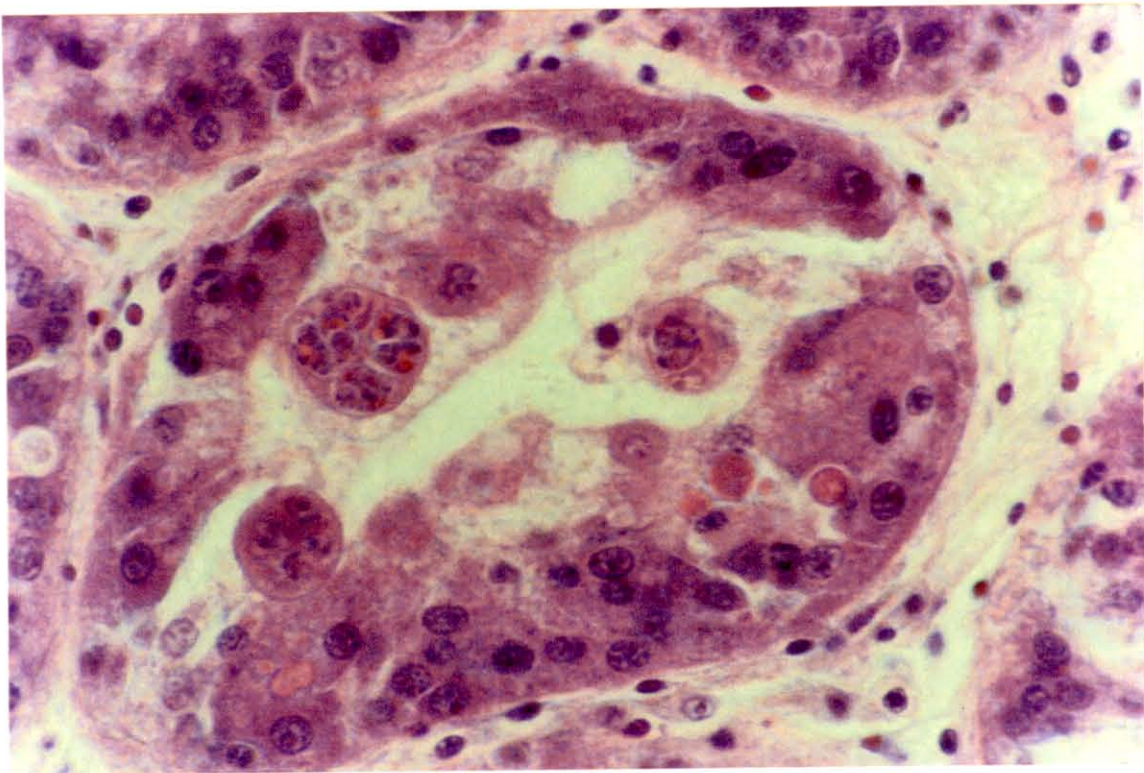


64954
E320.THE.B
CLR1203

BILAN 1999 DU RESEAU REPAMO

IFREMER
BIBLIOTHEQUE
LA TREMBLADE

RESEAU NATIONAL DE SURVEILLANCE ZOOSANITAIRE DES MOLLUSQUES MARINS



Laboratoire Génétique et Pathologie
BP 133, 17390 La Tremblade
Tél : 05 46 36 98 36
Fax : 05 46 36 17 51

**Ifremer**

**BILAN 1999 DU REPAMO
RESEAU DE SURVEILLANCE ZOOSANITAIRE
DES MOLLUSQUES MARINS**

**Rédaction : A. Thébault, coordinatrice du réseau REPAMO
Laboratoire Génétique et Pathologie, BP 133
17390 La Tremblade**

Remerciements :

- * à A.G Martin, Y. Le Coguic, T. Hirata, G. Tigé, Y. Pichot, B. Chollet, animant les différents cellules de veille.**
 - * aux responsables des laboratoires côtiers RA, DEL, RH, et aux agents IFREMER nous fournissant les prélèvements et les informations nécessaires aux activités du REPAMO.**
 - * à H. Grizel et à F. Berthe, anciens responsables du réseau pour leurs conseils éclairés.**
 - * aux pathologistes de la Tremblade, notamment N. Cochenec, T. Renault et F. Le. Roux.**
 - * à A. Gérard, chef du Laboratoire de Génétique et Pathologie de Ronce Les bains.**
 - * aux responsables des réseaux de l'IFREMER pour la communication de leurs rapports et de leurs informations.**
-
- * à la Direction des Pêches Maritimes et des Cultures Marines (DPMCM), ainsi qu'aux différentes Directions Départementales des Affaires Maritimes, pour leur active collaboration.**
-
- * aux professionnels de la conchyliculture et au Comité National de la Conchyliculture, dont l'aide et le soutien indispensables contribuent à la qualité de notre action.**
-
- * en hommage à Francis Delaporte, pour son travail sur la base de données du réseau.**

PLAN DU RAPPORT

INTRODUCTION	1
PARTIE 1 : RAPPELS SUR LES OBJECTIFS ET LE FONCTIONNEMENT DU RESEAU	2
1.1. CADRE LEGAL	2
1.2. OBJECTIFS	2
1.3. ZONAGE ET ECHANTILLONNAGE	2
1.3.1. PRINCIPES DU PLAN DE ZONAGE	2
1.3.2. ECHANTILLONNAGE	3
1.4. FONCTIONNEMENT DU RESEAU	5
1.4.1. MODE DE COLLECTE DES DONNÉES	5
1.4.2. DESCRIPTION DU FONCTIONNEMENT	5
1.4.3. ACTEURS DU REPAMO	6
1.4.4. OUTILS UTILISÉS	7
1.4.5. CONTRÔLE DE LA QUALITÉ DES TECHNIQUES D'ANALYSE	9
1.5. RECUEIL DES DONNEES ET DIFFUSION DE L'INFORMATION	10
PARTIE 2 : RESULTATS DES ANALYSES DU REPAMO	12
2. 1. EFFORT D'ANALYSE GLOBAL	12
2. 2. EPIDEMIOSURVEILLANCE	14
2.2.1. SUIVI DE <i>BONAMIA OSTREAE</i> ET <i>MARTEILIA REFRINGENS</i> .	14
2.2.2. SUIVI DU VIRUS DE TYPE HERPÈS	21
2.3. EPIDEMIOVIGILANCE	24
2.3.1. SUIVI DE BASE DES GISEMENTS NATURELS DE MOLLUSQUES MARINS	24
2.3.1.1. Suivi de <i>Crassostrea gigas</i> sauvages	24
2.3.1.2. Suivi de <i>Mytilus edulis</i> et <i>galloprovincialis</i>	26
2.3.1.3. Suivi de <i>Ostrea edulis</i>	27
2.3.1.4. Suivi de <i>Ruditapes decussatus</i> et <i>philippinarum</i>	27
2.3.1.5. Suivi de <i>Cerastoderma edule</i>	30
2.3.1.6. Suivi de <i>Pecten maximus</i> et autres espèces	31
2.3.2. SUIVI D'ÉLEVAGES EN L'ABSENCE DE MORTALITÉS	33
2.3.2.2. Suivi de <i>Crassostrea gigas</i> et <i>Ostrea edulis</i>	33
2.3.2.3. Suivi de <i>Mytilus edulis</i> et <i>galloprovincialis</i>	36
2.3.3. ETUDE DES CAS DE MORTALITÉS ANORMALES	38
2.3.3.1. Evolution et répartition du nombre de déclarations de mortalités anormales sur <i>Crassostrea gigas</i> en France	38
2.3.3.2. événements marquants en 1999 par secteurs	39
2.3.3.3. mortalités signalées sur <i>Crassostrea gigas</i>	42
2.3.3.4. mortalités d'ormeaux <i>Haliotis tuberculata</i>	47
2.3.3.5. mortalités signalées sur d'autres espèces	47
2.3.4. CONTRÔLE DES ANIMAUX DE PAYS TIERS OU DE LA CEE	53
2.4. ACTION DE SOUTIEN AUX PROGRAMMES DE RECHERCHE IFREMER	54
2.5. REPARTITION DES AGENTS PAR ESPÈCES DE COQUILLAGES OBSERVÉES EN 1999	55
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	57
TABLE DES ANNEXES ET PHOTOGRAPHIES	58
BIBLIOGRAPHIE JURIDIQUE ET SCIENTIFIQUE	59

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 créé à la fin des années 80, en réponse à cette situation. La première Directive Européenne concernant les aspects zoonitaires des mollusques d'élevage date de 1991.

La protection de l'élevage et des gisements de mollusques vis à vis de nouvelles épizooties tient compte essentiellement des caractéristiques du milieu, du mode d'élevage (Grizel, 1996) des animaux, comme le détaille l'annexe 1.

Il faut aussi remarquer que 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 zoonitaire 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.

Les principaux efforts en 1999 ont porté sur l'épidémiovigilance et l'amélioration des suivis.

ANNEXE NUMERO 1 : CARACTERES PARTICULIERS DU SUIVI ZOOSANITAIRE DES MOLLUSQUES MARINS

Caractéristiques des animaux

- *absence de mémoire immunitaire (pas d'anticorps).
- *absence de lignées cellulaires disponibles.
- *nutrition par filtration.
- *poikilothermie.
- *identification et traçabilité difficile.
- *peu de symptômes visibles avant les mortalités.
- *absence de mobilité après la phase larvaire.

Caractéristiques du milieu et de l'élevage

- *élevage en milieu ouvert.
- *élevage en milieu estuarien, milieu qui est fluctuant, par définition, et exposé à des facteurs anthropiques.
- *accès limité aux animaux.
- *absence de possibilité de régulation sur la nutrition, sur la reproduction, et absence de possibilités de traitement médicamenteux.
- *grandes densités d'animaux dans certaines zones.
- *des transferts fréquents et importants entre régions.
- *des échanges avec d'autres pays de la CEE.
- *des pratiques d'élevages très différentes d'un professionnel à l'autre.
- *une ou deux espèces assurent l'essentiel de la production française en conchyliculture.
- *le naissain de *C. gigas* est originaire de deux régions seulement et de quelques écloséries qui fournissent toutes les zones d'élevage.
- *des espèces proches ou des individus « sauvages » à côté ou au sein des élevages de mollusques.

Les agents pathogènes

- *des agents de maladies graves exotiques pouvant entraîner des mortalités massives sur des espèces cultivées en France.
- *des connaissances encore parcellaires sur certains agents, en matière de taxonomie, de portage par d'autres espèces, de cycle parasitaire.
- *d'un autre côté de nombreux agents sont observés sans mortalité associée, de façon évidente.
- *les mortalités peuvent être plurifactorielles ce qui rend difficile la mise en évidence du lien agent-mortalités.
- *un diagnostic rendu plus difficile du fait de l'absence de lignées cellulaires disponibles.

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.

Quelques modifications sont intervenues récemment. En 1999 l'article 97 de la loi n°99-574 d'orientation agricole du 9 juillet 1999 prévoit la mise en place d'un registre d'élevage où seront portés des informations sanitaires, médicales et zootechniques, et qui concerne aussi l'élevage des mollusques. Malheureusement l'arrêté d'application de cette loi n'a pas encore été adopté. Le décret n°99-1064 du 15 décembre 1999 et l'arrêté du 28 février 2000 concerne les conditions de transport et le registre d'élevage. Les renseignements sont plus précis que précédemment, dans le cas de transferts ou de transport entre établissements. Par contre dans le cas d'une mobilité à l'intérieur de la même entreprise, une autorisation permanente suffit. La durée de conservation des bons est portée au minimum à 12 mois. Une copie de ces bons doit être conservée dans l'exploitation. Si ces bons servent dans un cadre zoosanitaires, ils devront être conservés pendant une durée minimale de quatre ans.

1.2. OBJECTIFS DU RESEAU

- Suivi de l'évolution des maladies à déclaration obligatoire et réalisation des analyses permettant de classer les zones : Bonamiose et Marteiliose.
- Surveillance de base des populations élevées et sauvages des mollusques bivalves.
- Etude des cas de mortalités anormales.
- Contrôle des échanges intra-européens ou avec des pays tiers.

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.

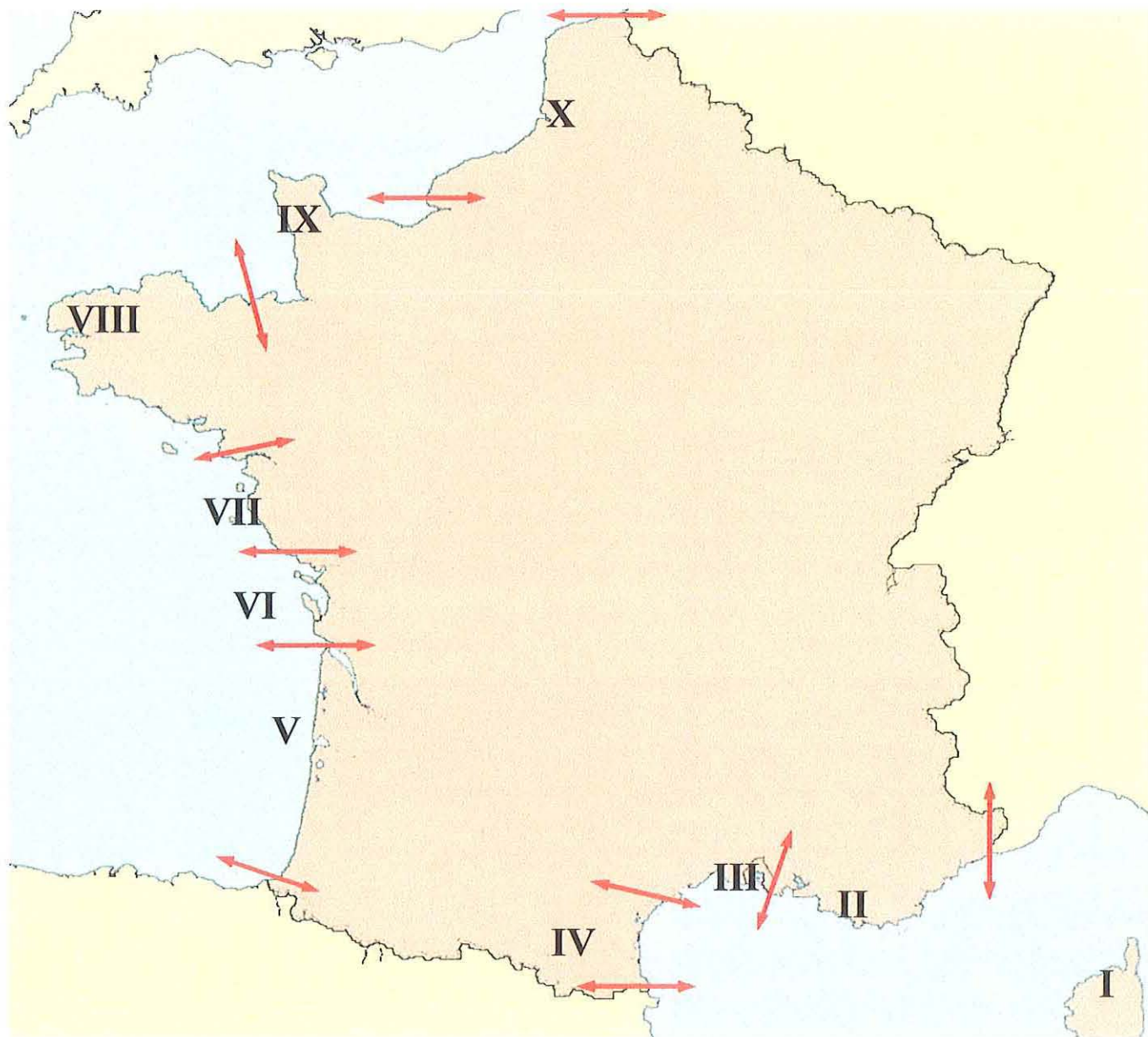
	Huîtres creuses élevées (source CNC 98 en tonnes)	Huîtres plates(source CNC 98 en tonnes)	Moules(source CNC 98 en tonnes)	Nb de concessions ostréicoles(sourc e DDAMCM 1999)
Zone1, 2, 3, 4	10 000 T		7 000 T	2152
Zone 5	8 000 T			4478
Zone 6	30 000 T		2 000 T	27250
Zone 7	20 000 T		9 000 T(Ré inclus)	7218
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

ANNEXE 2 : Les différentes zones du REPAMO



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, 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.
 - Objectif 1 : classement de zones : 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.
- Dans le cas de l'objectif 3 une évolution importante a été apportée au suivi de *Crassostrea gigas* :
 - Le suivi des trois classes d'âge, larves, naissain et adultes a été mis en place en 1999 dans les zones de captage.
 - Un suivi systématique de la production sauvage et en élevage a été mis en place en 1999 dans les zones 5, 6 et 7. Ce suivi sera étendu aux autres zones en 2000.

