont également concernés dans les lots analysés (13 lots). Les quelques questionnaires qui ont été remplis par les

professionnels concernés ne mettent pas en évidence un effet origine ni un effet du niveau d'exondation. A Fouras, les taux de mortalités oscillent entre 20 et 60%, alors qu'à la mi-juillet ces taux étaient de 10%. L'élévation tardive de la température, directement ou indirectement, sur des animaux en cours ou en fin de ponte est bien évidemment suspectée.

Les analyses sur le virus de type herpès ont montré des lots positifs allant de 1/6 à 6/6 pools positifs sur différents secteurs de la Charente. D'autres lots sont restés cependant négatifs, mais on trouve plus de lots positifs qu'en 1999, 1998 et 1997. Le taux de positifs est aussi plus élevé, il était toujours de 1 pool /6 positif maximum sur des lots issus du milieu naturel en Charente en 1999 et 1998, alors qu'en 2000 on trouve 2 lots à 6/6 positifs, sur des lots composés surtout d'animaux baillants.

A Fouras, en 2000, deux lots sur 9, présentant des taux de mortalités, entre 10 à 500% ont été trouvé positifs en Herpès, contre 0/24 en 99. On ne trouve pas de lien entre la détection de l'herpès et le taux de mortalités. Mais au moment du prélèvement du mois d'août 2000 sur Fouras il n'y avait presque plus d'animaux baillants. Les lots issus d'autres sites de Charente présentant le plus d'animaux baillants avec les taux de mortalité les plus forts sont tous positifs à l'herpèsvirus. Les autres types d'analyse de pathologie en histologie et en bactériologie n'ont rien révélé d'anormal.

• Arcachon

. Deux professionnels ont signalé des mortalités de naissain en poches sur le site de Courbey et sur le site de Lahillon fin mai. Pour les adultes quelques mortalités anciennes ont été signalées, mais le problème était vraisemblablement zootechnique. Un cas de mortalités post hivernales de palourdes a aussi été signalé en mail. Les résultats du recrutement ont été plutôt médiocres en 2000 sur Arcachon. Début septembre 2000 Le comptage sur tuiles du naissain collecté montrait en moyenne 300 animaux fixés/ tuile, alors qu'en 1999 la moyenne était plutôt de 1000/ tuiles à la même époque.

• Etang De Thau

Des mortalités assez brutales sont survenues sur la seule zone de Mèze touchant principalement le naissain prégrossi en "lanternes", surtout sur les tables proches de la "terre" et essentiellement en surface. Certains professionnels ont avancé la possibilité de l'effet d'une nappe d'eau amenée par la pluie de mi-mai contenant des substances toxiques provenant des exploitations agricoles (melons, tomates, vignes,...). Les analyses n'ont rien révélé d'anormal.

• Etang de Leucate

Des mortalités anormales d'huîtres creuses ont été signalées en mai sur les élevages de l'étang de Leucate. Selon les professionnels elles affectaient le naissain et des huîtres "adultes". Des mortalités s'étaient produites en 99 en juin Les mortalités se sont ensuite arrêtées et il n'y a pas eu de prélèvements.

2.3.3.3/ mortalités signalées sur Crassostrea gigas

• Analyses sur adultes

Zones	yses sur adultes Sites	Mois	Type d'élevage	Nombre d'individu s analysés	Résultats
ó	• Perquis	Juin	Table	30/histo	3/30 Trichodines 2/30 Mytilicola 1/30 Myicola 1/30 Métazoaire
3	Golfe du Morbihan Bois Bas	Juillet	Sol, découvrant	15/histo	1/15 Anomalies nucléaires 1/15 Nécrose microscopique 4/15 Infiltration 2/15 Myicola sp. 1/15 Trichodina sp.
	Baie de Quiberon	Septembre	Sol, eau profonde	30/histo	1/30 Atrophie diverticules digestifs 2/30 Bactéries 6/30 Nécrose microscopique 10/30 Infiltration 2/30 Ciliés indéterminés 2/30 Mytilicola sp.
	Baie de Quiberon	Septembre	?	29/histo	1/29 Inclusion intracytoplasmique dans un ovocyte 2/29 Métazoaires indétermin 5/29 Ciliés indéterminés 3/29 Mytilicola sp. 28/29 Infiltration 8/29 Erosion diverticules digestifs 21/29 Nécrose microscopiqu 2/29 Anomalies nucléaires
	Baie de Quiberon	Septembre	Sol, eau profonde	29/histo	2/29 <i>Mytilicola</i> sp. 2/29 Ciliés indéterminés 3/29 Nécrose microscopique 23/29 Infiltration
	Baie de Quiberon	Septembre	Sol, eau profonde	30/histo	4/30 Erosion branchie 1/30 Métazoaires indétermi 3/30 Ciliés indéterminés 2/30 Mytilicola sp. 4/30 Anomalies nucléaires 21/30 Nécrose microscopiq 26/30 Infiltration

8	Baie de Quiberon	Septembre	Sol, eau profonde	30/histo	3/30 Ciliés indéterminés 2/30 Métazoaires indéterminés 3/30 <i>Mytilicola</i> sp. 10/30 Erosion diverticules digestifs 6/30 Anomalies nucléaires 24/30 Nécrose microscopique 30/30 Infiltration
	Rivière d'Etel Mané Hellec	Octobre	?	15/histo	2/15 Ciliés indéterminés 1/15 <i>Mytilicola</i> sp. 8/15 Nécrose microscopique 15/15 Infiltration
	Isigny	Octobre	Tables	12/histo	5/11 Inflammation du TC 11/11 Animaux très matures
				2/bactério	isolement de 6 souches
9	Baie des Veys (14)	Septembre	?	31 histo	12/31 Erosion branchie 29/31 Infiltration 19/31 Nécrose microscopique 1/31 Granulocytome 4/31 Anomalies nucléaires 1/31 Bactéries 7/31 Ciliés indéterminés 2/31 <i>Trichodina</i> sp. 1/31 Métazoaires indéterminés 5/31 <i>Mytilicola</i> sp.
	• Baie des Veys (14) (témoin mortalité)	Septembre	?	31/histo	3/31 Métazoaires indéterminés 3/31 Ciliés indéterminés 1/31 <i>Mytilicola</i> sp. 1/31 <i>Mytilicola</i> sp. 5/31 Anomalies nucléaires 4/31 Nécrose microscopique 24/31 Infiltration
	Grancamp-Maisy	Septembre	?	30/histo	4/30 Ciliés indéterminés 1/30 Trichodina sp. 2/30 Métazoaires indéterminés 3/30 Mytilicola sp. 4/30 Erosion diverticules digestifs 25/30 Nécrose microscopique 29/30 Infiltration

commentaires

Aucun des agents signalé ici ni les lésions tissulaires n'expliquent les mortalités observées. L'atrophie des épithéliums digestifs peut venir d'une réaction à un stress non spécifique. Le granulocytome est un terme permettant de décrire une infiltration bien délimitée, focale.

• huîtres creuses naissain et jeunes

Zones	Sites	Mois	Type d'élevage	Nombre d'individus	Résultats
3	• Etang de Thau (10 – 11 mois)	Mai	Lanternes sur tables	analysés 120 PCR (24x5)	0+/24
	• Etang de Thau (11 mois)	Mai	Poches sur tables	30 PCR (6x5)	1+/6
				20/Histo.	1/20 Mytilicola
	• Etang de Thau (11 – 12 mois)	Mai	Pignes sur tables	30 PCR (6x5)	0+/6
				20/Histo.	5/20 Mytilicola
	• Ecloserie-neurserie Thau	Mai	Bassins	60 PCR (12x5)	0+/12
	(10 mois)			30 Histo	1/30 anomalie nucléaire
				50 Bactériologie	vibrionacées sur pool de 50 individus
	• Lahillon	Juin	Poches sur tables	30/PCR	0/6 pools de 5
5			40105	30/Histo	5/30 Mytilicola 1/30 Gregarine 2/30 Ciliés 9/30 Dégradation des branchies
	Carrelaire	Juin	Poches sur tables	60/PCR	1 à 6-/6 et 1 à 1+/6
				30/histo	30/30 Chromatines des noyaux marginalisées 2/30 Rickettsies dans le manteau 1/30 Trichodines
	• Ronce	Août	Poches sur tables	30/PCR	0/6 pools de 5
6				29/histo	2/29 Trichodines 3/29 Mytilicola 1/29 Ciliés 1/29 Myicola 1/29 Suspicion herpès
	• Les Doux	Août	Poches sur tables	90/PCR	1 à 6/6-,1 à 2+/6 et 1 à 3+/6
	• Marsilly	Août	Poches sur tables Poches sur	30/PCR	6+/6
	• Fouras	Août	tables	270/PCR	2 à 1+/6 et 7 à 0/6+

7	• Nurserie	juillet	raceway	60/PCR	1 à 1+/6 et 1 à 6+/6
8	• Aber Wrach Baie des Anges (15 mois)	Avril	Poches sur tables	30/histo et macro	7/30 Ciliés indéterminés 6/30 Atrophie diverticules digestifs 20/30 Anomalies nucléaires 5/30 <i>Mytilicola</i> sp.
	Baie de Quiberon (13 mois)	Août	Sol, eau profonde	30/histo	5/30 Anomalies nucléaires 2/30 Ciliés indéterminés 17/30 Infiltration
		i		30 PCR (6×5)	0+/6
	Baie de Quiberon (13 mois)	Août	Sol, eau profonde	30/histo	11/30 Anomalies nucléaires 8/30 Nécrose microscopique 24/30 Infiltration 2/30 Ciliés indéterminés
<u> </u>				30/PCR (6×5)	0+/6
	Baie de Quiberon (13 mois)	Août	Sol, eau profonde	30/histo	1/30 Erosion branchie 9/30 Infiltration 8/30 Anomalies nucléaires 9/30 Nécrose microscopique 1/30 Mytilicola sp. 1/30 Ciliés indéterminés 1/30 Trichodina sp.
				30/PCR (6×5)	2+/6
	• Cancale (13 mois)	Août	?	30/histo	9/30 Nécrose microscopique 14/30 Anomalies nucléaires 26/30 Infiltration 1/30 <i>Trichodina</i> sp. 1/30 Métazoaires indéterminés 1/30 <i>Myicola</i> sp. 3/30 <i>Mytilicola</i> sp. 1/30 Ciliés indéterminés
				30/PCR (6×5)	0+/6