1.4. FONCTIONNEMENT DU RESEAU

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
<ul style="list-style-type: none">• Classement de zones.• Suivi de l'évolution des maladies à déclaration obligatoire.• Suivi de base des mollusques.• Suivi des mortalités anormales estivales.	<ul style="list-style-type: none">• Déclaration des cas de mortalité anormale.• Déclaration d'importations et d'exportations.

1.4.2. Description du fonctionnement et sensibilisation des acteurs

L'annexe 3 rappelle le fonctionnement du réseau.

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 1999 :
 - 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.
 - Présentation du Repamo à la SRC et à la DDAM d'Arcachon par l'animatrice du réseau, A. Thébault en novembre 1999.
 - Participation aux congrès et aux manifestations des professionnels.

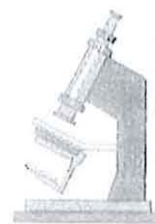
ANNEXE 3 : le fonctionnement du REPAMO

INFOS ET PRELEVEMENTS:

labos côtiers, DPMCM
professionnels

ANALYSES:

3 CELLULES DE VEILLE



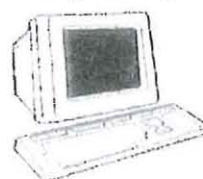
COMPTE RENDUS
INFORMATION ET SAISIE



ESSAIS INTERLABO
FORUM ELECTRONIQUE
REUNIONS
INFORMATIONS

COORDINATION

PRODUCTIONS



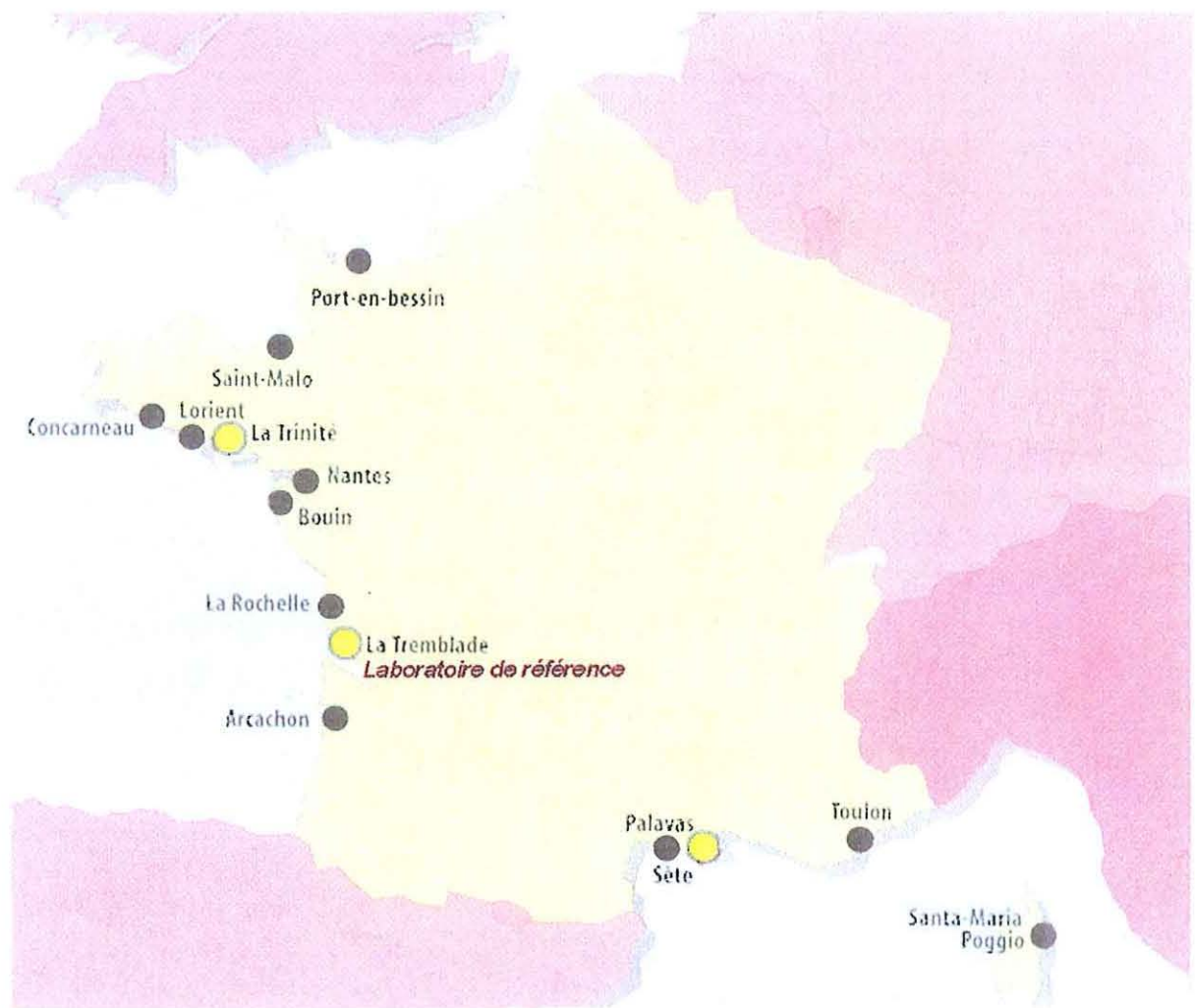
INFO SUR EPISODES MORTANO
BASE DE DONNEES SOUS ACCESS
AVIS TECHNIQUES (DPMCM, PREFET)
BILAN ZOOSANITAIRE NATIONAL

- Article de vulgarisation du repamo dans le journal « Le Marin » (numéro 2693, du vendredi 19 février 1999).
- Participation à plusieurs réunions avec le CNC, la DGAL et la DPMCM sur les aspects zoosanitaires au cours du premier semestre 1999.
- 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.
- En cas de mortalités catastrophiques étendues, la constatation des mortalités anormales par la DDAM est une première étape pour la reconnaissance d'une procédure de calamité agricole, permettant une indemnisation modérée des pertes subies.

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

ANNEXE 4 : les laboratoires IFREMER participant au REPAMO



- Cellules de veille ou laboratoire d'analyses
- Laboratoires côtiers

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 l'annexe 4.

1.4.4. Outils utilisés

1.4.4.1. Questionnaires et commémoratifs

Les modèles de questionnaires sont disponibles auprès des cellules de veille. Ces questionnaires sont particulièrement détaillés en cas de mortalité anormale. Un minimum commun a été retenu entre les 3 cellules, permettant une saisie sur une base de données informatisée.

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 au-delà 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. L'annexe 5 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

ANNEXE 5 : les méthodes d'analyse du REPAMO

CLASSEMENT DE ZONES VIS A VIS *BONAMIA* ET *MARTEILIA* :

- HISTOLOGIE CLASSIQUE (HEMALUN EOSINE).

SUIVI DE *BONAMIA* ET *MARTEILIA* :

- HISTOLOGIE CLASSIQUE.
- FROTTIS.

SUIVI DE BASE :

- HISTOLOGIE CLASSIQUE.
- FROTTIS.
- ETAT FRAIS.(Trématodes)
- MACROSCOPIE.
- THIOGLYCOLLATE.(*Perkinsus*).
- PCR (*virus type Herpès*)
- BACTERIOLOGIE.
- MICROSCOPIE ELECTRONIQUE.
- HYBRIDATION IN SITU

MORTALITES ANORMALES

- HISTOLOGIE CLASSIQUE(technique référence).
- MICROSCOPIE ELECTRONIQUE
 - PCR (*virus type Herpès sur naissain huîtres ou larves d'éclosion*).
 - BACTERIOLOGIE.
 - HYBRIDATION IN SITU.
 - FROTTIS.
 - ETAT FRAIS.(Trématodes)
 - MACROSCOPIE.
 - THIOGLYCOLLATE.(*Perkinsus*).

CONTROLE AUX TRANSFERTS

- HISTOLOGIE.
- MICROSCOPIE ELECTRONIQUE.
- HYBRIDATION IN SITU.

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'hémalum-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 herpes 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 ».** 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 1999 mais n'est pas encore

utilisée en routine, en effet la validation de cet outil est en cours et seules les sondes nucléiques de quelques parasites sont actuellement disponibles.

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

Très peu de techniques sont actuellement complètement validées, au sens épidémiologique, du fait de leur mise au point récente, ou du fait de l'absence de techniques de comparaison, mais cela n'empêche pas de rechercher une intercalibration entre les cellules d'analyse sur les techniques les plus utilisées ou les plus importantes :

en histologie : un seul essai interlaboratoire a pu être organisé entre la cellule de veille de La Tremblade et de Palavas. Cet essai portait sur la détection de *Bonamia ostreae* et *Marteilia refringens* sur *Ostrea edulis*. Cet essai avait d'abord été effectué par les laboratoires nationaux de référence européens. Sur 30 lames, seul un cas de très faible infestation par *Marteilia refringens* n'a pas été détecté. La concordance est donc très élevée entre ces deux cellules. La cellule de la Tremblade sert de référence en Europe, et à l'exception d'un seul laboratoire national de référence, celui de Weymouth, la concordance entre les deux cellules est meilleure que celle obtenue avec les autres laboratoires nationaux de référence.

- **en PCR : essais interlaboratoires** 1999 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

Les objectifs des essais interlaboratoires 1999 étaient le suivant :

- Valider les résultats obtenus au cours de l'année 1999, avec les amorces OHV3-OHV114, pour deux 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 deux 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 15 surnageants déclarés positifs, ont été centralisés à la Tremblade. Les échantillons ont été randomisés (essai en aveugle), divisés en deux lots et renvoyés aux deux cellules d'analyse de Palavas et de la Tremblade.
 - Résultats : la reproductibilité entre les cellules de veille n'est pas très bonne on trouve un κ de 0,558, et un X² de Mac Nemar significatif. En effet 8 surnageants /15 n'ont pas été retrouvés positifs par l'une des cellules de veille, tandis que l'autre a bien

retrouvé 15 surnageants positifs. Dans la mesure où une première manipulation n'avait donné quasiment aucun positif pour cette cellule, un problème technique est en cause. Il s'agit à priori d'un problème de réactifs, ou de transport des échantillons.

- **Conclusion**

Ces essais sont encourageants en raison de l'absence de contaminations détectées. L'utilisation des amorces OHV3-OHV114 pour la détection d'ADN viral a été mise en place sans problème particulier en 1999.

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 (F. Delaporte et A.G. Martin). Son accès est strictement limité aux personnes habilitées à la consulter. Le contrôle des données déjà saisies est en cours. Des sorties sous EXCELL sont possibles et un certain nombre d'exploitations sont automatisées.

- **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 dans le cas de mortalité anormale d'une certaine ampleur. Cette année par exemple les résultats des analyses de pathologie réalisées sur les ormeaux, ont été adressés au préfet, via les DDAMCM.
- La liste électronique a été créée 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 60 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 :
 - 4 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. Ce bulletin permet d'apprécier la situation zoosanitaire au cours de l'été dans les différents bassins/zones de production.
- Le bilan annuel du repamo 1998 a été diffusé auprès du CNC et de la DPMCM.

2/ RESULTATS DES ANALYSES DU REPAMO EN 1999

2.1/ EFFORT D'ANALYSE GLOBAL REALISE EN 1999

- Effort d'analyse global en fonction des zones

Zone	Histologie		Frottis		PCR		TOTAL	
	Nb lots	Nb ind	Nb lots	Nb ind	Nb lots	Nb ind	Nb lots	Nb ind
10	1	190					1	150
9	9	345	4	120	6	140	19	605
8	49	1032	24	996	32	931	105	2959
7	14	316					14	316
6	36	1136			77	2326	113	3462
5	22	637			23	672	45	1309
4	7	174	9	383	9	245	25	802
3	12	270	46	881	7	210	65	1361
2	1	30					1	30
1	2	60	1	15			3	75
Total 1996		2763		3362		3715		9840
Total 1997		3776		4081		4665		12522
Total 1998	216	4717	72	2395	307	9061	595	16173
Total 1999	153	4220	84	2385	154	4524	391	11129

L'effort d'analyse a largement diminué en 1999 : ceci est principalement lié à la diminution du nombre de PCR, utilisée dans un nombre de cas plus restreint et d'autre part à la réorganisation de la cellule de veille de la Trinité. La partie histologie, qui correspond aux analyses obligatoires est resté relativement constant, malgré la mise en place d'un suivi de base plus conséquent.

- **effort d'analyse en fonction des objectifs**

motif	Nombre d'animaux analysés	% du total en 1999	Nombre total en 98
Suivi huîtres plates	2652	21	1872
Suivi gisements	1414	11	1224
Suivi élevages	3652	29	11 372
Mortalités anormales importation	2456	19.5	1240
Lots étrangers	30	0.2	2
Essai génétique	35	0.2	415
Privé	1733	13.8	2856
	215+646=661	5.3	180
Total	12 633	100	19 161

L'effort d'analyse est cohérent avec l'importance des objectifs, le nombre de déclarations pour mortalités anormales a augmenté. Les fortes diminutions sont dues à un effort diminué dans le cadre du suivi des élevages en période estivale. En effet en 1998, plusieurs études assez lourdes essayaient de suivre la prévalence du virus herpès, qui ont pu être allégées en 1999. La participation des cellules de veille aux activités autres que celles du réseau ont un peu diminué, du fait de la réorganisation des moyens humains.

Il est normal de ne pas trouver les mêmes totaux entre les deux tableaux précédents, car les essais génétiques n'ont pas été reportés dans le premier tableau. La charge des essais interlaboratoires n'a pas non plus été comptabilisée.

- **Effort d'analyse en fonction des espèces**

espèce	Nombre d'animaux analysés	% du total
<i>Crassostrea gigas</i>	5039	49.6
<i>Ostrea edulis</i>	2652	26
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	80	7.8
<i>Mytilus edulis</i>	732	7
<i>Cerastoderma edule</i>	549	5.4
<i>Ruditapes decussatus</i>	156	1.5
<i>Ruditapes philippinarum</i>	644	6.2
<i>Clamys varia</i>	6	
<i>Donax sp</i>	62	
<i>Haliotis tuberculata</i>	48	
<i>Pecten maximus</i>	37	
<i>Mercenaria mercenaria</i>	12	
<i>Crassostrea angulata</i>	30	
<i>Ruditapes rhomboides</i>	15	
<i>scrobicularia</i>	80	
<i>glycymeris</i>	6	
total	10 148	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.

Trois agents font en effet 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 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.

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.

- Le réseau effectue aussi des analyses visant à préparer l'agrément de gisements indemnes des deux maladies précitées, dans les zones 9 et 10. L'échantillonnage requis pour demander l'agrément est de 150 animaux (huîtres plates), deux fois par an, pour un gisement, à analyser en histologie classique, pendant 2 ans. Sur une zone plus étendue il faudrait effectuer 3 points de prélèvement. Les transferts vers les zones demandant l'agrément de coquillages autres que *C.gigas* sont interdits. Les modalités de la demande d'agrément sont en cours d'étude pour les gisements des zones 9 et 10, compte tenu de toutes ces contraintes.

- *Rappels sur ces maladies :*

*La marteiliose est une maladie dont l'agent responsable est *Marteilia refringens* (Grizel et al. , 1974) , protozoaire du phylum 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.*

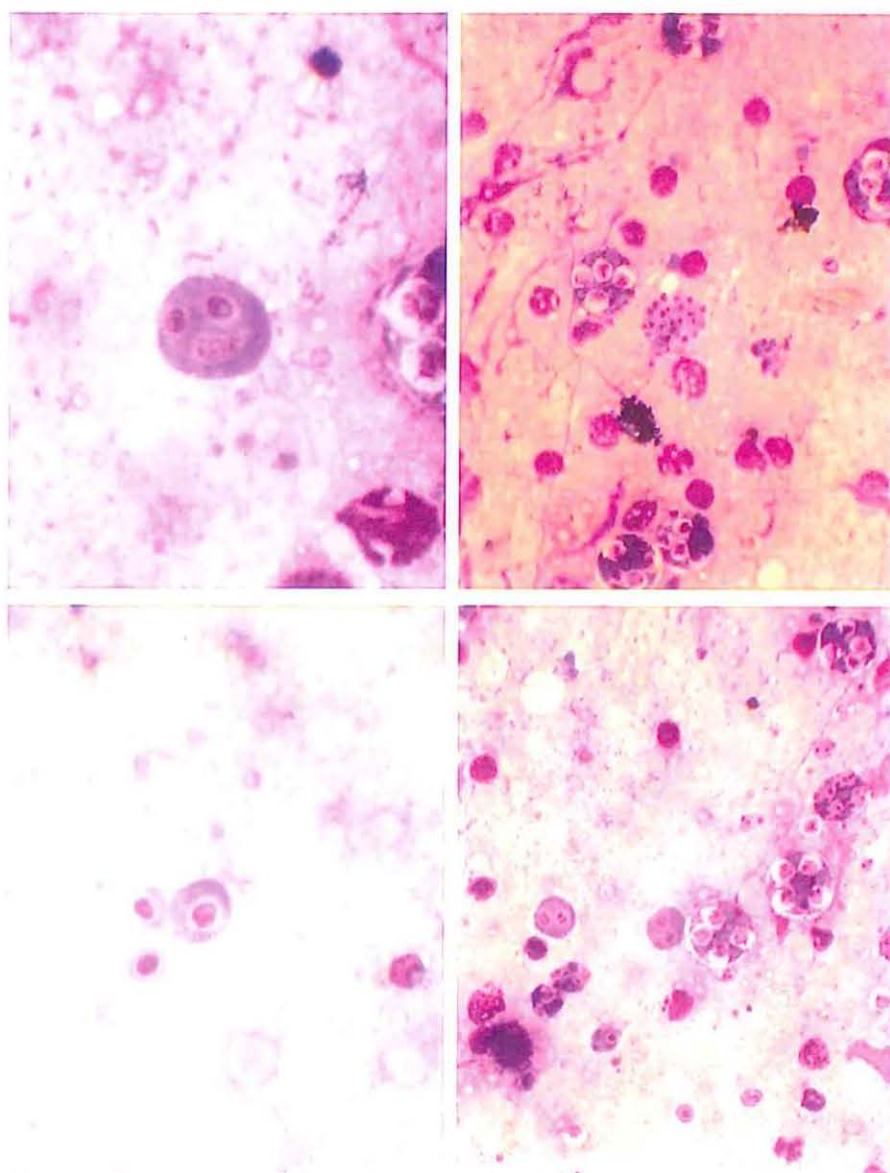
Le parasite est un protozoaire extracellulaire qui est principalement observé dans le tractus digestif, par histologie ou frottis. Il interférerait avec l'absorption de nourriture et provoque la destruction de l'épithélium digestif de l'hôte, ce qui peut conduire l'animal à la mort. Les modes de transmission 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 annexe 9. 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. Il n'existerait dans les zones européennes étudiées qu'une seule espèce de *Marteilia*, *Marteilia refringens*, avec deux sous-types , M et O, qui ont respectivement un tropisme préférentiel pour les moules (*Mytilus edulis* et *galloprovincialis*) et les huîtres plates, respectivement, La marteiliose fait partie des maladies à déclaration obligatoire à l'OIE.*

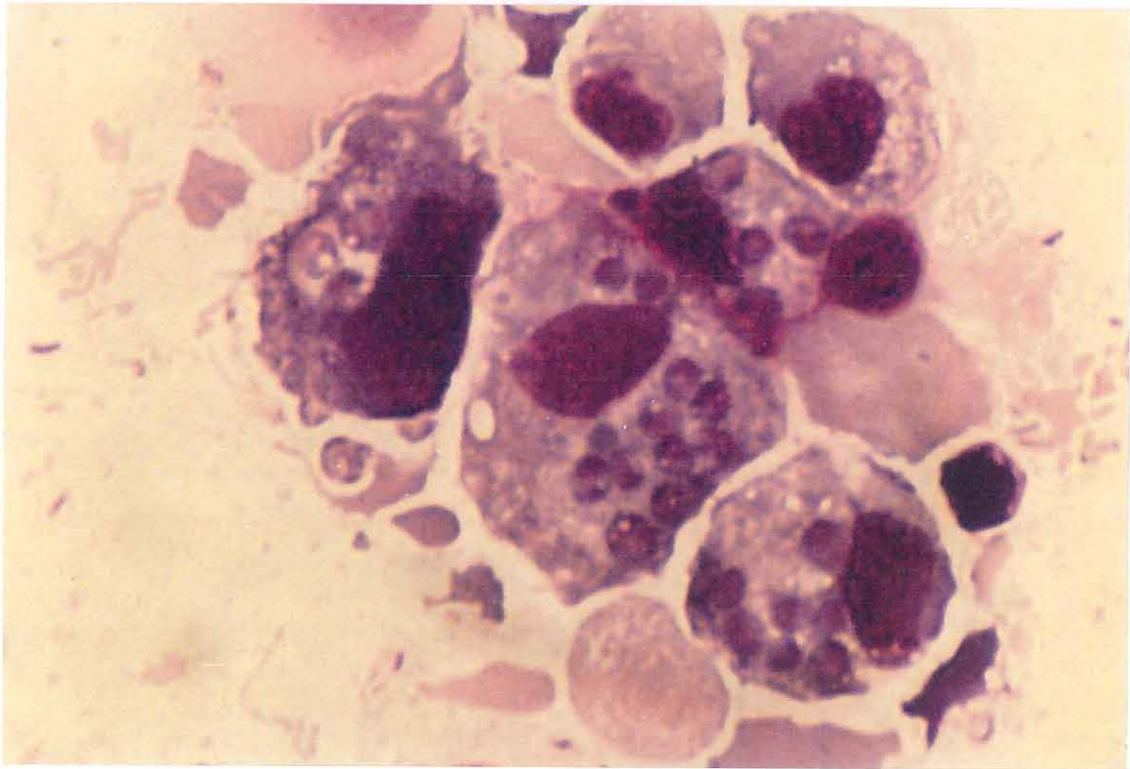
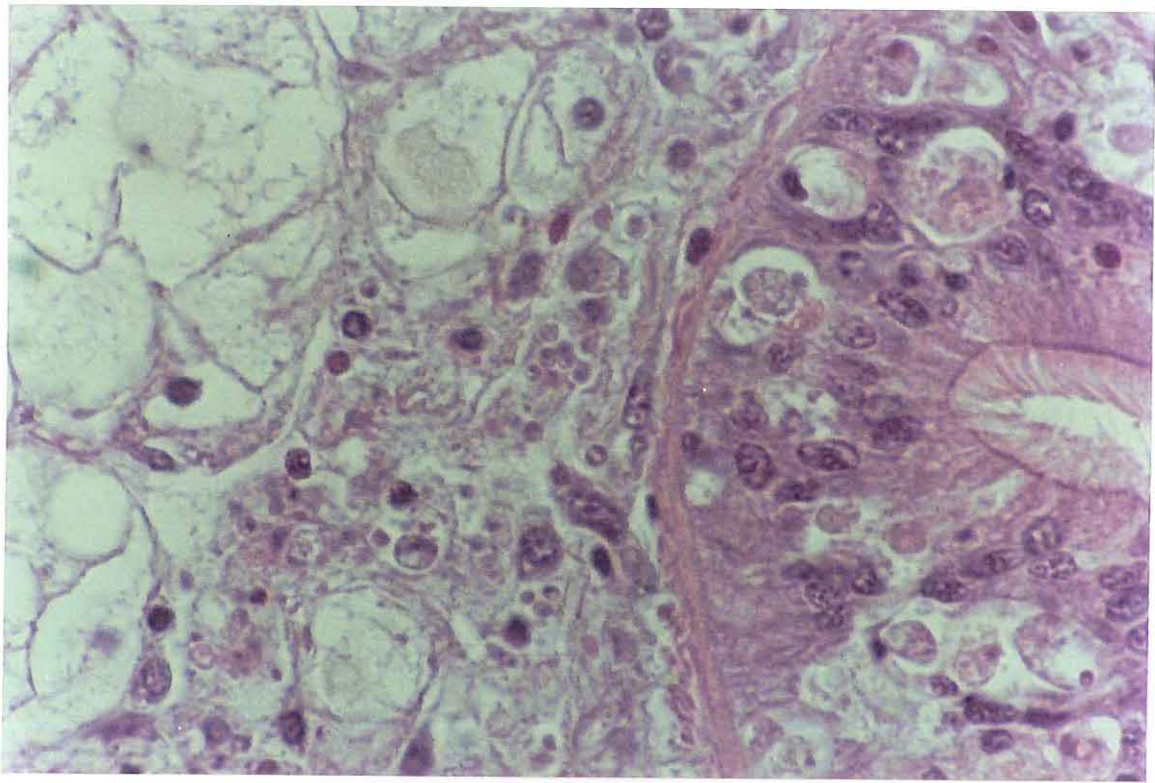
*Bonamia ostreae est un protozoaire, du phylum des Ascomycota, parasite de l'huître plate *ostrea edulis*, responsable de la Bonamiose. La maladie a été introduite accidentellement en Bretagne en 1979, et s'est rapidement propagée à l'ensemble du littoral français. L'agent a été décrit (Y. Pichot et Al, 1980) comme un parasite intracellulaire, infectant les hémocytes de l'huître, qui interviennent dans la défense immunitaire (N. Cochenec, 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. Cochenec et al, 2000)*

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



Photographies 1 avec l'aimable autorisation de F. Berthe : différents stades de *Marteilia refringens* observés par frottis de la glande digestive d'*Ostrea edulis*.



Photographies 1 avec l'aimable autorisation de N. Cochenec : *Bonamia ostreae* sur *Ostrea edulis* observés par histologie dans le cytoplasme des hémocytes du tissu conjonctif de la glande digestive (photographie en haut, B. Chollet) et par frottis cardiaque à l'immersion (photographie en bas, N. Cochenec).

● Résultats sur *Bonamia ostreae* et *Marteilia refringens* sur *Ostrea edulis*

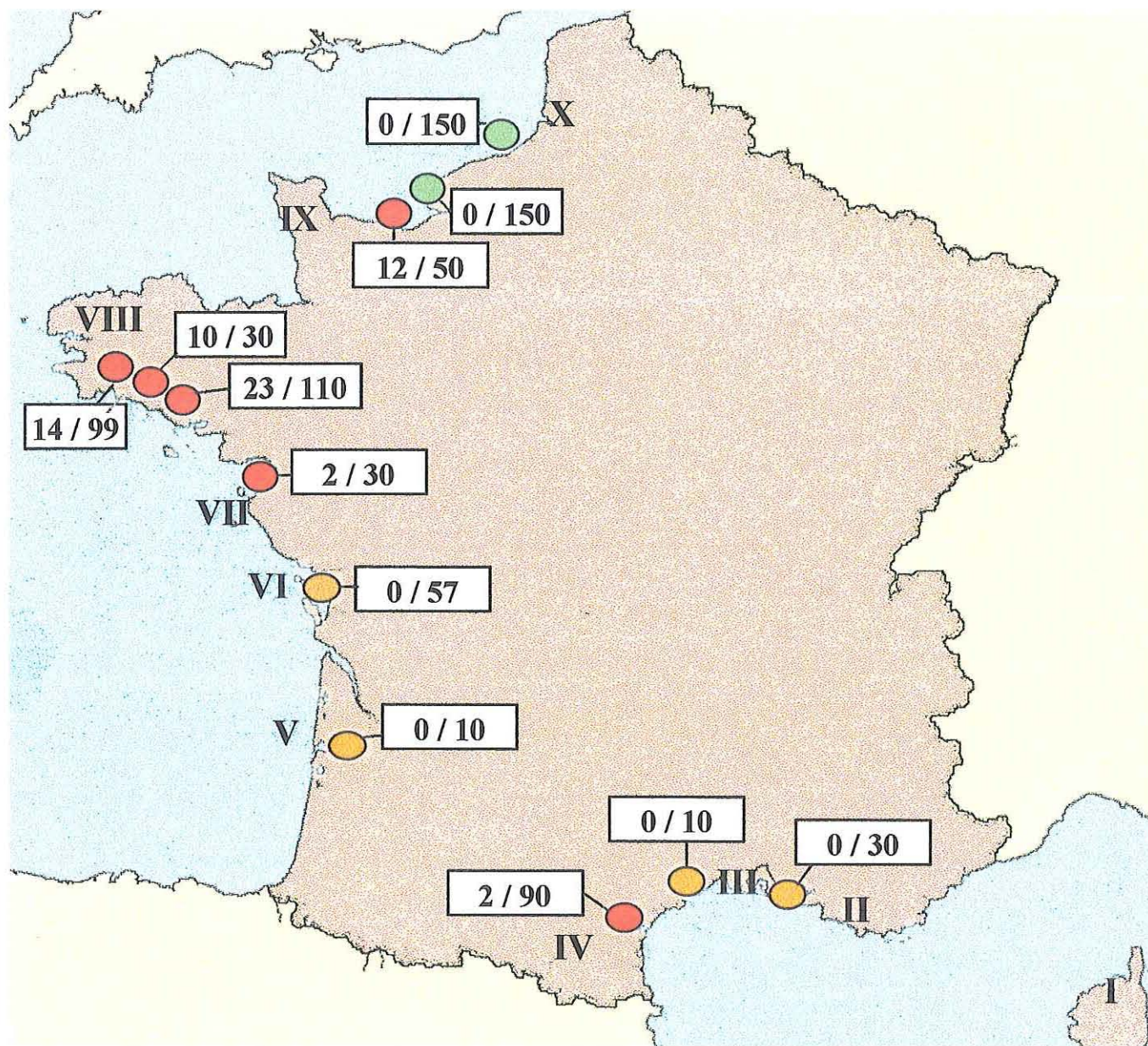
Zone	sites	mois	Age et origine	Nb individus analysés /par quelle technique	Résultat <i>Marteilia refringens</i>	Résultat pour <i>Bonamia ostreae</i>
1	Pas d'analyse					
2	Golfe de Fos-sur-Mer	Février	Ad Gis Nat 1 L	30 Frottis	0/30	1/30
3	Thau	Janvier	J Bretagne 6 L	30 Frottis	-	3/30
				30 Frottis	-	1/30
				30 Frottis	-	0/30
				30 Frottis	-	0/30
				30 Frottis	-	0/30
				30 Frottis	-	0/30
				30 Frottis	-	0/30
		Avril	J Nat Thau 1 L	30 histo	4/30	
		Juillet	Ad Nat Thau 3	44 histo	0/14	0/14
					0/20	0/20
					0/10	0/10
		Juillet	N écloserie 5 L			
			F1 Ston	94 histo	0/30	0/30
			F1 Ston		0/30	0/30
			F1 Ston		0/34	0/34
			F1 Ston	60 Frottis	0/20	0/20
			F1 Ston		0/10	0/10
		Septembre	N écloserie 7 L			
			F1 Quiberon	216 Frottis	8/20	1/20
			F1 méditer		7/20	0/10
			F1 Ston		8/20	0/20
			F1 Ston		16/25	0/10
			F1 méditer		21/31	-
			F1 méditer		5/10	0/10
			Non connue		8/20	0/10
		Octobre	N écloserie 3 L	55 Frottis		
			F1 Quiberon		3/15	1/15
			F1 Ston		4/15	-
			F1 méditer		5/10	-
		Novembre	N écloserie 3 L	90 Frottis		
			F1 Quiberon		8/15	0/15
			F1 Ston		6/15	0/15
			F1 méditer		8/15	0/15
		Novembre	Ad Nat Thau 1	30 Frottis	4/15	0/15

		Novembre	Ad Bretagne 1	60 Frottis	0/30	0/30
	Sète Mer ouverte	Octobre	N écloserie 4 L F1 Ston F1 méditer ? ?	80 Frottis	3/20 7/20 1/20 3/20	-
		Novembre	N écloserie 4 L ? ? ? ?	90 Frottis	16/30 14/30 7/15 7/15	- - - -
		Décembre	Ad Gis Nat 1 L	20 Frottis	3 /10	0/10
4	Salses-Leucate	Septembre	N écloserie 3 L F1 Ston F1 méditer F1 méditer	30 histo 26 histo 28 histo	0/30 0/26 1/14	0/30 0/26 0/14
	Port-Leucate	Juin	J Gis Nat 1 L	163 Frottis	9/103	0/60
		Août	Ad Gis Nat 1 L	70 Frottis	19/40	2/30
	Gruissan Mer ouverte	Novembre	N écloserie 3 L F1 méditer F1 méditer F1 Ston	40 Frottis 30 Frottis 30 Frottis	12/30 4/30 6/30	0/10 - -
5	Banc d'Arguin	Septembre	Adultes sauvages.	10/histo.	0/10.	0/10.
6	Ile d'Aix.	Septembre.	Adultes sauvages	57/histo.	0/57.	0/57.
7	Roches de Graisseloup.	Mai Septembre	Adultes	30/histo 31/histo.	0/30 0/31.	2/30 0/31.