8	• Cancale (13 mois)	Août	?	30/histo	5/30 Ciliés indéterminés 1/30 Métazoaires indéterminés 1/30 Myicola sp. 2/30 Mytilicola sp. 1/30 Erosion diverticules digestifs 24/30 Nécrose microscopique 20/30 Anomalies nucléaires 30/30 Infiltration
				30/PCR (6×5)	0+/6
	• Cancale (13 mois)	Août	?	30/histo	9/30 Ciliés indéterminés 2/30 Métazoaires indéterminés 1/30 Mytilicola sp. 1/30 Rickettsies 8/30 Erosion diverticules digestifs 22/30 Nécrose microscopique 20/30 Anomalies nucléaires 30/30 Infiltration
				30/PCR (6×5)	0+/6
	• Morlaix Rive gauche (13 mois)	Août	Sol, Découvrant	30/histo	1/30 Anomalies nucléaires 10/30 Infiltration 1/30 Erosion branchie 2/30 <i>Trichodina</i> sp.
				30/PCR (6×5)	0+/6
	• Morlaix Rive gauche (13 mois)	Août	Sol, Découvrant	30/histo	9/30 Nécrose microscopique 2/30 Erosion branchie 12/30 Infiltration 5/30 Ciliés indéterminés 2/30 Mytilicola sp.
				30/PCR (6×5)	0+/6
	• Morlaix Rive gauche (13 mois)	Août	Sol, Découvrant	30/histo	4/30 Anomalies nucléaires 23/30 Infiltration 5/30 Ciliés indéterminés 1/30 <i>Trichodina</i> sp. 2/30 <i>Mytilicola</i> sp. 3/30 Métazoaires indéterminés
				30/PCR (6×5)	0+/6
					62

	• Rade de Brest Roscanvel (10 mois)	Mai	Surélevé	30/histo	2/30 Atrophie diverticules digestifs 4/30 Infiltration 2/30 Mytilicola sp.
	}			30/PCR (6×5)	0+/6
8	• Saint Philibert (13 mois)	Août	?	5/histo	1/5 Ciliés indéterminés 2/5 Anomalies nucléaires 4/5 Nécrose microscopique 3/5 Infiltration

- Les résultats sur la recherche de virus de type Herpès par PCR seulement sont rassemblés dans la rubrique épidémiosurveillance de l'Herpès.
- Sont rappelés ici, lorsque l'analyse a été réalisée par PCR et histologie, les résultats de la PCR, qui auront aussi été comptés dans la rubrique épidémiosurveillance, afin de permettre une meilleure compréhension de l'analyse.

Commentaires:

- sur la détection d'ADN viral : quelques cas de mortalités observées ont pu être associée à une détection d'ADN viral sur le naissain.
- Pseudomyicola et Mytilicola sont des copépodes, ne pouvant avoir un impact sur la santé qu'à des forts taux d'infestation, ce qui n'a pas été le cas. Les prévalences étaient de toutes façons modérées.
- Les ciliés, Trichodina et Hexamita sont considérés comme des opportunistes.
- Les *Vibrios* isolés sont en cours d'étude de pathogénicité. En effet dans ce groupe la plupart sont sans effet sur les huîtres et seuls quelques une pourraient être virulents.

2.3.3.4. Ormeaux

Zones	Sites	Mois	Type d'élevage	Nombre d'individus analysés	Résultats
9	Blainville	Septembre	?	3/histo	RAS
	Blainville	Octobre	?	3/histo	1/3 Bactéries 1/3 Nécrose microscopique

Dans les sites où des mortalités ont été observés, à savoir à Chausey, Blainville et La Trinité *Vibrio Carchariae* a pu être isolé au cours d'épisodes de mortalité d'ormeaux issus de zones indemnes et immergés dans des cages dans des zones supposées contaminées (Basuyaux, com. pers.2001). Ceci conforte l'hypothèse que cette bactérie puisse être responsable des mortalités observées en milieu ouvert.

2.3.3.5. autres espèces

• Mytilus edulis

Afin de confirmer les résultats obtenus en 99 une expérience a eu lieu dans l'Aber Benoît. 3 poches de moules originaires d'Irlande, et confirmées indemnes par l'examen de 100 frottis ont été immergées fin avril dans l'aber benoît, sur des tables, à côté de 3 poches de moules françaises *Mytilus edulis*, chargées de la même façon. Les moules irlandaises présentaient dès juin des taux de prévalence élevés en *Marteilia maurini* alors que les moules françaises placées à côté montraient des taux de prévalence très bas. A la mi-août, les moules irlandaises, dont le byssus n'arrivait plus à sécréter de filaments, ont commencé à mourir, tandis que les moules françaises allaient très bien. Les moules irlandaises présentaient des taux de prévalence et d'infestation de *Marteilia maurini* extrêmement élevés. En Septembre, toutes les moules irlandaises étaient mortes, tandis que leurs vousines françaises, se portaient très bien. L'origine des moules est bien en cause dans leur sensibilité vis à vis de *Marteilia maurini*, présent dans l'aber benoît, et dans le cas des mortalités de 99. L'Irlande est un pays considéré comme indemne en Marteilia. Ceci montre aussi que même un agent ne faisant pas partie de la liste des maladies à déclaration obligatoire peut être dangereux sur des populations naïves.

Zones	Sites	Mois	Age	Nombre d'individus analysés	Résultats
	Aber Benoît	Avril		100/frottis	0/100 Marteilia maurini
		Avril	Adulte	30/histo	0/30 RAS
	Poche 1	Juin	Adulte	30/frottis	25/30 Marteilia maurini
	Poche 2	Juin	Adulte	30/frottis	16/30 Marteilia maurini
8	Poche 1	Mi Août	Adulte	40/histo	38/40 Marteilia maurini 1/40 Infiltration dans les branchies 1/40 Tâches blanches sur le manteau
	Poche 2	Mi Août	Adulte	16/frottis	16/16 Marteilia maurini
				38/histo	38/38 Marteilia maurini 3/38 Infiltration dans le TC 1/38 Trématodes dans le pieds 1/38 Bactéries dans le TC
	Poche 3	Mi Août	Adulte	40/histo	40/40 Marteilia maurini

	D-1-1-X7	Cantambea	Jeunes	29/histo	3/29 Erosion diverticules
9	Baie des Veys	Septembre		47/1115W	digestifs
	(50)		(17 mois)		. •
	(Témoin mortalité)				2/29 Forme atypique branchie
		ļi			14/29 Infiltration
					21/29 Infiltration épithélium
					estomac
					7/29 Granulocytome
			:		22/29 Nécrose microscopique
					2/29 Anomalies nucléaires
					11/29 <i>Mytilicola</i> sp.
					8/29 Ciliés indéterminés
	1				6/29 Métazoaires indéterminés
					2/29 Trématodes (métacercaire)
	,				1/29 Turbellarié
		!			
	Baie des Veys	Septembre	Adultes	15/frottis glande	6/15 Bactéries
	(50)	Septemore	11441105	TO/ HOURS BILLION	0, _ 0 _ 0
	(30)			30/histo	5/30 Ciliés indéterminés
				30/11150	20/30 Nécrose microscopique
					5/30 Infiltration
					3/30 Anomalies nucléaires
					4/30 Erosion branchie
					1/30 Forme atypique
					1/30 Erosion diverticules
					digestifs
	!			(1 45	27/45 Pinnothère
				(les 45 en macro)	27/43 Phinothere
	Deia des Massa	Septembre	Adultes	30/histo et macro	24/30 Infiltration
	Baie des Veys	Septemore	Addites	Johnsto et macro	21/30 Infiltration épithélium
	(50)				estomac
					9/30 Ciliés indéterminés
					}
					2/30 Granulocytome
					2/30 Erosion diverticules
1]			digestifs
					14/30 Anomalies nucléaires
					21/30 Nécrose microscopique
					8/30 Mytilicola sp.
					3/30 Trématodes (métacercaire)
					1/30 Forme atypique branchie
		ļ.			5/30 Métazoaires indéterminés
					6/30 Pinnothère

LOTS TEMOIN D'ORIGINE FRANCAISE DANS ETUDE DES MORTALITES DE MOULES DE L'ABER BENOIT Zones Sites Mois Nb individus Résultats Age analysés 8 Juin Adultes 30/frottis 4/30 Marteilia maurini Contrôle 99 Juin Adultes 30/histo 0/30 Marteilia maurini Juin Adultes 30/frottis 0/30 Marteilia maurini Contrôle 00 Juin Adultes 30/histo 0/30 Marteilia maurini Mi Août Adultes 30/frottis 3/30 Marteilia maurini Contrôle 99 Mi Août Adultes 30/frottis 2/30 Marteilia maurini Contrôle 00

Des mortalités de moules ont aussi été observées en septembre en Baie des Veys. La comparaison de lots avec et sans mortalités ne montre pas de différences flagrante, et aucun des agents cité n'est réputé à l'origine de mortalités à des taux d'infestation modéré.

• mortalités de Ruditapes phillipinarum

Zones	Sites	Mois	Age	Nombre individus analysés	Résultats
7	Le Gril	Mars	3-4 ans	30	1/30 bactéries dans manteau 3/30 rickettsies dans GD 2/30 amas de cellules granuleuses
5	• Pont Cassy (bassin)	Mars	3-4 ans	29	18/29 <i>Perkinsus atlanticus</i> 7/29 Rickettsies 2/29 Trichodines 1/29 Paravortex 1/29 Métazoaire 1/29 calcification du muscle

Le taux de prévalence en *Perkinsus atlanticus* observés sur les palourdes peut expliquer dans une certaine mesure les mortalités observées en bassin. La période de mars étant aussi celle des mortalités habituelles post hivernales de la palourde d'origine physiologique et environnementale (Goulletquer, 1989), les deux facteurs ont pu intervenir. Le même commentaire sur les mortalités post-hivernales peut être appliqué aux palourdes du Gril. Ces dernières avaient aussi été fortement exposées aux hydrocarbures, mais il n'est pas observé de d'agents émergent.