Zone	sites	mois	Age et origine	Nb individus analysés	Résultats <i>Marteilia refringens</i>	Résultat pour <i>Bonamia ostreae</i>
8	Cancale	Septembre	3 ans. Captage Coq. de moules Rade de Brest 96	50/ frottis	Non recherché	3/50
	Cancale	Décembre	semé printemps 97 à Cancale 4-5 ans Captage Coq. de moules Morbihan 95	50 / frottis	Non recherché	12/50
	Quiberon	Avril	10 mois. Captage Coques de moules 1998	50 / frottis	Non recherché	0/50
	Quiberon	Avril	10 mois Captage Tuiles 1998	50 / frottis	Non recherché	0/50
	Quiberon	Octobre	2-3 ans Captage Coques de moules 97 au sol resté sur place	50 / frottis	Non recherché	3/50
	Quiberon	Octobre	3-4 ans Captage Coques de moules 96 au sol resté sur place	50 / frottis	Non recherché	6/50
	Quiberon	Octobre	15-27 mois Captage naturel Penthièvre tout-venant resté sur place	30 / frottis	Non recherché	2/30
	Quiberon	Octobre	39 mois et plus Captage naturel Penthièvre tout-venant resté sur place	30 / frottis	Non recherché	4/30
	Quiberon	Octobre	15-27 mois Quiberon - Captage Penthièvre tout-venant semé en mars 98 sur le banc de St Colomban	30 / frottis	Non recherché	2/30

Quiberon	Octobre	39 et + Captage Penthièvre tout- venant semé en mars 97 sur le banc de St Colomban	30 / frottis	Non recherché	13/30
Quiberon	Octobre	16 mois Captage Coq. de moules Quiberon été 98 sur le banc de St Colomban	30 / frottis	Non recherché	0/30
Odet	Septembre	26 mois Banc du pérennou - Captage naturel 97-98	100 / frottis	0/50	3/50
Odet	Septembre	50 mois Captage naturel tout venant	100 / frottis	0/50	6/50
Odet		74 mois Captage naturel tout venant	98 / frottis	0/49	8/49
Rivière d'Etel	Octobre	27 mois Captage coq.de moules Quiberon été 97 mis en poche à Etel fin avril 98	30 / frottis	Non recherché	3/30
Rivière d'Etel	Octobre	38 mois Captage coq.de moules Quiberon été 96 mis en poches sur cadres en Baie de Quiberon en mai 97 et transféré en rivière d'Etel début novembre 97	30 / frottis	Non recherché	10/30
Aber Benoît (Prat Ar Coum)	Août	Adulte en élevage	30 / frottis	0 /30	7 / 30
Aber Benoît (Vill)	Août	Adulte en élevage	28 / frottis	0 /28	1 / 28
Aber Benoît (Prat Ar Coum)	Août	Adulte en élevage	60 / frottis	0 /60	18/60
Aber Benoît (Prat Ar Coum)	mi-Août	Adulte en élevage	60 / frottis	0 /60	18/60
Golfe du Morbihan	Juillet	Adulte Captage naturel 95-96 resté au sol	60 / frottis	21/60	Non recherché

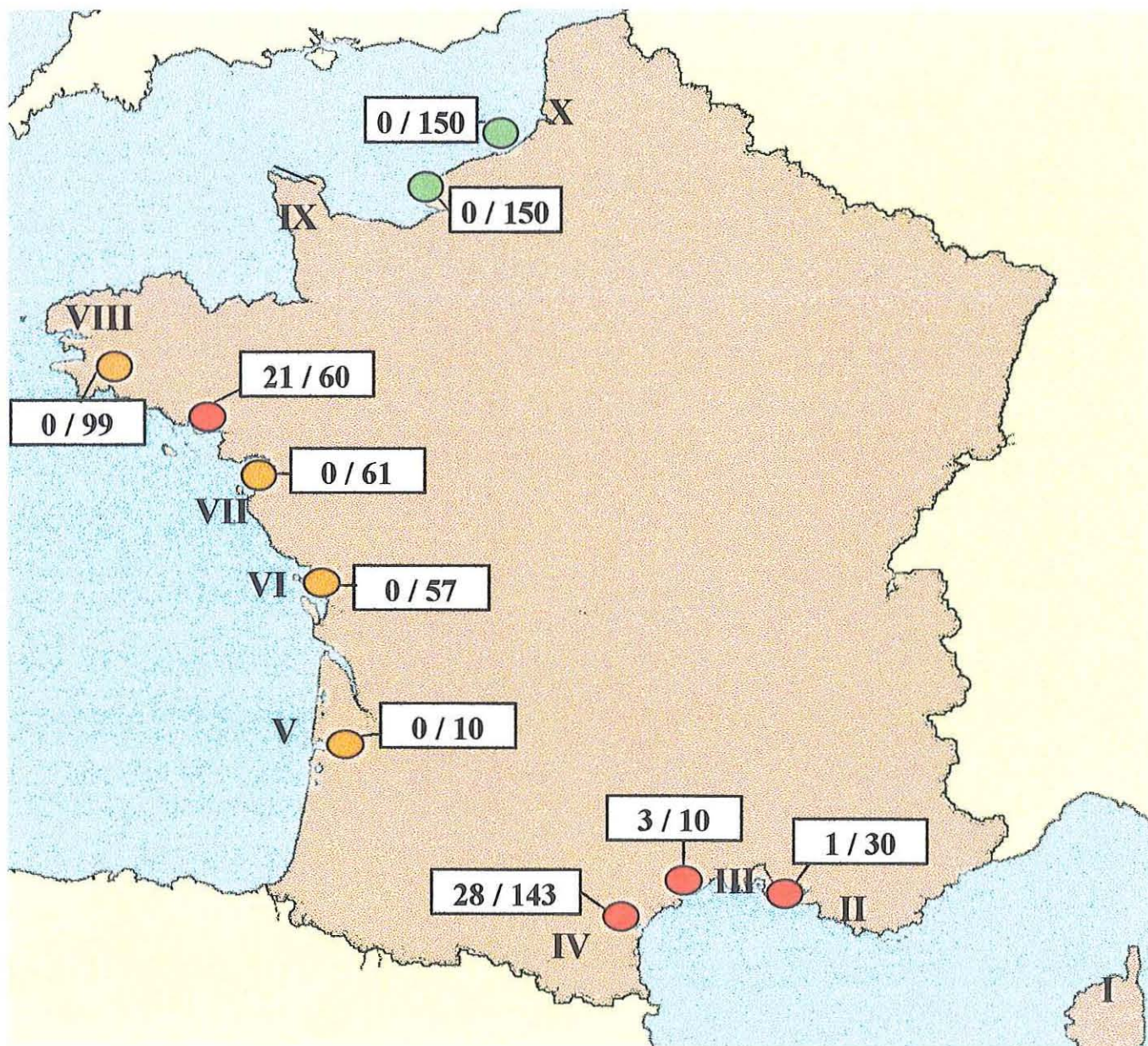
ANNEXE 6 : principaux résultats des analyses de *Bonamia ostreae* sur des adultes *Ostrea edulis* en 1999.



Légendes

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

ANNEXE 7 : principaux résultats des analyses de *Marteilia refringens* sur des adultes *Ostrea edulis* en 1999.



Légendes

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

Analyse des résultats :

- Pour *Bonamia ostreae* :

En Bretagne, les taux de prévalence en *Bonamia ostreae* sont variables et varient entre des taux inférieurs à 10% jusqu'à plus de 40% suivant les sites et l'âge des huîtres (A.G. Martin, *et al*, 2000). Dans les zones du sud de la Loire, l'approvisionnement en huîtres plates pose problème, et ne permet plus de détecter de faibles niveaux de prévalence, sauf dans un cas. En Méditerranée le taux de prévalence observé est inférieur 5%. (Y. Pichot, 2000).

- Pour *Marteilia refringens*

Marteilia refringens a été peu recherché en Bretagne cette année car les prévalences attendues étaient faibles sauf dans le golfe du Morbihan où la prévalence était de l'ordre de 30%. (A.G. Martin, *et al*, 2000). Dans les zones du sud de la Loire, les échantillons étaient trop faibles pour espérer détecter *Marteilia refringens*.

En Méditerranée, *Marteilia refringens* a été détecté, à des prévalences variables, mais souvent élevées sur différents sites. (Y. Pichot, 2000).

- Préparation du classement indemne du gisement de Granville et de Veules Les Roses

Zones	sites	mois	Age et origine	Nb individus analysés	Résultats <i>Marteilia refringens</i>	Résultat pour <i>Bonamia ostreae</i>
9	• Gisement de Granville <i>En eau profonde</i>	• Novembre	• Adultes (gisement)	• 150/histo	• 0/150	• 0/150
10	• Gisement de Veules les Roses (Seine Maritime) <i>Secteur découvrant</i>	• Novembre	• Adultes (gisement)	• 150/histo	• 0/150	• 0/150

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

	1992	1994	1995	1996	1997	1998	1999	Total
Granville (Zone 9)	152	50	150	132	151	76	150	861
Veules les Roses (Zone 10)					141	123	150	414

Les difficultés d'approvisionnement, sur ces sites peu accessibles, expliquent l'écart de ces échantillonnages vis à vis de ce qui avait été prévu à l'origine. Ces analyses confirment le caractère vraisemblablement indemne de ces gisements.

2.2.2/ 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 éclosérie 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. La température semble jouer un rôle, au moins sur les larves, dans le passage à la phase de multiplication active. (Le Deuff *et al.*, 1996).

RESULTATS DE 1999 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 99

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
Charente	Debut juin	24 lots négatifs
Charente	Début juillet	1 lots à 1/6 (24 lots)
Charente	Fin juillet	1 lot à 1/6 (24 lots)
Ecloserie	juin	1 lot à 5/6
Charente puis réimmersion Riv de Crach	Fin juin	1 lot à 1/6
Charente puis réimmersion Riv de Crach	Début septembre	1 lot à 2/6
Charente puis réimmersion Saint Philibert	Mi août	1 lot à 2/6
Charente puis réimmersion étang de Leucate	Mi juin	1 lot à 2/6
Nombre de lots positifs		32 lots
Moyenne de pools positifs/lot positif		1,75 pools positifs/lot positif

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. Le fait que les lots positifs sont issus de Charente n'est pas à considérer comme étant représentatif de ces zones. 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.

• Lien mortalités/ résultats d'analyse pour la détection d'ADN viral

Résultats en nombre de lots	Naissain avec mortalités estivales « anormales »	Naissain sans mortalités anormales
Lot positif en PCR	5 (bretagne et méditerranée)	2 (charente)
Lot négatif en PCR	<ul style="list-style-type: none"> • Normandie : 2 • Bretagne : 7 • Atlantique Sud : 7 • Méditerranée : 5 • Total : 21 	<ul style="list-style-type: none"> • Atlantique sud 87 • Bretagne 4 • Méditerranée 3 • Total : 94

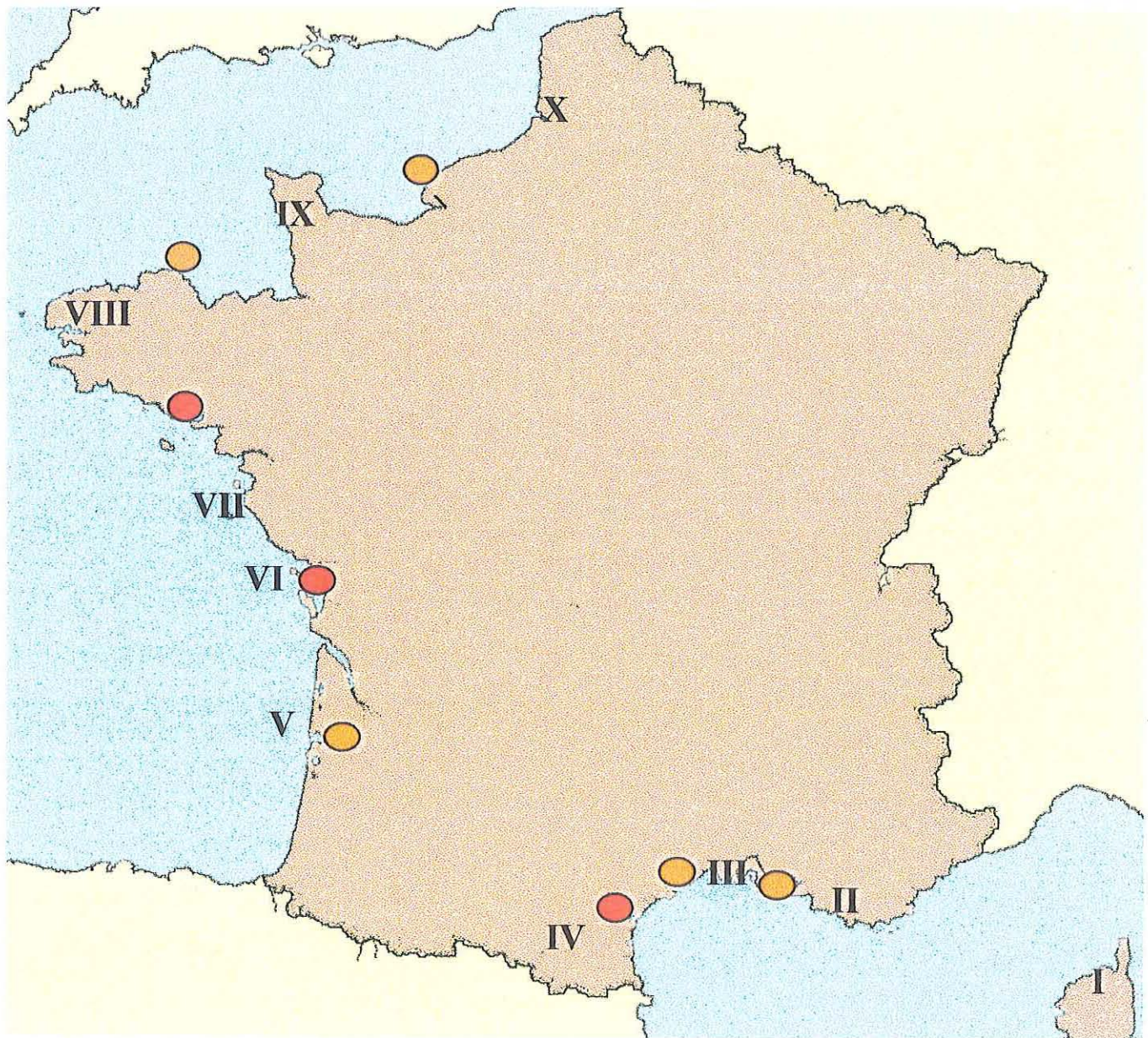
La mortalité anormale est définie ici comme une mortalité supérieure à 20% entre deux périodes courtes (entre deux marées) et observées au cours de l'été sur le lot concerné.

En fait ce tableau est difficile à établir :

- Les animaux négatifs le sont au niveau de la sensibilité de la mesure près et si le prélèvement correspondait à une phase propice à la détection.
- Les animaux positifs : la PCR ne permet pas de distinguer entre le virus en phase latente et en phase de multiplication.
- Etablir des totaux marginaux verticaux n'a pas de sens ici.
- Le calcul de l'odds ratio donne et le test du X2 n'auraient pas non plus de sens, compte tenu de ce qui a été dit plus haut.

Quelques cas de mortalités de naissain, et au moins le lot sur lequel 5/6 pools ont été trouvés positifs sont expliqués par la présence du virus herpès.

ANNEXE 8 : résultats positifs des analyses de recherche d'ADN de type herpès sur du nais-sain de *Crassostrea gigas* en 1999.



Légendes

- zone contaminée et trouvée positive.
- zone considérée contaminée et échantillon insuffisant ou absence de prélèvements.

I zone

2.3/ EPIDEMIOVIGILANCE

Le terme d'épidémiologie, au sein de l'épidémiologie désigne les actions de veille destinées à détecter l'apparition d'une maladie, quelle soit exotique, comme celles de l'annexe 9, émergente ou réémergente (Toma et al, 1996). Dans le cas de la vigilance, tout cas de maladie non présente sur le territoire doit être détectée précocément 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'épidémiologie et l'épidémiologie.

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	Nb individus analysés	Résultats
5	• Gahignon	Octobre	Adulte	30/ Histo	16/30 atrophie des épithéliums de la Glande digestive 2/30 Cilié 1/30 <i>Mytilicola</i>
	• Ferret	juin	Adulte	30/ Histo	1/30 ciliés
		Octobre		30/ Histo	1/30 <i>Mytilicola</i> 1/30 Cilié 15/30 atrophie des épith de GD
6	• Les Doux	Septembre	Adulte	29 /histo	3/29 <i>Mytilicola</i> 1/29 Ciliés
	• Mérygnac	Septembre	Adulte	30/histo	1/30 <i>Mytilicola</i> 1/30 rickettsies
	• Perquis	septembre	adulte	30/histo	1/30 <i>Myicola</i> 1/30 <i>Mytilicola</i> 1/30 Ciliés

ANNEXE NUMERO 9
MALADIES A DECLARATION OBLIGATOIRES D'APRES
DONNEES DE L'OIE 1998

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

7	• Noirmoutiers	• Juin	Adultes	29 /histo	1/29 Mytilicola 1/29 Trichodine 14/29 Atrophie des épith des diverticules digestifs
	• Gresseloup	• Juin	Adultes	30 /Histo	5/30 Atrophie des épith des diverticules digestifs 2/30 Ciliés 3/30 Mytilicola
		• Novembre		30/histo	15/30 Atrophie des épith des diverticules digestifs 1/30 Mytilicola 1/30 Cilié
	• Moutiers	• Novembre		• 30/histo	4/30 Mytilicola 1/30 métazoaire dans le TD

L'atrophie des épithéliums des diverticules digestifs est une observation fortuite, liée à un stress ou à l'état des réserves des huîtres. 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 récente 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**

5	Arcachon	Juin	état frais et PCR	2 Pêches(secteur est et ouest)	2 lots négatifs 3/3- pas d'anomalies macroscopiques
		Juillet	état frais et PCR / microscopie électronique	16 Pêches (5 secteurs est et 11 secteur ouest)	33 lots 33-/33 pas d'anomalies macroscopiques et RAS en microscopie électronique
		Août	Larves état frais et PCR / microscopie électronique	18 Pêches (7secteurs est et 11 secteurs ouest)	36 lots 36-/36 pas d'anomalies macroscopiques et RAS en microscopie électronique
6	Coux	Juillet Aout	état frais et PCR état frais et PCR	4 Pêches 3 Pêches	12 lots 12/12- 9 lots 9/9-

Faulx	Juillet Aout	état frais et PCR état frais et PCR	4 Pêches 3 Pêches	12 lots 12/12- 9 lots 9/9-
Fouras	Juillet Aout Sept	état frais et PCR état frais et PCR état frais et PCR	3 Pêches 3 Pêches 1 Pêche	9 lots 9/9- 9 lots 9/9- 3 lots 3/3-
Ledoux	Juillet	état frais et PCR	1 Pêche	3 lots 3/3-
Doux	Juillet Aout	état frais et PCR état frais et PCR	4 Pêches 4 Pêches	12 lots 12/12- 12 lots 12/12-
Mérignac	Juillet Aout	état frais et PCR état frais et PCR	4 Pêches 4 Pêches	12 lots 12/12- 12 lots 12/12-

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 et en microscopie électronique.

La recherche de virus herpès sur ces stades larvaires a été infructueuse, mais la technique, qui avait été optimisée en éclosérie, est encore en phase de recherche en milieu ouvert. L'absence d'inhibitions et la recherche positive d'ADN de *Crassostrea gigas* renforcent cependant l'idée que le virus pouvait être détecté par cette technique. En absence de mortalités ou de phase de multiplication du virus, il n'était pas évident, a 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***

Zones	sites	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
4	• Port Leucate (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	• août	• Adultes	50/ frottis	• RAS
5	Arcachon Banc d'Arguin (<i>Mytilus edulis</i>)	Avril Sept	Adultes Adulte	30/ histo 30/ Histo	4/30 Métazoaire indéterminé 1/30 Mytilicola 1/30 Grégarine 2/30 Pinnothère 6/30 Métazoaire indéterminé 2/30 Grégarine 1/30 Cilié 1/30 Rickettsie 1/30 Mytilicola
6	Pte de La Fumée (<i>Mytilus edulis</i>)	Mai	Mélange (J + A)	30/ Histo	12/30 Cilié 5/30 Mytilicola 1/30 Turbellarié
7	Le Fain (<i>Mytilus edulis</i>)	Aout	Adulte	30/ Histo	2/30 Haplosporidie 3/30 Cilié 2/30 Grégarine
8	(<i>Mytilus edulis</i>) Rivière de Crach	Septembre Mai	Adulte	30/ Macro, Frottis 10/frottis glande	4/30 Pinnothère 1/30 <i>Marteilia</i> 5/10 <i>Marteilia</i>

Commentaires sur les résultats :

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 types différents. *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 Chlamydiées, en effet dans les deux cas il s'agit de bactéries intracellulaires dont la pathogénicité est faible (Lauckner, 1983). Les Ciliés, comme les grégarines ont une pathogénicité faible. 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.

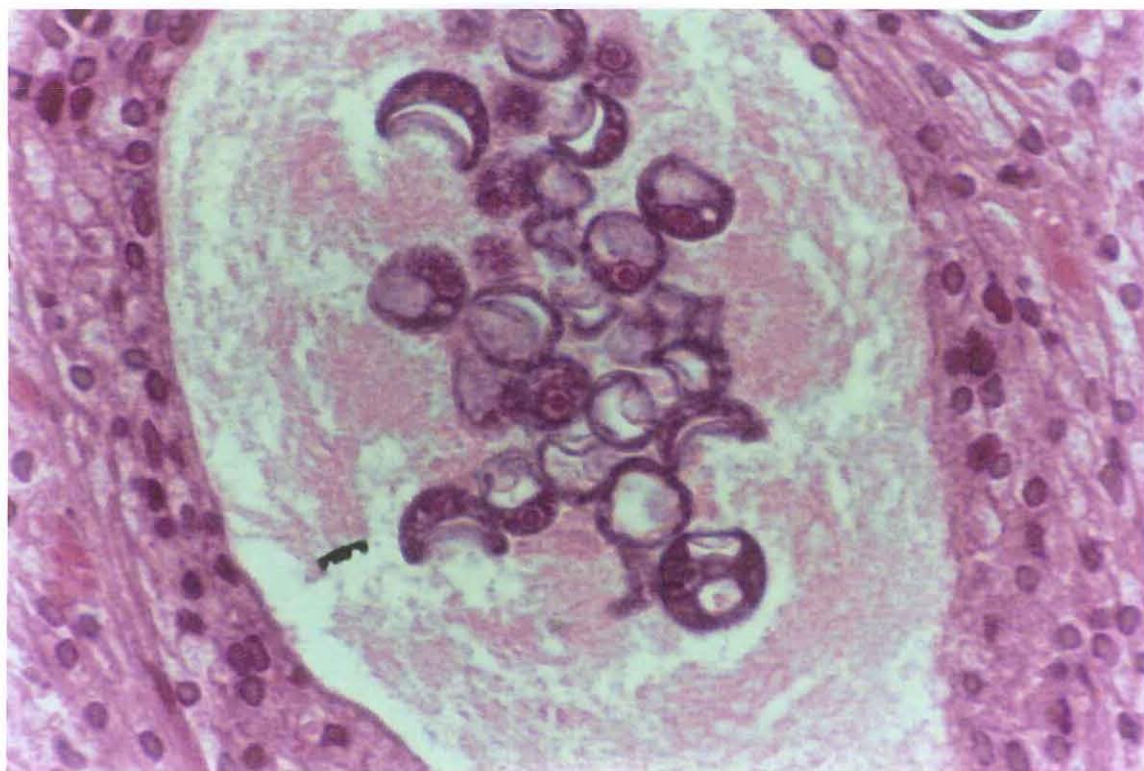
• **2.3.1.3. Suivi d'*Ostrea edulis* en dehors du suivi *Bonamia ostreae* / *Marteilia refringens*.**

Zones	sites	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
2	Golfe de Fos sur mer (anse de carteau)	février	Adulte (31)	30/ histo	1/30 <i>Marteilia</i>
5	Banc d'Arguin	Septembre	Adulte	10/ Histo	10/10 RAS
6	Ile d'Aix	Septembre	Adulte	57/ Histo	2/57 Rickettsie 2/57 <i>Mytilicola</i> 1/57 Cilié
7	Bouin (gresseloup)	Septembre	Adulte	31/ Histo	2/31 <i>Mytilicola</i> 1/31 Rickettsie 1/31 <i>Myicola</i>

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***

Zones	sites	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
4	Etang du Barcarès (<i>Ruditapes decussatus</i>)	Juin	24	30 histo	12/30 Perkinsus 1/30 Rickettsie 2/30 Métazoaire indéterminé 4/30 plages bactériennes branchies
	Etang de Leucate (<i>Ruditapes decussatus</i>)	juin	24	30 histo	14/30 Perkinsus 5/50 Haplosporidie 1/30 Rickettsie 1/30 Trématode



Photographies 3 et 4 de B. Chollet : infestation de *Perkinsus atlanticus* dans le tissu conjonctif de *Ruditapes decussatus* en histologie classique à deux grossissements différents G20 et G100.

					indéterminé 9/30 plagues bactériennes branchies
5	Arcachon La Touze (<i>Ruditapes philippinarum</i>)	Juillet	Adulte	29/ Macro, Histo	4/30 Calcification d'un muscle adducteur 9/29 Perkinsus 5/29 Images de calcification dans le manteau 2/29 Rickettsie
		Aout	Adulte	30/ Macro, Histo	1/30 Calcification d'un muscle adducteur 7/30 Perkinsus 3/30 Rickettsie 1/30 Coccidie-like 1/30 Trichodine
		Sept	Adulte	30/ Macro, Histo	4/30 Calcification d'un muscle adducteur 8/30 Perkinsus 1/30 Images de Calcification dans le manteau 1/30 Bactéries en bordure du muscle 1/30 Rickettsie 1/30 Métazoaire indéterminé
		Octobre	Adulte	30/ Macro, Histo	12/30 Calcification d'un muscle adducteur 14/30 Perkinsus 6/30 Images de Calcification dans le manteau 1/30 Paravortex 1/30 Rickettsie
		Novembre	Adulte	30/ Macro, Histo	7/30 Calcification d'un muscle adducteur 14/29 Perkinsus 8/2930 Images de Calcification dans le manteau 5/29 Paravortex 4/29 Rickettsie 1/29 Métazoaire indéterminé
		Décembre			6/30 rickettsies dansDD 3/30 turbellariés 2/30 perkinsus + 1/30 ciliés
6	La Mortane (<i>Ruditapes philippinarum</i>)	Sept	Adulte	30/ Histo	4/30 Rickettsie 2/30 Haplosporidie 1/30 Sporocystes de Trématodes

					1/30 Bactéries dans les branchies 1/30 Cilié
7	Roche de Riberge (<i>Ruditapes philippinarum</i>) Côte est Noirmoutiers (<i>Ruditapes philippinarum</i>)	Mai Aout	Adulte Adulte	26/ Histo 30/ Histo	5/26 Rickettsie 1/26 Trichodine 1/26 Turbellarié 1/26 Haplosporidie 9/30 Anomalies nucléaires 8/30 Rickettsie 2/30 Turbellarié
8	Rivière d'Auray(<i>Ruditapes philippinarum</i>)	• Janvier • Décembre	• Adultes • Adultes	• 20 / histo et macro • 20 / histo et macro • 20 /histo et macro • 52 / macro • 115 / macro	• 0/20 Anneau brun • 3/20 Métazoaires • 7/20 Rickettsies • 0/20 Anneau brun • 6/20 Métazoaires • 5/20 Rickettsies • 0/20 Anneau brun • 6/20 Métazoaires • 8/20 Rickettsies • 4 / 52 anneau brun • 0/115 anneau brun

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.

Parmi les agents relevés dans ce tableau, 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*. Il existerait une plus grande prévalence dans les zones sud qu'au nord. Un suivi a été mis en place de façon mensuelle dans une zone infectée afin de mieux connaître les variations saisonnières. Les résultats sont partiels et doivent tenir compte de la taille des animaux. On ne sait pas non plus quelle peut être l'échelle spatiale d'étude. Les résultats définitifs seront connus en 2000-2001.
- L'anneau brun, lésion non spécifique, qui peut être causée notamment par une bactérie *Vibrio VP1*, cette lésion pouvant dans les cas graves entraîner un défaut de fermeture et la mort de l'animal.
- Les Haplosporidies sont en cours d'étude en taxonomie.
- 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.

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 infestation 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 annexe 9.

• 2.3.1.5. suivi de gisements naturels de coques *Cerastoderma edule*

Zones	sites	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
5	Banc des Chiens	Avril	Adulte	29/ histo	29/29 Pinnothère 4/29 Meiog 3/29 Labra 5/29 Hima 4/29 Parav 6/29 Grégarine 9/29 Rickettsie 1/29 Haplosporidie 1/29 Néoplasie 1/29 Métazoaire indéterminé
		Sept	Adulte	29/ Histo	1/30 Pinnothère 13/29 Rickettsie 6/29 Himasthla 19/29 Grégarine 7/29 Meiog
	Banc d'Arguin	Août	Adulte	29 / Histo	3/29 Paravortex 2/29 Meiogymnophallus 4/29 Labratrema 3/29 Himasthla 4/29 Métazoaires 2/29 Trichodine 1/29 Néoplasie 1/29 Coccidie 13/ 29 Grégarines
6	Banc de Ronce	Mars	Jeune	30/ histo	13/30 Meiog 4/30 Labra 10/30 Parav 23/30 Grégarine 8/30 Rickettsie 8/30 Trichodine
		Sept	Adulte	30/ Histo	8/30 Meiog 11/30 Grégarine 1/30 Métazoaire indéterminé 2/30 Labratrema 1/30 Cilié 3/30 Mytilicola 1/30 Paravortex
7	Roches de Riberge	Mai	Adulte	26/ Histo	8/26 Grégarine 4/26 Rickettsie 2/26 Himas 2/26 Labra 1/26 Trématode 1/26 Paravortex 1/26 Métazoaire indéterminé
	Cote est Noirmoutiers	Fin août	Adulte	28/ Histo	1/28 Paravortex 6/28 Himasthla 4/28 Métazoaires indéterminés 3/28 Rickettsies dans GD 1/28 Trichodines 1/28 foyers bactériens 1/28 haplosporidies 2/28 Coccidies 23/28 grégarines

Zones	sites	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
8	Rivière Pont l'abbé	• septembre	• adultes 27 mois (enfouies)	• 12/ histo • 15/ état frais	6/12 copépodes 1/12 rickettsies 5/12 grégarines 2/12 Meio 5/12 Paravortex 6/15 Paravortex 8/15 meio
9	Baie des Veys	• juin	• adultes	• 60 état frais	• 23/60 Meio

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'affaiblissement 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) 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), ce qui n'a pas été observé cette année sur les

sites suivis par le REPAMO. Mais la maladie a été détectée pour la première fois au Croisic. (cf paragraphe 2.3.3.5).