2.3.4. contrôle d'animaux de pays tiers ou de pays de la CEE, et détection des maladies exotiques

Espèces	Zones	Origines	Mois	Age	Nombre d'individus analysés	Résultats
Crassostrea gigas	0	Irlande	Février	2 ans	30/PCR (6x5)	0+/6 PCR
Ostrea edulis	10	Ecosse	Mai	18 mois	118 frottis cœur et glande digestive	0/118 Bonamia 0/118 Marteilia 8/118 Hexamita 4/118 Bactéries
					100 coupes histologiques	8/100 Ciliés 1/100 Mytilicola 66/100 infiltrations 30/100 Nécroses 1/100 Granulocytome 3/100 Anomalies nucléaires
Crassostrea gigas	9	Irlande	Février	2 ans	50 Macroscopie 30 coupes histologiques	10/50 Mytilicola 1/30 Myicola 2/30 Trichodina 6/30 Ciliés 1/30 Métazoaire 29/30 Infiltrations 29/30 Nécroses 20/30 Erosion glande digestive 18/30 Anomalies nucléaires

Ces résultats sont en accord avec les résultats de la surveillance des pays dont ces lots sont issus.

2.4/ ACTION DE SOUTIEN DES LABORATOIRES D'ANALYSE DE PATHOLOGIE AUX PROGRAMMES DE RECHERCHE IFREMER

Espèces étudiées	Nombre individus (nombre de lots)	Programme	Laboratoire concerné	Méthode d'analyses	Pathogènes détectés
Ostrea edulis	240 en 9 lots	Test de souches	Sète	60/histo. 180/Fr. cœur 180/Fr. Gd	0/240 Mr 0/240 Bo 12/60 Rk 24/60 Cilié 6/60 Granulocytome
Ostrea edulis	410 en 14 lots	Test de souches	Sète	255/histo. 105/Fr. cœur 155/Fr. Gd	187/410 Mr 5/360 Bo 1/255 Haplosporidie 8/255 Rk 2/255 Métozoaire 12/255 Cilié 4/255 Anomalie hémocytaire
Ostrea edulis	180 en 6 lots	Test de souches	Sète	25/histo. 90/Fr. cœur 180/Fr. Gd	5/180 Mr 0/90 Bo 2/25 Ciliés
C. gigas	160 en 6 lots	Croissance dans l'étang de Thau	Sète	160/histo.	8/160 Mytilicola 1/160 Granulocytome
C. gigas	30 e n1 lot	REMORA	Sète	30/histo.	RAS
Ostrea edulis	90 en 3 lots	Génétique	Tremblade	PCR	1 lot à 1/3+ 1 lot à 3/3+ 1 lot à 1/6+
Ostrea edulis	60 en 2 lots	Suivit génétique (Baie de Quiberon)	Tremblade	Frottis	17/60 Martelia refringens 3/60 Bonamia ostreae
Ostrea lurida	56 en 1 lot	Programme génétique (Washington)	Tremblade	Histologie	2/56 Mytilicola 1/56 Métazoaire 1/56 Myicola
Crassostrea rhizophorae	28 en 4 lots	Suivi génétique (Porto Rico)	Tremblade	Histologie	1/28 Rickettsies 1/28 Spores dans les TC 8/28 Atrophie de la glande digestive 2/28 Inflammation des branchies et du manteau 1/28 Turbellarié dans les branchies 3/28 Dégradation des

					branchies et du TC
C. gigas	12 en 1 lot	Génétique (tétraploïdes)	Tremblade	Histologie	12/12 Rien à signaler
Ostrea edulis	1340 en 82 lots	Programme de génétique du laboratoire de La Tremblade	La Trinité sur Mer	1340 Frottis de cœur	181/1340 Bonamia 2/1340 Hexamita 7/1340 Bactéries 8/1340 Ciliés
		La Trembiade			1/1340 Cines 1/1340 Haplosporidies
Ostrea edulis	220 en 6 lots	Privé	La Trinité sur Mer	220 Frottis de cœur	17/220 Bonamia
				90 Frottis de glande digestive	7/90 Marteilia 1/310 Bactéries
Crassostrea gigas	7 en 2 lots	Etude de la pression sur les chaires	La Trinité sur Mer	7 coupes histologiques	2/7 Ciliés 1/7 Mytilicola
Mytilus edulis	29 en 1 lot	Etude de la gamétogénèse	La Trinité sur Mer	29 coupes histologiques	Pas de recherche de pathogènes

Ces données ne sont rappelées ici que pour mémoire, car elles constituent une charge de travail non négligeable des cellules de veille. Malgré tout, même pour la surveillance zoosanitaire, cela peut parfois avoir un intérêt pour les pays d'abord, qui confirment leur diagnostic ou leur statut, et la sensibilité de leurs souches aux agents présents en France. Les huîtres descendantes des huîtres plates Croates, issues d'un pays indemne de la Bonamiose et la Marteiliose s'avèrent ainsi très sensible à la Marteiliose, une fois immergés dans l'étang de Thau. Les Haplosporidies qui ont été découvertes ici sur *Ostrea edulis* seront l'objet de recherches ultérieures en taxonomie, notamment sur leur parenté avec *Bonamia ostreae*.

2.5. REPARTITION DES AGENTS OBSERVES SUR LES DIFFERENTES ESPECES DE COQUILLAGES EN 1999, EN 1998 ET 2000

	100		H	P	\mathbf{C}	V	H	V	В	\mathbf{R}	\mathbf{C}	\mathbf{G}	\mathbf{T}	M	A	M		4 Ta	2.5			
	0	A	A	E	0	I	Y	Ι	Ā	Ī	Ĭ	$\ddot{\mathbf{R}}$	Ŕ	É	Ň	Ÿ	S T	U	N N	T R	P O	96d 447 942
	N	R	P	R	C	R	P	\mathbf{B}	C		Ĺ	Ē	È	Ť	N	Î	E	\mathbf{R}	F	Ī	100	
	A	T	L	K	Ċ	Ū	E	$\overline{\mathbf{R}}$	$\tilde{\mathbf{T}}$	K	Ī	Ğ	M	Å	E		¥	B	Ē	C	L Y	
	M	E	0	Ī	Ī	S	$\overline{\mathbf{R}}$	Ī	Ē	E	Ē	Ă	Ä	Z	Ă	Ĺ	N	E	C	1	* 275 C	
	Ī	Ī	S	N	D		P	Ō	\mathbf{R}	T	S	R	T	o	Ū	ľ	25 5 ckes		4.5 Sec. 25.5	H	D	
	Ā	L	$\tilde{\mathbf{P}}$	S	Ĭ	\mathbf{H}		*	Î	T	9	T	O		U	4000	H	L	T	0	0	31
	1.77 45 46	Ī	Ō	U	Ē	Ē	Ā		Ē	S		la, 1 , 10	D	A	n	C	A	L	I	D	R	
		Â	R	S	Š	Ř	S		S	LESSES.		N	E	I	B	0	U	A	0	L	A	
			T	9	.5	P	I		9	I		E		R	R	L	S	R	N	N	*	
			D	A		1 15 15 15	E			E S		S	S	E	U	A	1	L		E		
			r	A T		E S	Ľ		I	D				S	N		A	E	F	S		のも可能力 のも可能力 のものと のも のものと のも のも のも のも のも のも のも のも のも のも
			E	433,32		3	•		N D				607 207 2334						U			
			S	L			H		ע										N			100 de 10
		149.V	D	A			E		3.34 50 3.34 50					N					G			
							M							D								
							0												1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1			
Crassost		P*	P		P	P	P			P	P			P	•	F				P1	P]
ea gigas	(j. 6. j.	- 1 - 374.5	- 4404	3 (1974)	07 +5 AN	04 (1951.)	i. Nama	una dibita	i B satt	u Zi Teori	Andia milati	en en en	raje i tem	vine en en								
Crassost ea			P													F						1
ea ngulata						11 14 17 13 14 1																
And all the same of	P	P	P		은 설립되다. 이 시즌()		P	n kat Bula	11 TH	P	P	IV. bed In in		inda en Como en				31. S 313. S 3				25
dulis						10 (2017) 12 (2012)				F					es od							
														e:						ang dis Julia		4.5
<i>lytilus</i>		P	P	1. 1.45 (%)			P	ರ್ಷ-ಆಫ್	N 798.79	P	P	P	P			P	(15 d	golde P	1,141,171		A. C.	23
ďu							•			1		1	1	1		Г	· ,]	r				
1ytilus		P					P			P	P	P	P		in the	P		isk ara	ağı i	4 .	ege ege	
allopro																						
Cerastod			P		P		P			P	P	P	P	P		P	a. 11.5 * •	i ray	P	P2	P	
rma														-		•		•	•	1 24	1	
dule			ea l																			
uditape			P	P	P				. P	P	P	P	? P	P	P			7 6 J	P		P	Į,
dec. et	7 877 1		15 + 14 21 14										Yalik yi Talik)
hi 		5. **								V fig.		4000	1. The 1. St.							Arris.		
Ialiotis ıbercula								P						P								
ivercuia i																						
i ecten							5 50			-				-								
ecten aximus		 							y Kir	P				P				Ų,			· ·	
lercena							3 1 1 4 B			P				* 4					*			

ia

Légendes:

- P: présent sur un des lots au cours du suivi du REPAMO.
- les agents marqués d'un * ne sont pas systématiquement relevés, soit qu'ils soient considérés comme des opportunistes, et non comme des agents pathogènes, soit que la technique d'analyse adaptée ne soit pas effectuée en routine sur certaines espèces.
- ** : la présence de Marteilia sur C. gigas doit être considérée comme une forme non infectante et non contagieuse.
- Les agents en gras ont été décrits cette année, parfois pour la première fois.
- P1 indique la présence d'*Ostracoclabe implexa* est un parasite de la coquille de *Crassostrea gigas* et P2 celle d'un parasite ressemblant à une levure intracellulaire des hémocytes de coques.