• 2.3.1.6. suivi des coquilles Saint Jacques et autres espèces

Zones	sites	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
6	Boyard	septembre	adultes	7/histo	<ul style="list-style-type: none"> 4/7 branchies détruites
10	Baie de Seine (Normandie)	juillet	adultes	30/histo	<ul style="list-style-type: none"> 28/30 rickettsies dans branchies 4/30 grégarines 6/30 métazoaires dans tube digestif

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

• suivi des autres espèces

Espèce	Zones	sites	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
<i>Tapes rhomboides</i>	8	Belle-Ile (gisement)	mars	adultes	15/histo	<ul style="list-style-type: none"> 13/15 rickettsies 13/15 haplosporidies
<i>Donax sp.</i>	3	Aigues-mortes	Mars juillet	Adultes adultes	30 histo 32 histo	4/30 Rickettsie 13/32 Rickettsie 4/32 Grégarine 2/32 Trématode indéterminé
<i>Scrobicularia plana</i>	6	Plage de Ronce	Mars	A	20/ histo	15/20 Grégarine 7/20 Rickettsie 1/20 Turbellarié 2/20 Cilié
			Juillet	A	30/ Histo	12/30 Grégarine 5/30 Turbellarié 4/30 Cilié \ \ \ \ \ \ \
			Sept	A	30/ Histo	\ \ \ \ \ \ \

19/30 Grégarine
8/30 Sporocystes de Trématodes
3/30 Protozoaires indéterminés
1/30 Marteilia

Commentaires :

Ces espèces de coquillages sont très fréquemment rencontrés près ou dans des sites d'élevage et il est intéressant de savoir si un parasite peut infester différents hôtes. Leurs agents pathogènes sont mal connus en France, même si *Mercenaria mercenaria* est une espèce relativement étudiée dans d'autres pays.

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

Ce suivi permet, en théorie, de donner une image de l'état zosanitaire 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. Progressivement ce contrôle s'organise, notamment pour le naissain, où un site sentinelle d'une région de production a été suivi en 1997, 1998 et 1999. (cf épidémiosurveillance).

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.

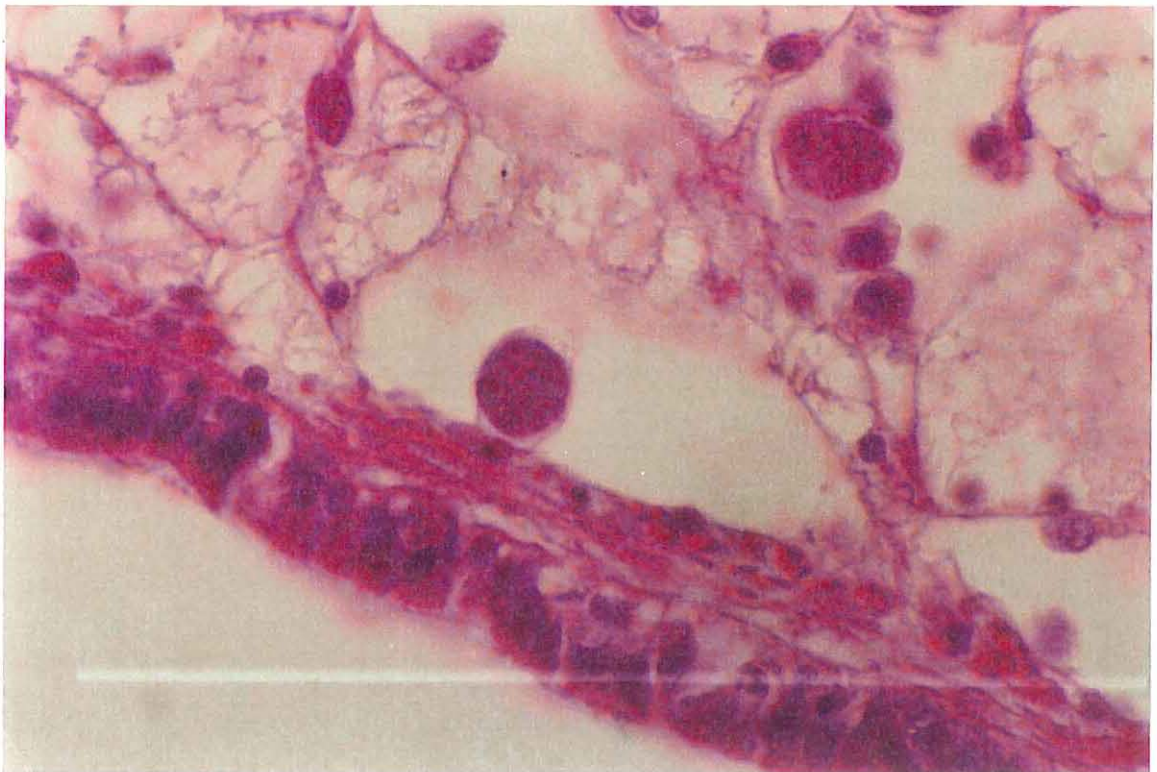
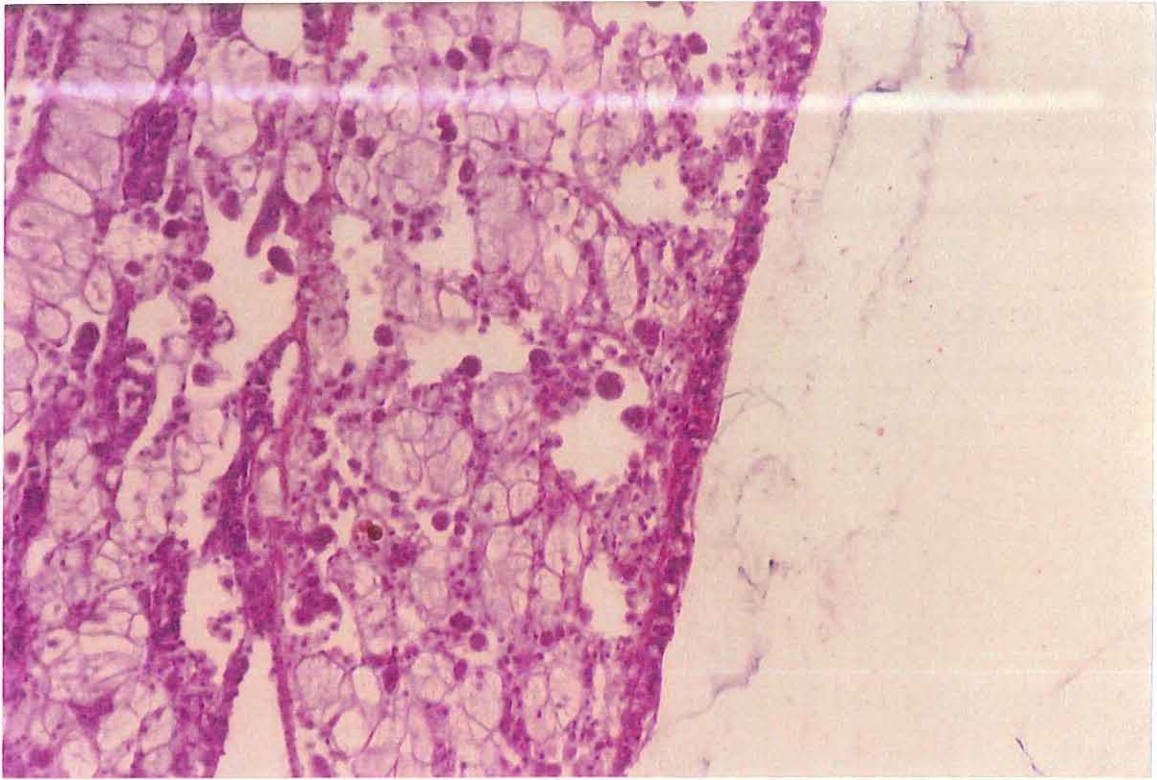
2.3.2.1. suivi de *C. gigas* et *O. edulis*

- **suivi de naissain de *C. gigas***

Il s'agit de suivis organisés, comme à Fouras et à Arcachon, ou bien avant réimmersion à la demande des professionnels.

Zone	Site	Mois du prélèvement	Age	Technique d'analyse	Résultats par lots
3	Etang de Thau	Avril	9 mois	4 lots de 30 animaux soit 120/PCR	4 à 6/6 -
5	Arcachon	<ul style="list-style-type: none"> • Avril • Mai • Juin • Août <ul style="list-style-type: none"> • Février (départ Remora) 	Naissain	90/PCR 120/PCR 120/PCR 120/PCR 15/Histo hemalun 15/Histo Feulgen (pas les mêmes) 50/ macro	3 à 6/6- 4 à 6/6- 4 à 6/6- 4 à 6/6- 3/15 ciliés 4/15 Mytilicola 0/15 RAS 8/50 Mytilicola

6	<ul style="list-style-type: none"> • Fouras • Marennes 	<ul style="list-style-type: none"> • Fin mai • Début juin • Début Juillet • Fin juillet • juin 	Naissain	<ul style="list-style-type: none"> • 3 lots de 30 animaux /histo • 24 lots de 30/PCR et 4 lots de 30/histo, 1 HIS • 24 lots de 30/PCR et 120/histo • 24 lots de 30/PCR • 60/macro 	<ul style="list-style-type: none"> • 1/30 ciliés • 6/30 nucléaires • 2/30 cilié • 1/30 rickettsies • 1/30 mytilicola* • 1/30 ciliés • 1/30 bacté dans dig • 24 à 6/6-6/28 anom nuclé • 1/28 mytilicola • 1/28 ciliés • 4/28 ciliés • 1/28 haplo • 1/28 mytilicola • 1/28 Rickettsie • 4/27 ciliés • 1/27 Mytilicola • 1/29 ciliés • 23 à 6/6-et 1 à 1/6+ • 1/30 suspicion herpès • 3/30 ciliés • 1/30 mytilicola • 2/30 mytilicola • 1/30 ciliés • 2/29 mytilicola • 1/29 myicola • 1/29 herpès • 23 à 6/6-et 1 à 1/6+ • 0/60 Mytilicola
7	Vendée	Mai Mai	Naissain	30/ macro 30/macro	1/30 Mytilicola 0/30 Mytilicola



Photographies : *Haplosporidium nelsoni* sur *Crassostrea virginica* observés par histologie classique dans le tissu conjonctif de la glande digestive (photographie en haut, G20 et en bas G100, N. Cochenec).

8	• Baie de Quiberon	• Février	Naissain	13/Histo hemalun et Feulgen	1/13 Mytilicola
	• Baie de Quiberon	• Juin (Remora)		10/macro	1/10 Mytilicola
	• Paimpol	• Juin (Remora)		10/macro	2/10 Mytilicola
	• Pen bé	• Juin (Remora)		10/macro	2/10 Mytilicola
	• Penzé	• Juin (Remora)		15/Histo hemalun et feulgen	2/15 Mytilicola 1/15 érosion div. 0/15 RAS
	• Riv.Crac'h	• Janvier		20/histo	2/20 érosion div.
	• Riv.Crac'h	• Janvier		20/ Histo	5/20 érosion div. 1/20 Mytilicola 1/20 ciliés
• St Philibert	• Janvier	20/ Histo	5/20 érosion div.		
9	Gouville Ouest Cotentin	Novembre (Remora) Novembre (Remora)	Naissain	30/ macro 30/ macro	3/30 Mytilicola 1/30 Mytilicola

Commentaires :

- Le cas d'haplosporidie détecté n'est pas un phénomène nouveau. Des cas de détection sporadiques d'Haplosporidies sur *Crassostrea gigas* sont rapportés sur toutes les côtes françaises, depuis quelques années sans association particulière avec des mortalités. L'Hybridation in situ a confirmé qu'il s'agissait bien d'*Haplosporidium nelsoni*. Les taux d'infestation et de prévalence, ainsi que le nombre de lots concernés est très faible.. Les lots sans mortalité ne présentent pas moins à priori d'*Haplosporidium nelsoni*. *Haplosporidium nelsoni* pose des problèmes de mortalités graves aux Etats Unis sur *Crassostrea virginica*. *Crassostrea gigas* serait considéré à priori comme une espèce porteuse, mais peu sensible à ce pathogène. Mais il peut exister d'autres différences génétiques, et il convient d'être prudent avant de conclure. Une estimation de la prévalence sur les juvéniles de *Crassostrea gigas* sera mise en place au niveau national en 2000 pour estimer le niveau réel des Haplosporidies sur la production française, pour cet agent plutôt estival. L'effort mis en histologie en France sur les mortalités de naissain est probablement à l'origine de ces observations.
- Les lésions ou les agents rencontrés ici 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.
- Suivi d'adultes de *Crassostrea gigas*

Zones	sites	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
5	Cap ferret	Juin	Adulte en poches	30/histo	1/30 ciliés
	Galignon	juin		29/histo	1/29 Myicola 1/29 Trichodina 1/29 Mytilicola
6	Agnas	sept	Adulte en poche	24/ Histo	7/24 Atrophie des épith des diverticules digestifs 1/24 Ciliés

					3/24 Mytilicola
7	Gresseloup	Juin	Adulte	30/ Histo	5/30 Atrophie des épith des diverticules digestifs 2/30 Ciliés 3/30 Mytilicola
		Novembre	Adulte	30/ Histo	15/30 Atrophie des épith des diverticules digestifs 1/30 Mytilicola 1/30 Cilié

Commentaires :

Aucun de ces agents n'est préjudiciable à la santé de ces huîtres.

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

Zones	sites	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
3	Etang de Thau	Juillet	Adulte (24)	14/ histo	9/14 <i>Marteilia</i> 1/14 Rickettsie 2/14 ciliés
		novembre	Adulte (32)	15/ frottis	4/15 <i>Marteilia</i>

Seul *Marteilia refringens* est préjudiciable à la santé de ces huîtres.

- 2.3.2.2.suivi de *Mytilus edulis*

Zones	sites	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
6	Pertuis Breton (bouchots)	Septembre	Adulte	30/ Histo	5/30 Pinnothère 6/30 Cilié 1/30 Myicola 1/30 Grégarine
	Boyarville (bouchots)	Novembre	Adulte	27/ Histo	6/27 Cilié 2/27 Mytilicola 2/27 Métazoaire indéterminé
7	Bouin, Maisons Blanche, eau profonde (<i>Mytilus edulis</i>)(bouchots)	Mai	Adulte	30/ histo	10/30 Pinnothère 14/30 Cilié 3/30 Mytilicola 1/30 Trématode 1/30 Métazoaire indéterminé 1/30 Grégarine
8	• Aber Benoît (poches sur tables)	Début Août	Adulte	60/frottis	• 13/60 <i>Marteilia</i> à niveau infestation 1+ ou 2+
			Adulte	30/frottis	• 10/30 <i>Marteilia</i> à niveau infestation 1+ ou 2+
	• Aber Benoît (filières)	Début Août	Adulte	30/frottis	• 9/30 <i>Marteilia</i> à niveau infestation 1+ ou 2+
				30/histo	• 4/29 <i>Marteilia</i> • 1/29 sporocyste de

	Aber Benoît (poches sur tables)	Début Septembre	adulte	30/frottis	trématode <ul style="list-style-type: none"> • 1/29 grégarines • 1/30 <i>Marteilia</i> 1+
--	---------------------------------	-----------------	--------	------------	---

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, même si cette comparaison n'est que très approximative. Une étude menée en 1997 dans le Rias de Galice sur *mytilus galloprovincialis* montre des prévalences comparable pour les parasites communs aux deux sites, sauf peut être pour *Mytilicola intestinalis*, qui semble en moyenne un peu plus présent en Espagne. La comparaison n'est malheureusement pas complètement satisfaisante car il y aurait des variations saisonnières de prévalence de *Mytilicola intestinalis*, et il faudrait sans doute comparer à des périodes comparables. Il faut rappeler que ce parasite ne peut avoir un dommage sur la santé des moules qu'à un niveau élevé d'infestation. (Villalba et al, 1997). Les lots de l'aber benoît sont des lots pris à côté de lots à mortalité, ce qui sera revu dans la suite de ce rapport (A. Thébault, et al, 1999). Ces lots ne présentaient pas de mortalités et un niveau d'infestation faibles en *Marteilia refringens* type moule.