Commentaires:

Plusieurs notions importantes découlent de ce tableau :

- le besoin de préciser la taxonomie des différents agents pathogènes rencontrés par d'autres techniques de diagnostic, très souvent la détermination d'espèce est difficile, notamment pour les *Haplosporidies*. Ceci est particulièrement important en cas de d'introduction d'espèces exotiques de façon accidentelles ou frauduleuses. On peut comparer ce tableau à celui des maladies à déclaration obligatoire rappelé en annexe 1.
- La pathogénie des agents pour leurs hôtes est variable suivant l'espèce et les circonstances, et elle n'est pas toujours évidente.
- La notion de portage et de spécificité : de nombreux agents pathogènes se retrouvent sur des hôtes différents. Un transfert d'espèce hôte peut impliquer le transfert d'agents pathogènes. L'espèce porteuse n'est pas forcément sensible à la maladie.
- La transmission entre espèces différentes n'est pas toujours évidente : il n'est pas possible d'infecter des huîtres *Ostrea edulis* en *Marteilia* avec *C. gigas*. (F. Berthe et al, 1998)
- Sur certaines espèces les données sont peu nombreuses, en effet les échantillons sont relativement faibles sur *Haliotis tuberculata*, et étudiés depuis peu.
- Certaines espèces d'agents sont très présentes sur certaines espèces de mollusques et absentes sur d'autres, notamment les Trématodes.
- La répartition géographique des agents pathogènes, opportunistes ou symbiontes observés en 1999 sur les différentes espèces de coquillage suivis par le REPAMO est donnée en annexes :
 - Cette répartition géographique ne correspond pas à un suivi homogène. Les taux de prévalence sont ceux du lot sur lequel l'agent correspondant a été trouvé. Il ne s'agit pas d'un taux de prévalence par zone, les échantillons n'étant pas représentatifs d'une zone. Certains agents ne sont pas systématiquement notés et ne figurent donc pas : il s'agit des agents suivis d'une * sur le tableau.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les résultats de ce rapport sont une synthèse du travail effectué par les trois cellules de veille zoosanitaire du réseau. Le volumes d'analyse en histologie a augmenté en 2000, malgré les changements de personnel au sein des cellules de veille. Le réseau d'essai en histologie et en PCR organisé entre les trois cellules a donné des résultats très satisfaisants en 2000, ce qui garantit la qualité et la reproductibilité des analyses pour les maladies à déclaration obligatoires et le diagnostic de l'Herpès. Les analyses réalisées ont mis en évidence dans quelques cas ont permis la détection de nouveaux agents sur les coques et les moules, et la première détection d'ADN de virus de type Herpès sur les larves du milieu naturel. Tous ces agents ont été détecté en absence de mortalités anormales.

Le suivi de base a été revu en 2000. Les *Crassostrea gigas* adultes en élevage sont maintenant l'objet d'un suivi, même en absence de mortalités anormales. Ceci permet d'en déduire notamment que le taux de prévalence *d'Haploridium nelsoni* sur cette espèce en 2000 est inférieur au taux trouvé en 99 qui était de 0,2%.

Le choix des points du suivi de base a été revu et sera probablement définitivement fixé en 2001. Cependant la charge de travail en histologie pour répondre au suivi de base compatible avec à un objectif de surveillance et de vigilance est en augmentation. En 2000, tous les lots fixés pour examen histologiques ne sont pas encore lus.

L'étude des mortalités anormales et notamment des résultats sur l'Herpèsvirus montre l'importance d'un prélèvement le plus précoce possible après constatation des mortalités, avec pour le naissain, présence d'huîtres baillantes. Aucun cas de mortalité anormale, sauf dans le cas de moules irlandaises, n'est imputable à un agent de maladies à déclaration obligatoires, ni à un agent émergent en 2000.

Le travail de standardisation des procédures vis à vis des mortalités anormales a été poursuivi, aboutissant à un questionnaire commun aux trois cellules, pour toutes les espèces de coquillages en milieu ouvert. Le cas des milieux confinés (écloseries) devra être revu en 2001.

La procédure d'échantillonnage et d'analyses en cas de mortalité étendue a aussi été fixée, mais n'a pas été appliquée en 2000 car le cas ne s'est pas produit.

Le travail commun avec les DDAM et la DPMCM a aussi permis d'envisager des mesures à adopter vis à vis des mortalités anormales, notamment en terme d'échanges d'informations, et de revoir les modalités des transferts de coquillages d'un point de vue zoosanitaire.

Les principaux objectifs en 2001 seront de continuer l'application des stratégies développées en 2000, de poursuivre l'effort d'harmonisation pour fixer les dates et la position par GPS des points de prélèvements du suivi de base des principales espèces de coquillages d'intérêt commercial, d'améliorer la standardisation de la saisie des donnée d'histopathologie sur la base REPAMO. Le travail de sensibilisation auprès des différents acteurs du réseau devra être poursuivi.

BIBLIOGRAPHIE

ASPECTS JURIDIQUES

*Textes internationaux:

- Code sanitaire de l'Office International des Epizooties 1997 : recommandations concernant les échanges internationaux d'animaux aquatiques et de produits d'animaux aquatiques.
- Code de conduite du CIEM (Conseil International pour l'Exploration de la Mer) pour les Introductions et Transferts d'Organismes Marins.

*Textes européens:

- directive 89/662 : échanges intracommunautaires.
- directive 90/425 : contrôles vétérinaires à l'intérieur du marché commun.
- directive 90/220 : organismes génétiquement modifiés.
- directive 91/67 : mise sur le marché des produits d'aquaculture.
- directive 91/492 : fixe les <u>rêgles sanitaires</u> de mise sur le marché des mollusques.
- directive 93/54: modification de la 91/67.
- directive 95/22: modification de la 91/67.
- décision 93/22 : document de transport.
- décision 93/55 : circulation des mollusques zones agrées non agrées.
- décision 93/169 : certificat spécificité C.gigas.
- décision 95/352 : circulation *C.gigas*.
- directive 95/70 : contrôle des maladies.
- décision 94/306 : plan échantillonnage et méthodes diagnostiques.
- décision 92/528 : Royaume Uni : Bonamia Marteilia.
- décision 93/56 : Irlande : Bonamia Marteilia.
- décision 93/57 : Jersey : Bonamia Marteilia.
- décision 93/58 : Guernesey : Bonamia Marteilia.
- décision 93/59 : Ile de Man : Bonamia Marteilia.
- décision 94/722 : France : Bonamia Marteilia.
- décision 94/777 : Turquie.
- décision 94/778 : Turquie.
- décision 95/453 : Corée.
- décision 95/454 : Corée.
- décision 96/276 : relatif à la Tunisie.
- décision 93/387 : Maroc.
- décision 93/96 : Maroc.
- décision 97/20 du 17 décembre 1996 : établit la liste des pays tiers d'équivalence sanitaire.
- décision 96/276 : Tunisie.
- Décision 98/571 modifiant la 97-20 : liste des pays tiers d'équivalence sanitaire.
- règlement 338/97 : protection faune et flore sauvages.

*textes nationaux:

- Loi 92-654 du 13 juillet 1992 : relative au contrôle de l'utilisation et de la dissémination des OGM.
- Loi n°99-574 d'orientation agricole du 9 juillet 1999
- Arrêté ministériel 4160 P3 du 21 novembre 1969 : interdiction d'importation des pays tiers.
- Arrêté ministériel du 28 juin 1991 modifiant le 4160 : importation des pays membres de la CEE.
- Arrêté ministériel du 13 juillet 1994 : liste des postes frontaliers.
- Arrêté ministériel du 6 juin 1994 : conditions sanitaires d'importations d'animaux vivants des pays tiers.
- Arrêté ministériel du 25 juillet 1994 modifié par arrêté du 22 décembre 1997 : fixe les rêgles sanitaires de la purification et de l'expédition de coquillages vivants.
- Arrêté ministériel du 30 janvier 1997 : conditions de transport des coquillages vivants
- Arrêté ministériel du 28 février 2000 : conditions de transport des coquillages vivants.
- Arrêté préfectoral 271-98 du 12 novembre 1998 de la DRAM de Bretagne : interdiction de réimmersion d'Ormeaux (*Haliotis tuberculata*) récoltés en Ille et Vilaine et Côtes d'Armor.
- Décret 94-340 en Conseil d'Etat du 28 avril 1994 : conditions sanitaires de production et de mise sur le marché des coquillages vivants.
- Décret 99-1064 en Conseil d'Etat du 15 décembre 1999 modifiant le décret 94-340.
- Décret en Conseil d'Etat 95-100 du 26 janvier 1995 : police zoosanitaire des mollusques (importations et mortalités anormales).
- Décret en Conseil d'Etat 98-391 du 19 Mai 1998 : police zoosanitaire des mollusques (mortalités anormales).
- Circulaire DPMCM 2537 du 28 décembre 1992 : modalités d'application de la 91/67.
- Circulaire 689 DPMCM du 25 mars 1993 modifiant la 2537 : transposition de la 91/67, concerne les transferts et les importations
- Circulaire 8003 du 9 juin 1989 de la DGAL/SVHA : répartition des compétences DSV, IFREMER et Affaires Maritimes en matière de contrôle sanitaire et zoosanitaire.
- Note DPMCM 1352 P4 du 3 Mai 1990 : documents de transport dans le cas de transferts ou d'importations
- Note DPMCM 1090 du 24 avril 1984 : dérogations à l'interdiction d'immersion
- Note DPMCM 2742 du 1 août 1996 :transferts zones agrées/non agrées.

• ASPECTS SCIENTIFIQUES

- Almeida, M., Berthe, F., Thébault, A., Dinis, M. T., (1999). Whole clam culture as a quantitative diagnostic procedure of *Perkinsus atlanticus* (Apicomplexa, Perkinsea) in clams *Ruditapes decussatus*. Aquaculture 177, 325-332.
- Auffret, M., Poder, C.(1986), Sarcomatous lesions in the cockle Cerastoderma edule, electron microscopical study. Aquaculture (58), 9-15.
- Azevedo, C. (1989). Fine structure of *Perkinsus atlanticus* n. sp. (Apicomplexa, Perkinsea) parasite of the clam *Ruditapes decussatus* from Portugal. Journal of Parasitology, 75 (4): 627-635.
- Bassem, A., Paillard, C., Howard, A., Le Pennec, M. (2000) Isolation of the pathogen *Vibrio tapetis* and defense parameters in brown ring diseased Manila clams *Ruditapes philippinarum* cultivated in England. Diseases of Aquatic Organisms, 41: 105-113.

- Basuyaux, O., Nicolas, J.L., Thébault, A., Chollet, B., (2000) Vibrio carchariae, a pathogen for abalone Haliotis tuberculata in press.
- Berthe, F., REPAMO rapport d'activité 1997, (1997), rapport IFREMER, 1-27.
 - Berthe, F., Pernas, M., Zerabib, M., Haffner, P., Thébault, A., Figueras, A. J., (1998). Experimental transmission of *Marteilia refringens* with special considerations for its life cycle. Diseases of Aquatic Organisms, 34: 135-144.
 - Berthe F.C.J., F. Le Roux, E. Peyretaillade, P. Peyret, D. Rodriguez, M. Gouy and C.P. Vivarès (1999). The existence of the phylum Paramyxea Desportes and Perkins, 1990 is validated by the phylogenetic analysis of the Marteilia refringens small subunit ribosomal RNA. Submitted to Journal of Eukaryotic Microbiology.
 - Bonami, J.R., Vivares, C.P., Brehein, M. (1985), Etude d'une nouvelle Haplosporidie parasite de l'huître plate *Ostrea edulis*, C.R. Acad. Sc. Paris (295), 45-48.
 - Bower, S.M., Figueras, A.J.(1989). Infectious diseases of mussels, especially pertaining to mussel transplantation. World Aquaculture, Vol 20 (4).
 - Bower, S. M., McGladddery, S. E., Price, I.M. (1994). Synopsis of infectious diseases and parasites of commercially exploited shellfish. (1994). Annual review of Fish Diseases (4), 1-199.
 - Burreson, E.M. 1996. 101 Uses for the small subunit ribosomal RNA gene: Applications to *Haplosporidium nelsoni*. J. Shellfish Res. 15(2): 475
 - Collins C.
 - 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 Université de Montpellier, 1-174.
 - Cochennec N., Le Roux F., Berthe F. and Gerard A. (2000). Detection of *Bonamia ostreae* Based on Small Subunit Ribosomal Probe. Journal of Invertebrate Pathology, 76 (1), 26-32.
- Comps, M. (1970) Observations sur les causes d'une mortalité anormale des huîtres plates (Ostrea edulis L.) dans le bassin de Marennes. I. C. E. S. C. M.1970 / K4.
- Comps, M., Cochennec, N. (1993). A herpes-like virus from the European oyster *Ostrea edulis* L. Journal of Invertebrate Pathology (62), 201-203.
 - Comps, M. Pichot, Y., Deltreil, J.P. (1980), Mise en évidence d'une microsporidie parasite de *Marteilia refringens* agent de la maladie de la glande digestive de *Ostrea edulis*. Rev. Inst. Pêches marit., 43(4), p 409-412.
- Coustau, C; (1991), Analyse génétique et physiologique des interactions hôte parasite : le système *Prosorynchus squamatus-Mytilus*. Thèse de Doctorat. Université de Montpellier 2, 1-137.
- Dufour, B. (1997). Contribution à l'évaluation du fonctionnement des réseaux de surveillance épidémiologiques des maladies infectieuses animales. Thèse de doctorat. Université Paris 12, 1-321.
- Elston, R.A et Moore, J.D. (1992). Disseminated neoplasia of bivalve molluscs. Reviews in aquatic Sciences, 6 (5,6): 405-466.

- Farley, C. A., Banfield, W. G., Kasnic, G., Foster, W. S. (1972) Oyster herpes-type virus. Science 178, 759-760.
- Figueras, A. J., Jardon, C. F., et Caldas, J. R. (1991) Diseases and parasites of rafted mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lmk): preliminary results. Aquaculture 99:17-33.
 - Fleury, P.G., Allenou, J.P., Thébault, A., 1997. Examen des causes de mortalités massives de coques survenues à la mi-août 1997 dans le traict du Croisic (Loire-Atlantique). Rapport d'expertise pour la commission des calamités agricoles de Loire-Atlantique. 1-14.
 - Goulletquer, P, 1989. Etude des facteurs environnementaux intervenant dans la production de la palourde japonaise
 - Grizel, H., Comps, M., Bonami, J.R., Cousserans, F., Duthoit, J. L. and Le Pennec, M. A. (1974) Recherche sur l'agent de la maladie de la glande digestive de *Ostrea edulis* Linne. Science et Pêche, Bul. Inst. Pêches marit (240): 7-30.
 - Grizel, H. (1985) Etude des récentes épizooties de l'huître plate *Ostrea edulis* Linné et de leur impact sur l'ostréiculture Bretonne. Thèse de Doctorat. Académie de Montpellier, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, France.
 - Grizel, H. (1996). Quelques exemples d'introduction et de transfert des mollusques. Rev. Sci. Tech. OIE, 15(2), 401-408.
- Grizel, H. (1996). Les maladies des mollusques bivalves : risques et prévention. Rev. Sci. Tech. OIE, 16(1), 161-171.
 - Herrbach, B. (1971) Sur une affection parasitaire de la glande digestive de l'huître plate, *Ostrea edulis* Linne. Rev. Trav. Inst. Pêches Marit., 35 (1): 79-87.
 - Hine, P. M., (1997). Trends in research on diseases of bivalve molluscs. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists 17(6), 180-183.
- Hine, P. M., Thorne, E.T. (1997). Replication of herpes-like virus in haemocytes of adult flat oysters *Ostrea angasi* (Sowerby, 1871): an ultrastructural study. Diseases of Aquatic Organisms, 29 (3), 197-204.
- Lauckner, G. (1983). Diseases of mollusca: bivalvia. Kinne, O. (ed) Diseases of marine animals, vol. 2, Biologishe Anstalt helgoland, Hambourg, 1-1028.
 - Le Deuff, R.M., Nicolas, J. L., Renault, T., Nicolas, J. L., Cochennec, N. (1994). Experimental transmission of herpes-like virus to axenic larvae of Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists 142(2), 69-71.
- Le Deuff, R. M. (1995). Contribution à l'étude de virus de mollusques marins apparentés aux Iridoviridae et aux Herpèsviridae. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux II, 389, 1-234.
- Le Deuff, R.M., Renault, T., Gerard, A. (1996). Effects of temperature on herpes-like virus detection among hatchery-reared larval Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Disease of Aquatic organisms 24(2), 149-157.

- Le Deuff, R.M., Renault, T. (1999). Purification and partial genome characterisation of a herpes-like virus infecting the Japanese oyster, *Crassostrea gigas*. Journal of General Virology, (80), 1317-1322.
- Le Roux F., C. Audemard, A. Barnaud, F.C.J. Berthe (1999). DNA probes as potential tools for the detection of *Marteilia refringens*. Marine Biotechnology 1 (6): 588-597.
- Le Roux F, Gema L, Peyret, P, Audemard, C, Figueras, A, Vivarès C, Gouy M, Berthe, F (2001). Molecular evidence for the existence of two species of Marteilia in Europe. J Eukaryot. Microbiol, 48(4), 449,454.
- Martin, A. G., Fleury P.G., Tigé, G., Hirata, T., Le Coguic, M.J., Langlade, A., Mazurié, J. (1999). Evolution et estimation des mortalités estivales de naissain d'huître creuse (*Crassostrea gigas*) en baie de Quiberon, de mai à septembre 1998. Rapport IFREMER 1-24.
- Martin, A. G., Tigé, G., Le Coguic, Y., Langlade, A. (1999) Situation zoosanitaire de l'huître plate pour les années 1997 et 1998 zones de Bretagne et Normandie. Rapport IFREMER 1-13
- Martin, A. G., Mazurié, J., Tigé, G., Hirata, T., Kuntz, G., Le Coguic, Y., (1999) Surveillance des maladies et étude des mortalités anormales des coquillages. Synthèse des Résultats 1994-1998. Rapport IFREMER 1-23.
- Martin, A. G., Tigé, G., Hirata, T., Kuntz, G., Le Coguic, Y., (1999)Bilan du REPAMO Cellule de la Trinité sur Mer en 1998.
- Martin, A. G., Thébault, A., Tigé, G, Hirata, T., Le Coguic, Y., Chollet, B., Robert, M. (2000) Bilan du REPAMO Secteurs Nord Loire-1999. Rapport IFREMER 30p.
- Maurer D, Auby I, Masson N, Sautour, B, D'Amico F, Deynu D, Tournaire MP, Trut G, Cantin C, Pellier C, (2001). Etude de la reproduction de l'huître creuse dans le bassin d'Arcachon. Rapport IFREMER, 132 p+ annexes.
 - Mazurié, J., Kuntz, G., Claude, S., Hirata, T., (1999). Prévention des mortalités estivales de naissain d'huîtres creuses. Rapport IFREMER 1-16.
- Mazurié, J., Thébault, A., Le Mao, P., Véron, G. Tigé, G., Richard, O (1999). Les mortalités d'ormeaux (Haliotis tuberculata) en Bretagne nord en 1998.. Rapport IFREMER 1-14.
 - Nishimori E., Hasegawa O., Numata T. And Wakabayashi H. (1998). *Vibrio carchariae* causes mass mortalities in Japanese abalone, *Sulculus diversicolor supratexta*. Fish Pathology 33 (5): 495-502.
 - Nicolas, J. L., Comps, M., Cochennec, N. (1992) (1992). Herpes-like virus infecting Pacific oyster larvae, *Crassostrea gigas*. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists 12(1), 11-13.
- Office International des Epizooties (1997). Manuel de diagnostic des maladies des animaux aquatiques. OIE.1-251.
- Paillard C. 2000. Recensement de la maladie de l'anneau brun chez les palourdes, *Ruditapes philippinarum*. Rapport CNRS.
 - Paillard C et S. Marais. 2000. Les palourdes *Ruditapes philippinarum* dans le Golfe du Morbihan. Analyse de la biocénose et de la granulomètrie du sédiment. Rapport de stage.

- Paillard C. and E. Allee. 2001. Field survey along the French Atlantic Coast (2000-2001). CEE report
- Pellier, C. (1998). Déficit de naissain de 1998. Rapport interne IFREMER 1998. 1-3.
- Pichot, Y., Comps, M., Tige, G., Grizel, H., Raboin, M. A., (1980), *Recherches sur Bonamia ostreae* GEN. N. SP. N., parasite nouveau de l'huître plate *Ostrea edulis L.*, Rev. Trav. Pêches marit., 43(1), p 131-140.
 - Pichot, Y., Comps M., Deltreil, J.P. (1979). Recherches sur Haplosporidium sp (Haplosporida-Haplosporidiidae), parasite de l'huître plate Ostrea edulis L., Rev. Trav. Pêches marit., 43(4), p 405-408.
 - Pichot, Y. (1999) Bilan des examens zoosanitaires réalisés en 1998 en Méditerranée. Rapport IFREMER, 1-23.
 - Pichot, Y. (2000) Bilan des examens zoosanitaires réalisés en 1999 en Méditerranée. Rapport IFREMER, 58p.
 - Pichot, Y.(2001) Bilan des examens zoosanitaires réalisés en 2000 en Méditerranée (2000). Rapport IFREMER, 15p.
 - Renault, T., Le Deuff, R.M., Cochennec, N., Maffart, P. (1994). Herpèsvirus associated with mortalities among Pacific oyster *Crassostrea gigas*, in France: comparative study. Revue de Médecine Vétérinaire 145(10), 735-742.
 - Renault, T., Cochennec, N., Le Deuff, R.M., Chollet, B. (1994). Herpes like virus infecting Japanese oyster (*Crassostrea gigas*) spat. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists 14(2), 64-66.
 - Renault T., Le Deuff M. L., Lipart C. and Delsert C. (2000). Development of a PCR procedure for the detection of a herpes-like virus infecting oysters. J. Virol. Methods, 88, 41-50.
 - Stokes N.A. and Burreson E.M. (1995). A sensitive and specific DNA probe for the oyster pathogen *Haplosporidium nelsoni*. J. Euk. Microbiol., 42 (4), 350–357.
 - Thébault, A., Berthe, F., Michelot, A.(1999) Aspects juridiques concernant la surveillance zoosanitaire des coquillages. Rapport IFREMER, 20 p.
 - A. Thébault, JP. Baud, JC Le Saux, F. Le Roux, B. Chollet, M.J. Le Coguic, P.G. Fleury, F. Berthe, A. Gérard (1999) Compte rendu sur les mortalités de juillet 1999 des moules (*Mytilus edulis*) en poches dans l'Aber Benoît. Rapport IFREMER, 12p.
- Thébault, A. Bulletins des mortalités estivales de coquillages marins 1998. Rapport IFREMER 1998, 1-4.
- Thébault, A. Rapport REPAMO 1998. Rapport IFREMER 1999, 60p.
- Thébault, A., B. Chollet, M. Robert. Rapport régional du repamo 1999 : résultats de la cellule de veille zoosanitaire de La Tremblade dans les régions au sud de la Loire. 2000. Rapport IFREMER 25p.
- Thébault, A. (2001) Epidémiovigilance dans le cas de mortalités anormales de coquillages : exemple des coques du Croisic (2001) Thèse vétérinaire, 142p