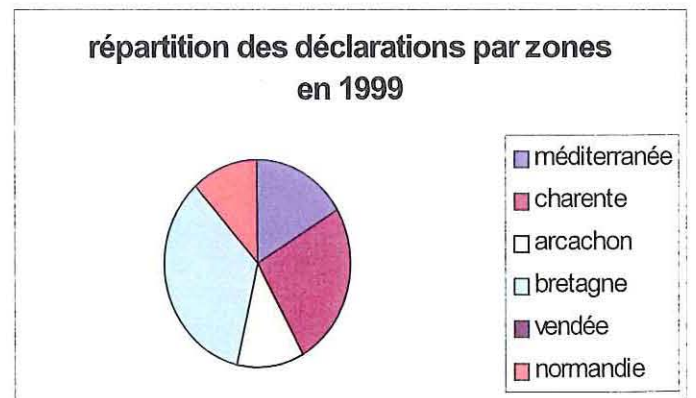
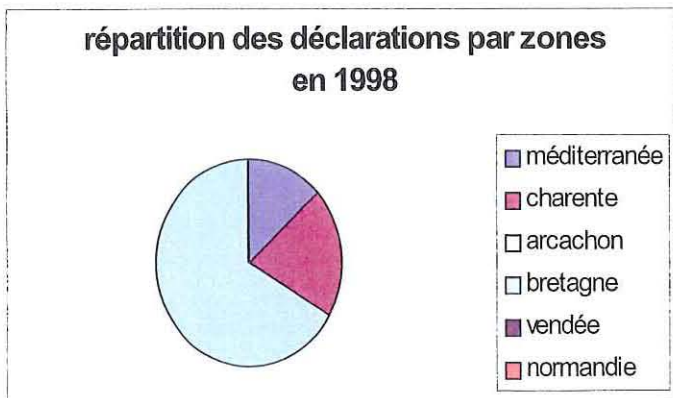
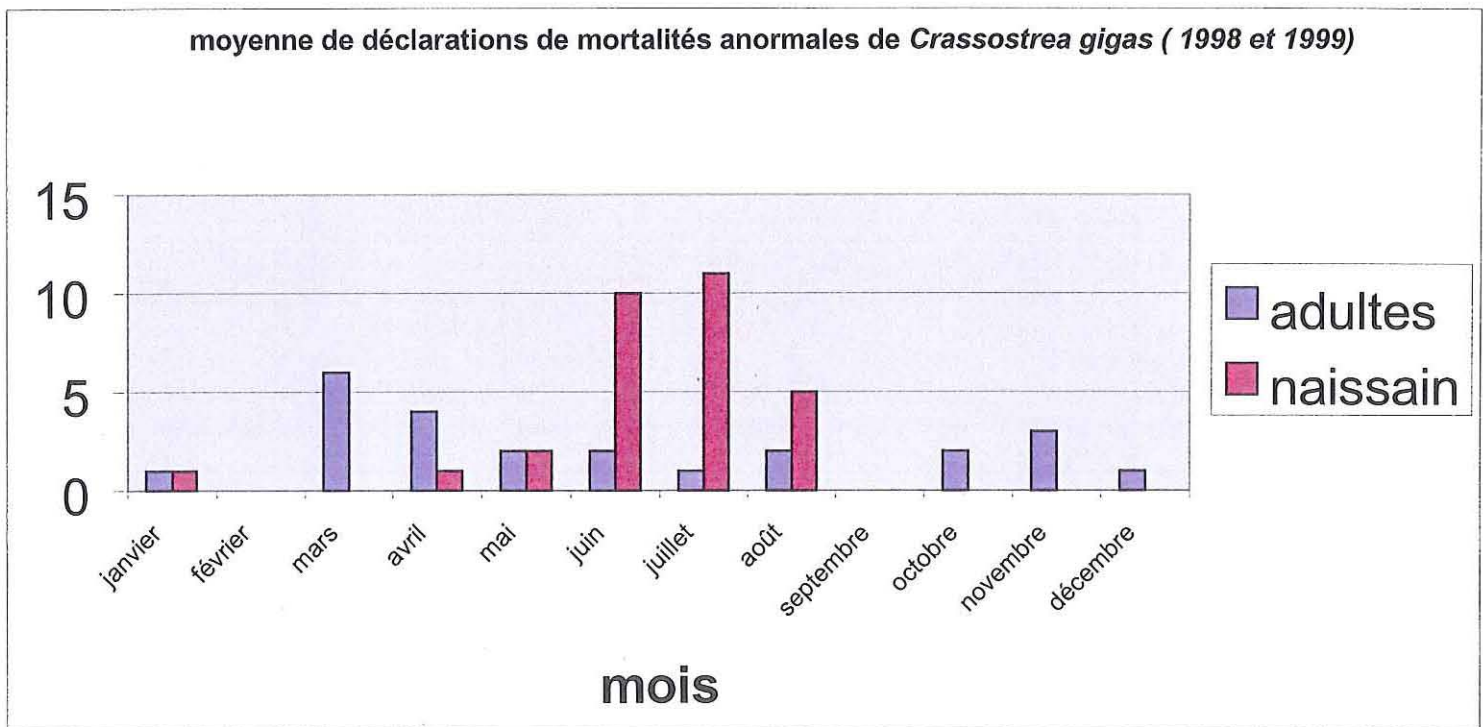
De même dans une écloserie, toutes les espèces présentes, mais qui ne présentaient pas de mortalité ont été contrôlées et n'ont rien révélé d'anormal, ce qui est détaillé dans le tableau ci-dessous.

<i>Mercenaria mercenaria</i>	9	Ecloserie	août	adultes	12/histo	12/12 RAS
<i>Ruditapes philippinarum</i>	9	Ecloserie	août	adultes	29/histo	<ul style="list-style-type: none"> • 2/29 <i>Perkinsus atlanticus</i> (1+ et 2+) • 2/29 Rickettsies dans diverticules digestifs

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 agréées, 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.

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



Le nombre de déclarations entre 1998 et 1999 pour les huîtres creuses a globalement augmenté, passant de 15 à plus de 35 déclarations qui n'ont pas toutes pu être suivies de prélèvements. En effet le moment des prélèvements doit être le plus tôt possible après la découverte des mortalités.

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 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. Le graphique des déclarations, même de façon imprécise, illustre bien que le naissain pose des problèmes en période estivale. Pour la classe d'âge des adultes, les déclarations ont une allure sporadique au cours de l'année, ce qui fait plutôt penser à des problèmes locaux de secteurs ou de zootechnie. Il est sûr que des mortalités en hiver, d'adultes seront particulièrement considérées comme anormales, à des taux plus bas qu'en été.

L'année 1999 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 1999 par secteurs :

- **Normandie**

Un épisode de mortalité sur huîtres creuses adultes a été signalé en fin d'hiver en Baie des Veys. Les analyses réalisées sur 3 lots, début mars, n'ont pas permis d'expliquer les mortalités pour lesquelles l'hypothèse de conditions hydrologiques particulières a été faite.

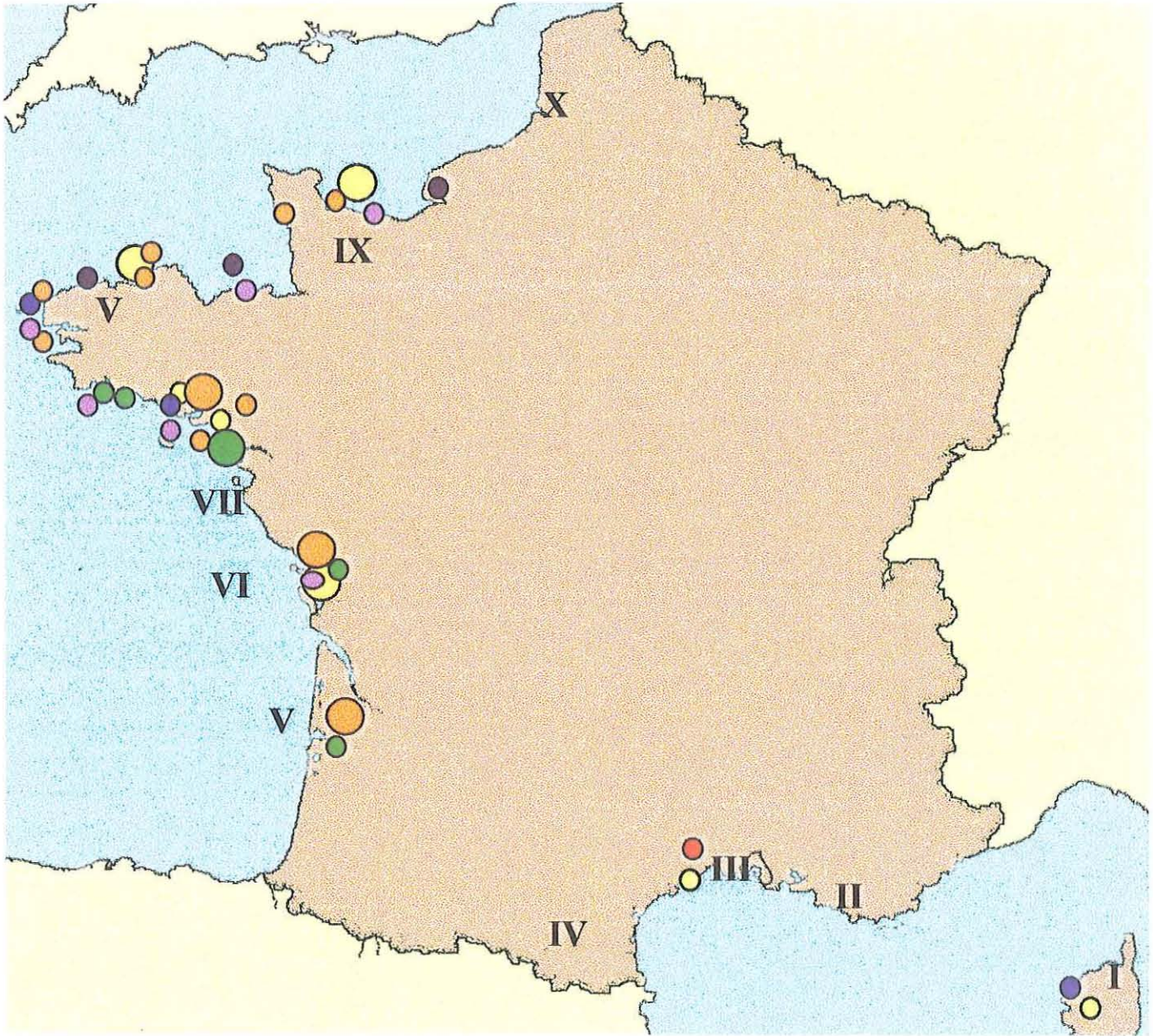
Deux cas isolés de mortalité de naissain d'huîtres creuses ont été signalés dont l'un date de la deuxième quinzaine de juillet (Est-Cotentin) et l'autre de la mi-août (Ouest Cotentin). Ces huîtres ont été dédoublées au cours du mois de juillet.

Des mortalités d'ormeaux (*Haliotis tuberculata*) sont signalées en milieu confiné depuis le 9 août. Ces mortalités concernaient différentes classes d'âge et atteignaient 90%. Une origine infectieuse bactérienne de ces mortalités est suspectée. La mortalité semblerait se déclencher 4-5 jours après la mise en contact d'animaux malades, et serait aggravée par une température supérieure à 15°C. Depuis, l'installation a fait l'objet d'un vide sanitaire, et comme les animaux n'ont pas été transférés le risque d'extension à partir de ce foyer est nul. Des mortalités importantes d'ormeaux ont aussi été signalées sur Chausey, dont certains animaux de l'installation étaient issus. Des mortalités similaires d'ormeaux ont aussi été signalées sur la Côte Nord de Jersey.

- **Bretagne Nord**

Un seul épisode de mortalité d'huîtres creuses a été signalé courant mars sur plusieurs lots de 18 mois en amont de l'Aber Wrac'h. Les lots de même origine mis en aval n'étaient pas touchés. Seules les huîtres en amont ont été analysées. L'importance de l'infestation par *Mytilicola* (de 20 à 40% des huîtres infestées dont une partie à fort taux), mise en relation avec la maigreur des huîtres les plus petites, a pu favoriser cette mortalité au sortir de l'hiver.

ANNEXE 10 : Déclaration de cas de mortalités anormales en 1999



Légendes

- huitres plates
- naissain de *Crassostrea gigas*
- adultes de *Crassostrea gigas*
- moules *Mytilus edulis*
- coques *Cerastoderma edule*
- palourdes *Ruditapes philippinarum* ou *decussatus*
- ormeaux *Haliotis tuberculata*

1 cas : ○

1 à 5 cas : ○

5 à 10 cas : ○



Des mortalités de palourdes, naturelles et d'élevage, ont été signalées dans différents secteurs de Bretagne Nord en mars et avril : en Rance (Ile et Vilaine), sur l'ensemble du Finistère (Aber Benoît, Rade de Brest/rivière de Daoulas, Aulne, Odet ...). Pour les palourdes naturelles, les individus les plus âgés auraient été concernés. Les analyses histologiques réalisées sur plusieurs lots ne permettent pas d'expliquer ces mortalités qui s'apparenteraient aux mortalités classiques post-hivernales. (P. Goulletquer, 1989).

- En rade de Brest, dans la baie de Daoulas des mortalités de naissain d'huîtres creuses de l'ordre de 20 à 50% ont été signalées autour du 28 juillet. En baie de Morlaix, près de la rivière de Penzé, des mortalités anormales de naissain d'huîtres creuses ont été signalées fin juillet chez un ostréiculteur.

- un cas de mortalité de moule adultes a été signalé chez un professionnel de l' Aber Benoît. Des moules *Mytilus edulis* ont présenté des mortalités de 100% le 12 juillet. Ces moules de 18 mois étaient en poches sur tables. 10 tonnes ont ainsi été décimées. L'origine environnementale est peu probable : Les lots voisins ne présentaient pas de mortalité. L'origine zootechnique de ces mortalités a été par contre aussi suspectée:

*densité de moules de l'ordre de 1100 individus par poches (surdensité)

*croissance rapide

*envasement sous les tables.

Deux lots ont été prélevés le 12 juillet, l'un ayant présenté des mortalités, l'autre étant issu d'un élevage voisin sans mortalités. Le lot présentant des mortalités avait 30/30 individus très fortement infestés en *Marteilia* avec destruction de la glande digestive. le lot témoin présentait 4/30 individus fortement ou moyennement infestés par *Marteilia*. Des mortalités associées à *Marteilia* chez *Mytilus edulis* ne sont pas décrites dans les données du REPAMO ni dans la littérature scientifique. Des taux aussi importants en prévalence et en infestation sont inhabituels sur la moule. Cependant des données de 1982 montrent un épisode de mortalités importantes (83,7%) sur du naissain de moules de l'Aber Wrach d'origine irlandaise, avec une infestation de 100% par *Marteilia*. A l'époque les mortalités et la présence de *Marteilia* avaient été reliées à des surdensités très importantes lors du semis. Il n'y a pas eu d'autres cas de ce genre dépistés depuis en France.

Un contrôle sur le terrain permettra de vérifier l'absence d'autres cas de mortalités de moules. Les prélèvements effectués à cette occasion permettront, si les conditions le permettent, de vérifier le type de *Marteilia* concerné par ces mortalités. Les mortalités de moules de l'aber benoît sont restées un cas isolé. L'analyse d'un lot de moules voisin, prélevé en Septembre, a montré l'absence de *Marteilia refringens* sur ce lot.

Des mortalités d'ormeaux ont été signalées par un plongeur professionnel du côté de Roscoff. Des anomalies du pied, des kystes sur la sole ont été signalées sur des ormeaux du secteur de Trégastel en Côte d'Armor par un scientifique d'Océanopolis. Par contre il n'y a pas eu de mortalités signalées d'ormeaux du côté de St Malo, qui fait l'objet d'un suivi depuis les mortalités de 1998.

Des mortalités de moules, faibles mais continues ont été signalée fin août-début septembre par plusieurs professionnels des Baies de la Fresnaye et de l'Arguenon (au total inférieure ou égale à 10%). Ce type de mortalité est plutôt observé en juin ou en octobre-novembre les autres années.

• Bretagne Sud

Des cas de mortalité de naissain d'huîtres creuses ont été signalés fin juin en secteur de l'ordre de 50% dans le premier cas (Baie de Quiberon) et un autre sur la rivière de Crac'h,

Des mortalités de palourde ont été signalées également (Rivière de Noyal – Golfe du Morbihan). Comme pour les lots de Bretagne Nord, les analyses histologiques réalisées sur un lot ne permettent pas d'expliquer ces mortalités qui s'apparenteraient aux mortalités classiques post-hivernales.