- Thébault, A., Robert, M, Renault, T, Dumais, M, Goulletquer P (2001). Impact de l'Erika sur la pathologie des bivalves d'intérêt commercial : résultats préliminaires. Rapport IFREMER, 52 p.
- Thébault A, Berthe F, Audigé L (2001). Certifying the French population of *Crassostrea gigas* free from exotic diseases: a risk analysis approach. Abstracts of OIE Conference-Risk analysis in aquatic animal health, Paris, 2000, 62-69.
- Toma, B., Dufour, B., Sanaa, M., Benet, J. J., Ellis, P., Moutou, F., Louza, A. (1996) Epidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures. AEEMA. 1-551.
- Villalba, A., Mourelle, S.G., Carballal, M.J., Lopez, C., Symbionts and diseases of farmed mussels *Mytilus galloprovincialis* throughout the culture process in the Rias of Galicia (NW Spain). (1997). Diseases of Aquatic organisms (31), 127-139.

ANNEXE 1: TRANSFERTS ENTRE ZONES: HUITRES CREUSES CRASSOSTREA GIGAS

	Zone de remise		Zone de remise à l	
	de l'UE (France	,	(TOM con	
Provenance	Marteilia refringens	agrée Bonamia ostreae Marteilia refringens	Zone indemne de la liste des maladies à déclaration obligatoire selon procédures OIE	indemne selon
Zone agrée Bonamia ostreae / Marteilia refringens de l'UE	avec certificat spécificité et sanitaire (décision 93/55 et 93/169)	certificat sanitaire	certificat OIE, sanitaire, et spécificité	acceptabilité par pays destinataire du certificat OIE, sanitaire, et spécificité
Zone non agrée Bonamia ostreae / Marteilia refringens de l'UE	avec certificat	libre avec certificat		
Zone indemne pays tiers de la liste des maladies à déclaration obligatoire de l'OIE et appartenant à liste décision 95/352	l'instant donc		acceptabilité par pays destinataire du	
Zone indemne pays tiers de la liste des maladies à déclaration obligatoire de l'OIE et n'appartenant pas à liste pays tiers décision 95/352	Impossible*	Impossible*		
Zone non indemne pays tiers selon procédures OIE indemne de la liste des maladies à déclaration obligatoire	Impossible*	Impossible*	·	

^{*} sauf demande de dérogation pour réimmersion auprès des DDAM, et après avis d'IFREMER, dans établissement garantissant l'isolement.

ANNEXE 1: TRANSFERTS HUITRES PLATES

	comprise)		`	Zone de remise à l'eau, pays tiers (TOM compris)
Provenance	Zone agrée de l'UE Bonamia ostreae / Marteilia refringens	d'agrément ayant	Zone non agrée ou infectée Bonamia ostreae / Marteilia refringens	
Zone agrée de l'UE Bonamia ostreae / Marteilia refringens	Certificat 91/67 et sanitaire	Certificat 91/ 67 et sanitaire	Certificat sanitaire	Sous réserve acceptabilité par pays destinataire du certificat OIE, sanitaire, et spécificité
Zone en cours d'agrément ayant fini sa procédure classement indemne Bonamia ostreae / Marteilia refringens	Impossible*	Certificat OIE et sanitaire	Certificat sanitaire	Sous réserve acceptabilité par pays destinataire du certificat OIE, sanitaire, et spécificité
Zone en cours d'agrément n'ayant pas fini sa procédure classement indemne Bonamia ostreae / Marteilia refringens	Impossible*	Impossible*	Certificat sanitaire	Sous réserve acceptabilité par pays destinataire du certificat OIE, sanitaire, et spécificité
Zone non agrée ou infectée Bonamia ostreae / Marteilia refringens	Impossible*	Impossible*	Certificat sanitaire	Sous réserve acceptabilité par pays destinataire du certificat OIE, sanitaire, et spécificité
Zone pays tiers indemne de la liste des maladies à déclaration obligatoire selon procédures OIE	Impossible*	Impossible*	Impossible*	Sous réserve acceptabilité par pays destinataire du certificat OIE, sanitaire, et spécificité
Zone pays tiers non indemne selon procédures OIE	Impossible*	Impossible*	Impossible*	Sous réserve acceptabilité par pays destinataire du certificat OIE, sanitaire, et spécificité

ANNEXE 1: ESPECES DE COQUILLAGES AUTRES QUE CRASSOSTREA GIGAS ET OSTREA EDULIS

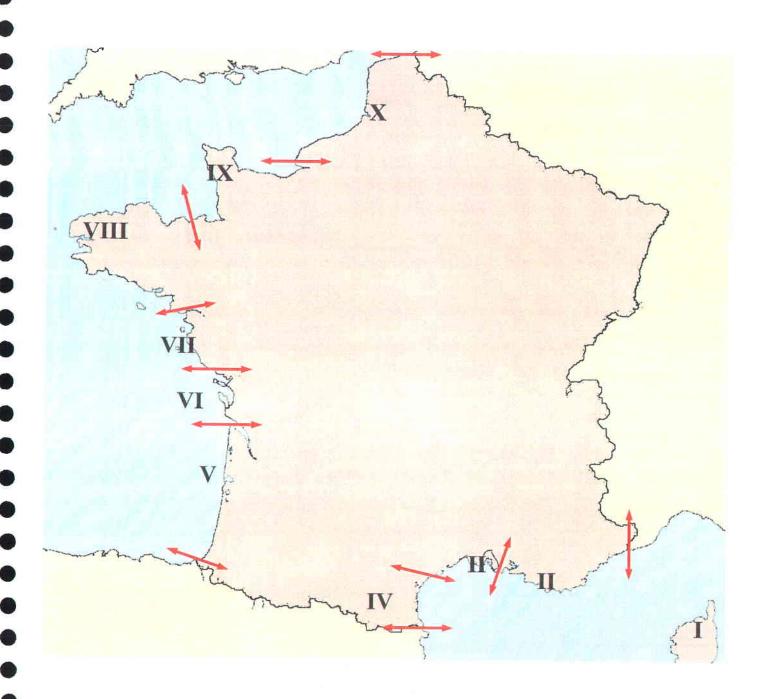
	Remise à l'eau		Dans pays	le l'UE	Dans Pays tiers	
Zone agrée Bonamia ostreae / Marteilia refringens de l'UE ou Zone en cours d'agrément ayant fini sa procédure classement indemne Bonamia ostreae / Marteilia refringens	Zone agrée ou en cours d'agrément Bonamia ostreae	Zone non agrée Bonamia ostreae / Marteilia refringens	Zone agrée ou en cours d'agrément Bonamia	Zone non	Zone indemne de la liste des maladies à déclaration obligatoire selon procédures OIE Sous réserve acceptabilité par	indemne selon procédures OIE Sous réserve acceptabilité par pays destinataire du certificat
Zone en cours d'agrément de l'UE n'ayant pas fini sa procédure classement indemne Bonamia ostreae / Marteilia refringens	Impossible*	Libre, certificat sanitaire	Impossible*	Libre, certificat sanitaire		Sous réserve acceptabilité par pays destinataire du certificat OIE, sanitaire, et spécificité
Zone non agrée de l'UE Bonamia ostreae / Marteilia refringens de l'UE	Impossible*	Libre, certificat sanitaire	Impossible*	Libre, certificat sanitaire	Sous réserve acceptabilité par pays destinataire du certificat OIE, sanitaire, et spécificité	Sous réserve acceptabilité par pays destinataire du certificat OIE, sanitaire, et spécificité
Zone indemne pays tiers de la liste des maladies à déclaration obligatoire de l'OIE et appartenant à liste décision 95/352	Impossible*(ar rêté du 21 novembre 1969)	Impossible* (arrêté du 21 novembre 1969)	Impossible*	Libre, certificat sanitaire	pays destinataire du certificat OIE,	Sous réserve acceptabilité par pays destinataire du certificat OIE, sanitaire, et spécificité
Zone non indemne pays tiers de la liste des maladies à déclaration obligatoire de l'OIE	Impossible*(ar rêté du 21 novembre 1969)	Impossible* *(arrêté du 21 novembre 1969)	Impossible*	Libre, certificat sanitaire	Sous réserve acceptabilité par pays destinataire du certificat OIE, sanitaire, et spécificité	Sous réserve acceptabilité par pays destinataire du certificat OIE, sanitaire, et spécificité

^{*} sauf demande de dérogation pour réimmersion auprès des DDAM, et après avis d'IFREMER, dans établissement garantissant l'isolement.

ANNEXE 1 bis: MALADIES A DECLARATION OBLIGATOIRES D'APRES DONNEES DE L'OIE 1998

maladies		EES DE L'OIE		
malaules	agents	hotes sensibles	hotes porteurs	Pays ayant déclarés la maladie
bonamiose				
	Bonamia ostrea	Ostrea edulis, angasi, denselammelosa puelchana, conchaphila, Tiostrea chilensis	?	Danemark, France, Irlande, Italie, Hollande, Espagne, GB sauf en Ecosse, aux USA en Californie, Maine, et
	<i>Bonamia</i> sp	Tiostrea chilensis, Ostrea angasi	?	Washington. Australie, Nouvelle Zélande.
haplosporidiose				
	Haplosporidium costale	Crassostrea virginica.	?	USA côte Est.
	Haplosporidium nelsoni	Crassostrea virginica, Crassostrea gigas	?	USA, Japon.
	Marteilia refringens	Ostrea edulis, angasi, Tiostrea chilensis, Ostrea puelchana		France, Italie, Maroc, Portugal, Espagne, Grèce
	Marteilia sydneyi	Saccostrea commercialis , Saccostrea echinata (?)	?	Australie
	Mikrocytos mackini	C.gigas, C. virginica, O. edul, Oconchaphila		Côte ouest Canada
	Mikrocytos roughleyi	Sacc commercialis,		Australie ouest, New South Wales
	Perkinsus marinus	C. virginica, C. gigas	?	USA Côte est
		Haliotis ruber, H laevigata, H. cyclobates, H. scalaris	?	Australie

ANNEXE 2 : Les différentes zones du REPAMO



ANNEXE 3 : PRINCIPES DU SUIVI DE BASE DE CRASSOSTREA GIGAS

SUIVI DES LARVES:

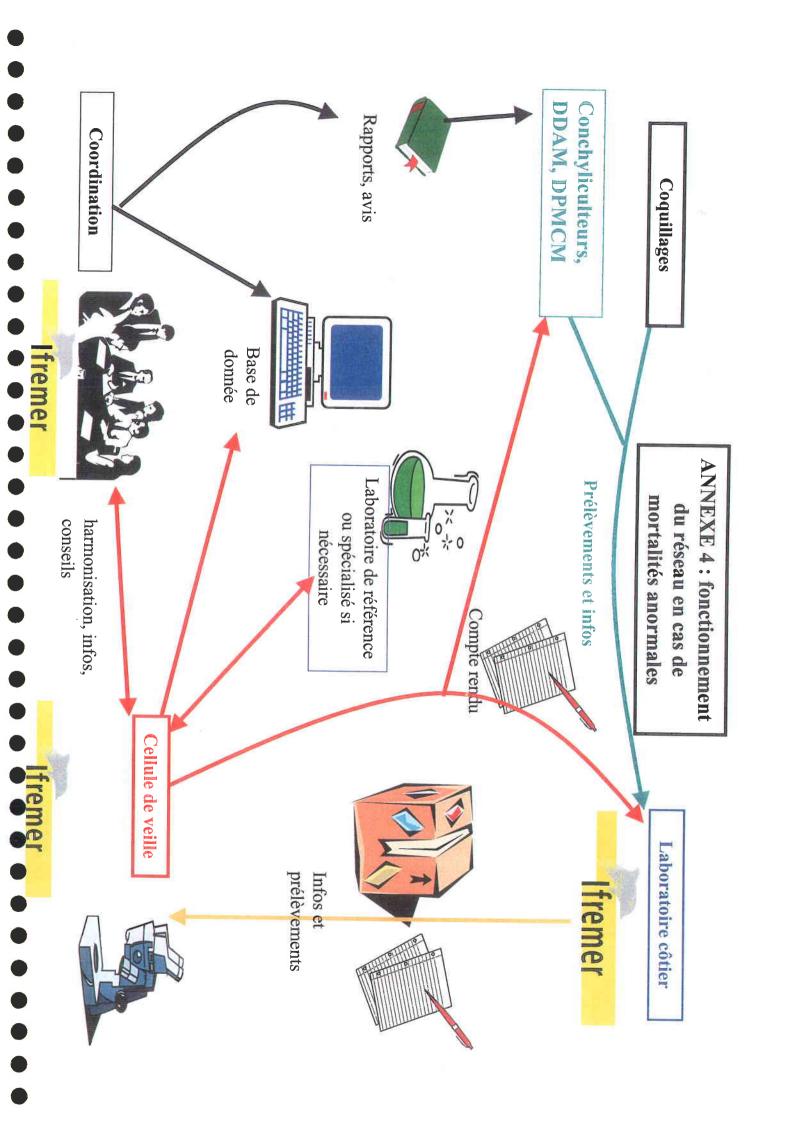
- Sites suivis : Charente et Arcachon sur points représentatifs suivis par la DEL de l'IFREMER,
- Période : juin à août, fréquence hebdomadaire,
- Nombre d'individus examinés fonction de la pêche,
- Méthode d'analyse : état frais, PCR Herpès, microscopie électronique.

SUIVI DU NAISSAIN (8-15 mois)

- Sites suivis: Charente et Arcachon,
- 4 points de suivi en Charente et à Arcachon,
- Période : mai à août, fréquence mensuelle,
- Nombre d'individus examinés : 30 à chaque prélèvement,
- Méthode d'analyse : histologie, PCR Herpès, éventuellement HIS.

SUIVI DES ADULTES (supérieur 15 mois)

- Sites suivis: toutes les zones,
- 2 à 6 points de suivi, avec pour les zones de captage d'huîtres creuses (Charente et Arcachon) au moins un prélèvement d'huîtres sauvages, et pour toutes les zones des huîtres en élevage,
- Période : mai-juin, et suivant possibilités, un deuxième point en octobre-novembre (fréquence semestrielle),
- Nombre d'individus examinés : 30 à chaque prélèvement,
- Objectif d'effort global au niveau national : 60 lots.



ANNEXE 5 : SITUATION GEOGRAPHIQUE DES LABORATOIRES COTIERS (bleu) ET DES CELLULES DE VEILLE (jaune) DU REPAMO Cellule de veille de la Trinité McCellule de veille de La Tremblade, Animation et Laboratoire de référence Cellule de veille de

ANNEXE 6 : Questionnaires sur les MORTALITES COQUILLAGES

N°REPAMO

1.	IDENTIFIC	ATION PRELEVEMENT ET PRELEVEUR							
•	Questionnaire	rempli par :							
•	le: /	/							
•	motivation de	a visite du site: suivi REPAMO □, expertise mortalité anormale □, autre							
•	origine information : SRC □, Affaires Maritimes □, tél éleveur/pêcheur □,								
	contact direct éleveur/pêcheur □ autre (préciser) :								
•	date du prélève	ement: / /							
A	Nom du concessi Adresse : uuméro de télépl	onnaire ou pêcheur :							
•	localisation :	Site:							
		N° Zone CEE : Lieu-dit ou Etablissement :							
		N° de concession : Longitude : Latitude :							
		N° de prise d'eau (si claire) :							
•	coefficient de d	écouvrement : ou profondeur (0 des cartes) :							
	profondeur sou	ıs surface (si fouisseur) en cm							
•	mode de prélèv	rement : main □ drague □ plongée □ autre □							
•	étendue de la s	urface de prélèvement (si gisement) - longueur largeur							
•		différents si nécessaire et critères de différences : e mêmes origine, taille, conditions d'élevage, placés en même temps au même endroit)							
2.	CARACTER	ISTIQUES DU LOT							
•	ESPECE PRÉ								
•	Quantité préle	vée en nombre d'individus :							
•	choix du lot : au	n hasard □, parmi les moribonds □, autre :							
•	âge	taille moyenne (cm)							
•		nt mortalités : non observée □, normale □, plus faible□, plus forte□ (que la ence □ ou absence de pousse récente □ " présence importante boudeuses" □							

	s associés à la mortalité: perforations préciser :			
maturité - produits se	xuels: peu ou absents □ abond	ants 🛭 a	pondu 🗆	
Transferts : quels son	t les transferts connus du lot ?			
date	site	supp	ort/technique	dec/pro
Captage * :				
Transfert 1:				
Transfert 2:				
Transfert 3:				
* fournisseur (confidentiel):	·	date	détroquage :	
. DESCRIPTION DI	ES MORTALITES :			
Γ			unité de comptage	
taux estimé en %	<u>détail compta</u>	ges:	nbre de comptages résultats :	
ou/et taux évalué par				
Tonnage des pertes/ to	onnage concerné sur la concessi	on, claire	e ou gisement:	
date début des mortal	ités observées :			
tailles concernées : pet	ites (<1an) □ moyennes (<3ans)	□ grosse	es □ (>3ans)	
mortalités : en taches [☐, concentriques ☐, d'emblée un	iformes e	t générales□	
déroulement : brutale	\square , progressive \square , par à coups \square			
y a t'il d'autre lots tou	chés sur la concession/table/cla	ire (faire រ	une fiche par lot) oui 🗖, n	ion □,
autres espèces conceri	nées par mortalités :			
y a t'il d'autres conces	ssions/tables voisines, oui	, non□,	,	
ou claires en av	al, sur même prise d'eau oui [], non□	1 ,	
des mortalités y sont e	lles constatées oui □, non □,	ne sait	pas 🗆	
ce lot est-il présent su	d'autres sites oui □, non□	nos de r	nortalité □ mortalité i	dontique 🗖
• si oui, commen	t cela se passe sur ces sites ? :	~	ble plus forte	uentique 🗀
autres lots à mortalité	ailleurs □ où ?			
étendue du secteur à r	nortalités :			
mortalités les années a	intérieures à la même période :	_	mortalité ☐ mortalité aible ☐ plus forte ☐	identique 🏻

4. CARACTERISTIQUES DE LA ZOOTECHNIE

Cas 1 : Elevage naissain ou adultes sur estran ou en eau profonde

date mise en élevage sur site touché : mode élevage :
conditions transport : mode transport
charge en nbre de poches□ tubes□ pieux □ tonnes □ par ha
ou en nbre de perches □ carrés □ chargés :
charge par : poche □ tube□ corde□ pieu □ m²□ ha □ : en poids en nbre d'individus
dernière manipulation avant mortalités : type
changement zootechnique cette année □ ou / aux autres parcs □ lequel
Cas 2 : Claires ou bassins
date de mise en claire (bassin) du lot :
conditions de transport : mode transport durée T°
date dernière mise en eau :
type de bassin : insubmersible □ submersible □ autre □
modalités de nettoyage de la claire (bassin)
modalités de renouvellement de l'eau - périodicité quantité
nature du sol : sable □ sable-vase □ vase □ gravier □ ciment □ autre
charge dans la claire (bassin) en indiv./m ² manne/ m ² ou kg/ m ²
changement zootechnique - cette année □ ou / aux autres claires □ lequel □
Cas 3 : Gisement classé □ ou non □
étendue du gisement : longueur largeur surface
densité de l'espèce sur site forte □ moyenne □ faible □
en indiv./m ² : en temps de pêche :
nature du sol : sableux □ sablovaseux □ vaseux □ rocheux □ maerl □ indéterminé □

5. FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX DIRECTEMENT OBSERVABLES changement environnemental précédant mortalités: envasement □ macro algues □ bloom phyto □ coloration □ prédateurs □, dessalure□ anoxie □ source de pollution proche éventuelle oui □ non□ autre observation D précisez ci-dessous : 6. FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX (à remplir par labo côtier IFREMER) classement sanitaire de la zone : A \square , B \square , C \square , D \square données météo: station météo origine de ces données T° Date Pluvio Ensol Vent autres analyses Paramètres labo Station Date Résultats dinoflagellés toxiques sonde t°/S‰ analyses biochimiques: saturation en oxygène autres observations conclusions et suite à donner

ANNEXE 7 : Renseignements utiles à l'investigation épidémiologique des mortalités anormales

ACTION DDAM

- Liste, adresse et téléphones des professionnels du ou des secteurs concernés par les mortalités en relation avec la carte cadastrale,
- Carte cadastrale du secteur à mortalités,
- Type de production de coquillages du secteur
- Tonnage
- Evaluation des pertes, répartition géographique des mortalités
- Informations sur les transferts via , éventuellement, les cahiers d'élevages des professionnels ayant des lots à mortalités
- Evolution du nombre de déclarations dans l'espace et le temps.

ANNEXE 8: LES METHODES D'ANALYSE DU REPAMO

Classement en zone indemne de *Bonamia ostreae et de Marteilia refringens* sur l'huître plate :

• Histologie classique (hémalun –éosine)

Suivi de *Bonamia ostreae et de Marteilia refringens* sur l'huître plate en zone infectée :

- Histologie classique
- frottis

Mortalités anormales :

- Histologie classique (technique de référence)
- Suivant espèces et situation :
 - Hybridation in situ
 - Microscopie électronique
 - PCR
 - Bactériologie
 - Etat frais, frottis, macroscopie, thioglycollate,

Suivi de base

Principales:

- Histologie classique
- PCR

Si études particulières :

- Hybridation in situ
- Microscopie électronique
- Bactériologie
- Etat frais, frottis, macroscopie, thioglycollate

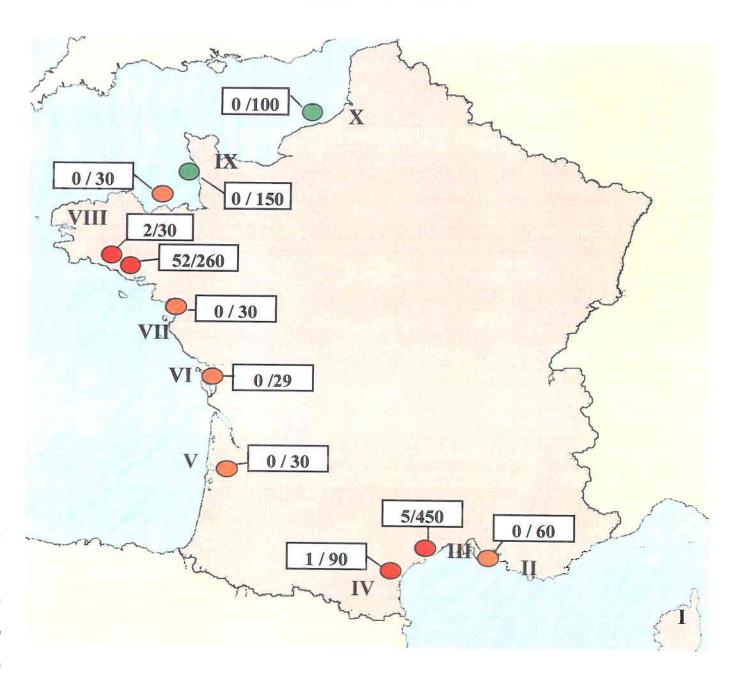
Contrôle aux transferts

• Histologie classique

Suivant situation:

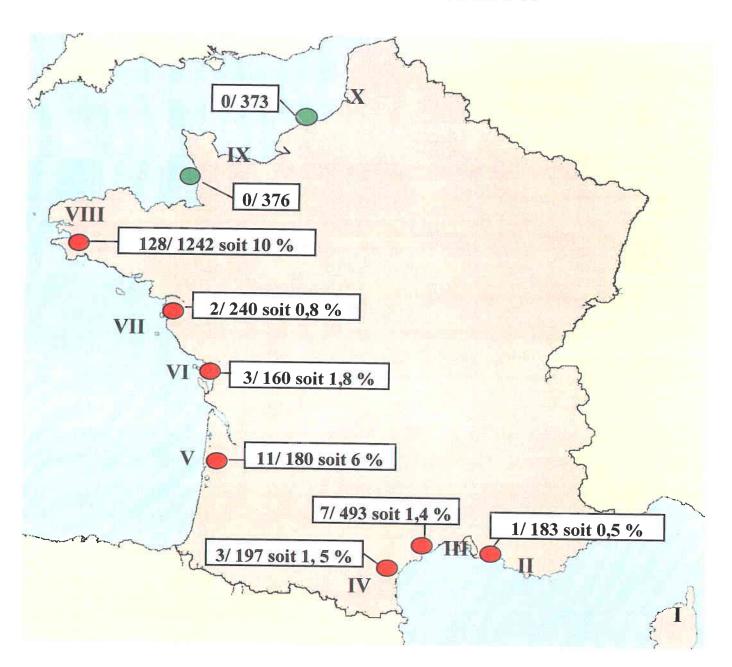
- Hybridation in situ
- Microscopie électronique
- PCR

ANNEXE 9 : Principaux résultats des analyses de *Bonamia ostreae* sur des adultes *Ostrea edulis* en 2000.



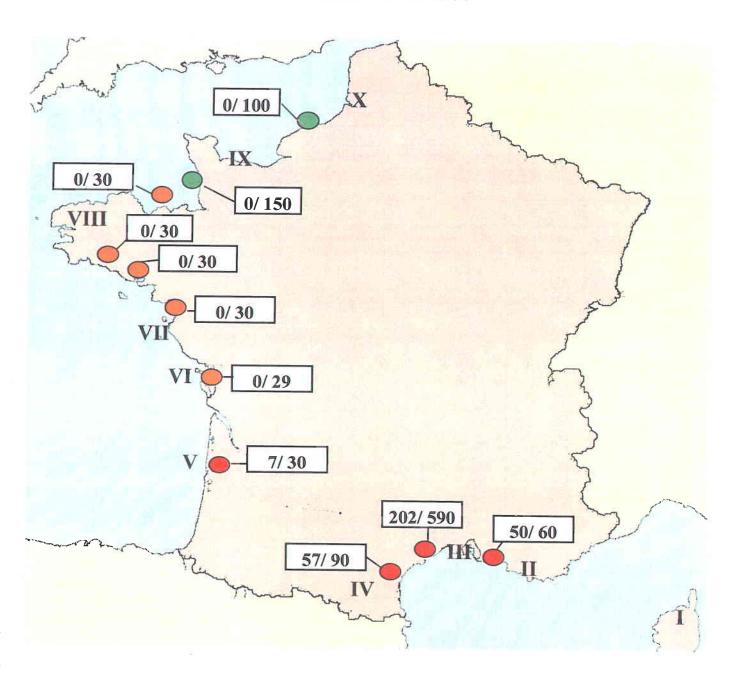
- zone contaminée et trouvée positive.
- zone contaminée et échantillon insuffisant.
- echantillon dans zone en cours de classement indemne
 - I zone
- 3 / 30 nombre d'individus positifs / nombre d'individus analysés

ANNEXE 10 :Principaux résultats des analyses de *Bonamia ostreae* sur des adultes *Ostrea edulis* entre 1998 et 2000.



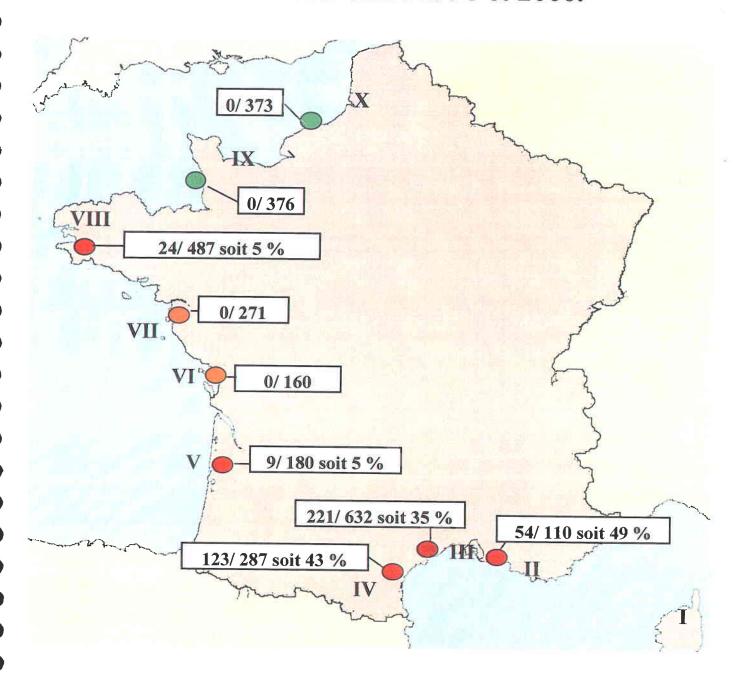
- zone contaminée et trouvée positive.
- zone contaminée et échantillon insuffisant.
- echantillon dans zone en cours de classement indemne
 - I zone
- 3 / 30 nombre d'individus positifs / nombre d'individus analysés

ANNEXE 11 : Principaux résultats des analyses de *Marteilia refringens* sur des adultes *Ostrea edulis* en 2000.



- zone contaminée et trouvée positive.
- zone contaminée et échantillon insuffisant.
- echantillon dans zone en cours de classement indemne
 - I zone
- 3 / 30 nombre d'individus positifs / nombre d'individus analysés

ANNEXE 12 : Principaux résultats des analyses de *Marteilia refringens* sur des adultes *Ostrea edulis* entre 1998 et 2000.



- zone contaminée et trouvée positive.
- zone contaminée et échantillon insuffisant.
- echantillon dans zone en cours de classement indemne
 - I zone
- 3 / 30 nombre d'individus positifs / nombre d'individus analysés