Quatre cas isolés de mortalités d'huîtres creuses ont été signalés: un lot d'adultes en rivière d'Etel (captage 1997), fin juillet, entre 25 et 70% selon les poches ; deux lots de naissain avec début de mortalité mi-août, l'un en rivière de St Philibert et l'autre en rivière de Pénerf, enfin un troisième lot de naissain en cours de

mortalité (30% au 1^{er} septembre) en aval de la rivière de Crac'h (Trinité). Des prélèvements ont été effectués sur St Philibert et sur la Trinité.

En Vilaine, une commission de visite du gisement de coques de l'estuaire a eu lieu le 9 août 1999. Elle a constaté la présence de coques essentiellement sur la rive Sud, le long des bouchots. Pas de coques en amont de l'estuaire (rive Nord ou Sud) ni au milieu aval du chenal. Par contre, 98% de mortalité ont été constatées sur la rive Nord, le long des bouchots. Une origine environnementale de ces mortalités a été suspectée.

Au Croisic des mortalités de coques sont signalées depuis le 18 août. Les mortalités ont progressé du Nord au Sud du bassin, sur une à deux semaines. Les mortalités difficilement estimables sont cependant moins importantes qu'en 1997, de l'ordre de 35%. La croissance et l'état physiologique de ces animaux était très satisfaisant, le taux de prévalence en *Labratrema*, régulièrement suivi, très bas. Une visite a été effectuée sur le site et 5 lots ont été fixés pour analyse, les problèmes de densité et de « limu » sont en partie en cause (A. G. Martin, et al, 2000).

Des mortalités et du dégrappage de moules se sont produits en Vilaine durant l'été – La présence de *Gymnodinium chlorophorum* observée en très forte densité à certaines périodes et encore actuellement pourraient être mise en cause (dépôt de nombreuses cellules mortes et anoxie éventuelle).

Un cas signalé de mortalité rapide et importante d'un lot de palourdes européennes adultes, début août en rivière de Pont l'Abbé. Ce cas reste isolé. Les résultats d'analyse ont montré très peu d'anneau brun.

- **Vendée**

Aucun cas de mortalité anormale n'a été signalé en 1999.

- **Baie de l'aiguillon**

Un professionnel a signalé des mortalités sur différents lots de naissain de l'ordre de 80% à 20% (suivant les lots) depuis la fin du mois de juin. Une origine environnementale de ces mortalités est suspectée.

- **Charente maritime**

Quelques cas de mortalités ont été signalés en juillet :

- Des mortalités « anormales » de naissain ont été signalées du côté de la balise de GIAC, côté Marennes et des mortalités d'huîtres de 18 et 24 mois de l'ordre de 90 à 100% ont été signalées sur le banc de Craze, mais il n'y a pas eu de prélèvements réalisés. Des mortalités sporadiques d'adultes ont été déclarées, surtout en claires.
- Des mortalités de coques et de palourdes ont été signalées début août.

- **Arcachon**

Deux cas de mortalité de naissain après détroquage et mise en poche (naissain capté dans le Bassin en 98 par le professionnel lui-même) ont été signalés dans le courant du mois de juillet :

- * l'un dans le secteur du Courbey,
- * l'autre à la Réousse, parc bas.

Sur ce dernier site, la présence d'algues et zostères échouées en abondance sur le parc permettent de suspecter une origine environnementale de ces mortalités.

Des mortalités de coques ont été signalées sur un gisement naturel vers le 5 août, au Nord du Banc d'Arguin (56 % de mortalités environ). Pour le recrutement, il y a eu énormément de captage sur les tuiles, il a pu être relevé plusieurs milliers de naissains captés.

- **Etang De Thau**

Un seul cas de mortalité anormale a été signalée par un professionnel de l'étang de Thau début juin sur des lots de *Crassostrea gigas*.

La mortalité comptée était de 30% (64 vivantes – 28 mortes), les vivantes étaient généralement grasses à moyennement grasses et de longueur comprise entre 30 et 50 mm.

L'examen histologique réalisé sur 30 individus a révélé la présence chez une huître de plasmodes d'haplosporidie localisés dans le conjonctif interstitiel de la masse des diverticules digestifs. Ce type de détection d'haplosporidies chez *C. gigas* n'est pas un cas exceptionnel mais arrive à un taux de prévalence faible.

- **Etang de Leucate**

Des mortalités anormales de naissain et surtout de jeunes huîtres gigas ont été signalées sur l'étang de Leucate début juin. Une visite réalisée avec un représentant des Affaires Maritimes du quartier de Port-Vendres et un Prud'homme de Leucate a permis de constater d'importantes mortalités affectant sur certains points jusqu'à 80-90 % des individus. Toute la zone des tables était touchée (donc sans localisation particulière) mais sur le site certaines tables n'étaient pas affectées.

Les premiers examens histologiques n'ont pas mis en évidence de pathogènes susceptibles d'expliquer ces mortalités. Mais ils montraient que les huîtres étaient en période d'émission des produits génitaux.

L'analyse des données physico-chimiques (données DEL Sète) montrent que les eaux de l'étang de Leucate avait une température de 20.1 ° le 10 mai, de 22.5 ° le 31 mai suivi d'un abaissement pour atteindre 19.8° le 16 juin. Par comparaison dans l'étang de Thau la température de l'eau était en moyenne sur l'ensemble de l'étang de 19.1° le 11 mai, de 21.1° le 26 mai et de 21.4° le 22 juin.

Il semble donc que les mortalités puissent être liées à l'effet d'un « choc » thermique, avec un aggravement de la turbidité liée à la Tramontane, au moment d'un état d'affaiblissement des huîtres (reproduction) (Pichot, Y. , 2000).

Sur l'étang de Leucate les mortalités se sont arrêtées début juillet, et les professionnels ont signalé une excellente reprise de la pousse sur les survivantes.

- **Etang de Diane (Corse)**

Des mortalités d'huîtres et de moules ont été observées en Novembre, l'explication environnementale a été retenue (Y. Pichot, 2000).

2.3.3.3/ mortalités signalées sur *Crassostrea gigas*

Seuls les résultats réalisés par d'autre technique que la PCR pour la détection de virus de type herpes d'huîtres sont indiqués ici .

- **Analyses sur adultes**

Zones	site	Mois	Type d'élevage	Nb individus analysés	Résultats
1	Etang de Diane	Novembre	Suspendu	30/ histo	RAS
3	Etang de Thau	Juin	Suspendu	31/ histo 30/ PCR (6x5)	1/31 Haplosporidie 6-/6
6	Lauzière	Mars		60/ Histo	7/60 Mytilicola 3/60 Cilié 1/60 Rickesttsie
	Banc de Ronce	Mai	A plat	3/ Histo	1/3 Cilié
	Arvert	Novembre		29/ Histo	20/29 Atrophie des

		Novembre		30/ Histo	épith des DD 2/29 Mytilicola 1/29 Métazoaire indéterminé 18/30 Atrophie des épith des DD
		Novembre		30/ Histo	7/30 Atrophie des épith des DD 4/30 Mytilicola 1/30 Trichodine
	Dolus	Décembre	Claire	27/ Histo	27/27 Gd mal conservée 9/27 Atrophie des épith des DD 4/27 Cilié 3/27 Trichodine
	Aber Wrac'h	Mars	Capt 97 poche	30/Histo 90/macro	5/30 Erosion div. 29/90 <i>Mytilicola</i>
	Cancale	Avril	Capt 97 poche	30/histoHisto	1/24 érosion diverticule 1/24 métazoaires 3/24 ciliés
	Riv. Etel	Août	Capt poche	30/ Histo et macro	1/29 rickettsies 1/29 <i>Trichodina</i> 1/29 bactéries 2/29 anom. Nucléaires 3/29 nécrose micr. 13/29 inflammation 30/30 <i>Polydora</i> 2/30 <i>Mytilicola</i> 2/30 tache sur manteau
	Riv. Pénerf	Octobre	Capt 96 Poche puis bassin	30/ macro et Histo 3/ HIS	3/30 anom. Nucléaires 1/30 ciliés 1/30 <i>Mytilicola</i> 1/30 métazoaires 11/30 érosion div. 0/3 Virus herpes(HIS)
	Riv. Pénerf	Octobre	Capt 97 Poche	31/ Histo	1/31 <i>Mytilicola</i> 2/31 <i>Myicola</i> 1/31 infiltration 1/31 ciliés 15/31 nécrose micr. 11/31 atrophie div.

9	Baie des Veys	Mars	Télécapt. 96 Poche	15 / HE 15 / Feulgen macro	RAS RAS 1/30 <i>Mytilicola</i>
	Baie des Veys	Mars	Capt 96 Arcachon Poche	15 / HE 15 / Feulgen macro	3/15 <i>Mytilicola</i> RAS 4/30 <i>Mytilicola</i>

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. La détection d'haplosporidies, qui sera identifiée par HIS est à comparer aux lots qui ne présentent pas de mortalités, et présentent aussi à un taux faible, ce parasite.

- huîtres creuses naissain et jeunes
- 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.

Zones	sites	mois	Type d'élevage	Nb individus analysés	Résultats
4	Etang de Leucate	juin	suspendu	30 histo 20 PCR (4x5) 20 PCR (4x5) 30 PCR (6x5) 30 PCR (6x5) 30 PCR (6x5) 30 PCR (6x5)	1/30 <i>Mytilicola</i> 4-/4 4-/4 2+/6 6-/6 6-/6 6-/6
5	Grand banc	Avril	Naissain en poches (problème croissance)	30 PCR 30 Histo	6/6 nég 1/28 haplo 4/28 ciliés
	Courbey	Juillet	Naissain en poches	30 PCR 30 histo	1 lots 6/6- 5/30 <i>Mytilicola</i> 3/30 <i>Mycicola</i> 1/30 <i>Rickettsia</i> 1/30 Métazoaire ind. 1/30 Trichodine
	Arcachon	Juillet	Naissain en poches	30 PCR 30 Histo	1 lot 6/6- 1/30 <i>Rickettsia</i> 2/30 Ciliés

	Lahillon	Juillet	Naissain en poches	30 PCR 30 Histo	4/30 Atrophie des épith des diverticules digestifs 1/30 Métazoaire enkysté 1 lot 6/6-6/30 Cilié 1/30 Mytilicola 1/30 Myicola 13/30 Atrophie des épith des diverticules digestifs
	Reousse	Juillet	Naissain en poches	30 PCR	1 lot 6/6-
6	Baie de L'Aiguillon	Juillet	Naissain en poches	30 PCR 30 Histo	1 lot 6/6 – 3/30 Atrophie des épith des diverticules digestifs 1/30 Cimié 1/30 Myicola 1/ Rickettsie
	Baie de L'Aiguillon	Juillet	Naissain en poches	30 PCR 30 Histo	1 lot 6/6- 3/30 Rickettsie 1/30 Anomalies nucléaires
	Baie de L'Aiguillon	Juillet	Naissain en poches	30 PCR 27 Histo	1 lot 6/6- 7/27 Anomalies nucléaires 5/27 Conjonctifs enflammés 1/27 Ciliés
8	Baie de Quiberon	Juin	Ecloserie Poche	30/Histo	23/30 Anom. Nucléaires 7/30 susp. Virus herpès 1/30 <i>Mytilicola</i> 1/30 ciliés
	Riv. Crach	Juin	Naissain Charente Poche	30/PCR	5 positifs sur 6 pools de 5
				26/Histo	25/26 anom. Nucléaires 1/26 susp virus herpès 3/26 <i>Mytilicola</i>
				30/PCR	1 pool positif sur 6 pools de 5

		Déb. Juillet	Naissain Charente Poche	30/PCR	0/ 6 pools de 5
		Fin Juillet	Naissain Charente Poche	30/PCR	0/ 6 pools de 5
	Riv. Crach	Juin	Naissain Charente Poche	30/PCR	0/ 6 pools de 5
		déb Juillet		30/PCR	0/ 6 pools de 5
		Fin Juillet		30/PCR	0/ 6 pools de 5
	Riv. Crach	Septembre moribondes	Naissain Charente Poche	30/PCR	2 pools positifs sur 6 pools de 5
		vivantes		30/PCR	0/ 6 pools de 5
	Riv. St Philibert	Août	Naissain Marennes Poche	32/Histo	25/32 anom. Nucléaires 3/32 ciliés 1/32 <i>Myicola</i> 1/32 <i>Mytilicola</i> 2/32 <i>Trichodina</i> 9/32 érosion div. 1/32 haplosporidies
				30/PCR	2 pools positifs sur 6 pools de 5
9	Est Cotentin	Août	Ecloserie Poche	34/Histo	2/34 <i>Mytilicola</i> 1/34 <i>Trichodina</i> 20/34 noyaux marginalisés 3/34 bactéries 4/34 nécrose micr. 8/34 atrophie div. 1/34 susp. Virus herpès
	Ouest Cotentin	Août	Naissain Marennes Poche	12/Histo	5/12 anom. Nucléaires 3/12 atrophie diverticules
				30/PCR	négatif sur 6 pools de 5

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 et Hexamita sont considérés comme des opportunistes.
- Les deux cas d'haplosporidie détectés est à rapporter à ce qui a été évoqué au cours du suivi de base. L'Hybridation in situ a confirmé qu'il s'agissait bien d'*Haplosporidium nelsoni*. Les taux d'infestation et de prévalence, ainsi que le nombre de lots concernés est très faible. L'effort mis en histologie sur les mortalités de naissain est probablement à l'origine de ces observations. Les lots sans mortalité ne présentent pas moins d'*Haplosporidium nelsoni*.

2.3.3.4. Ormeaux

sites	mois	Type d'élevage	Nb individus analysés	Résultats
9	août	écloserie	• 28/ histo et bactério	• 3/28 avec foyers bactériens et infiltration associée dans le pied
8 (Roscoff)	août	sauvages	• 5/ histo	• 1/5 foyer bactérien dans le pied avec infiltration • 2/5 infiltration dans le pied
9	août	écloserie	• 10 / histo	• 1/10 avec foyers bactériens et infiltration associée dans le pied
9 (Chausey)	septembre	sauvages	• 5 / histo	• 5/5 RAS

Un agent a pu être isolé en milieu confiné, il s'agit de *Vibrio Carchariae* (J.L. Nicolas). La reproduction expérimentale a été effectuée avec succès (Basuyaux et al, 1999). Les animaux de l'écloserie étaient originaires de sites ayant montré par la suite des mortalités. Par contre il n'est pas évident que le problème soit le même dans le milieu naturel, car souvent les agents pathogènes en écloserie ne le sont pas en milieu ouvert, d'une part, et d'autre part cette bactérie est probablement présente à l'état naturel dans l'environnement. La mise en évidence que cet agent est effectivement responsable de mortalités dans le milieu naturel depuis 1997-1998 demande le développement d'outils qui ne sont pas encore disponibles. Une étude sera mise en place en 2000 par IFREMER, afin de mieux comprendre ce qui se passe dans les sites où des mortalités ont été observés. *Vibrio Carchariae* a déjà été isolé au cours d'un épisode de mortalité en écloserie sur des ormeaux japonais (Nishimori E *et al*, 1998).

2.3.3.5. autres espèces

- Analyses sur adultes *Ostrea edulis*

Zones	sites	mois	Type d'élevage	Nb individus analysés	Résultats
3	Etang de Thau	Juillet	Suspendu	30 histo	22/30 <i>Marteilia refringens</i> 5/30 Rickettsie 3/30 ciliés

Les taux de *Marteilia refringens* et les niveaux d'infestation observés en Méditerranée sont compatibles avec les mortalités observées.

- Analyses sur jeunes *Ostrea edulis*

Zones	sites	mois	Type d'élevage	Nb individus analysés	Résultats
3	Etang de Thau	avril	Suspendu	30 histo	4/30 <i>Marteilia</i>

Les taux de *Marteilia refringens* et les niveaux d'infestation observés en Méditerranée sont compatibles avec les mortalités observées.

- *Mytilus edulis*

Zones	sites	mois	Mode élevage	Nb individus analysés	Résultats
1 (galloprovincialis)	Etang de Diana (Corse)	novembre		30 histo	10/30 <i>Mytilicola</i>
8 (<i>Mytilus edulis</i>)	Aber Benoît	Juillet	Irlande Marennes Aber (panier)	30/Histo	30/30 <i>Marteilia</i> 1/30 pinnothère
	Baie Arguenon	Septembre	Adultes sur bouchots	29/Histo	3/29 néoplasie 15/29 <i>Mytilicola</i>
	Baie Fresnaye Vilaine	Septembre	Adultes sur bouchots	30/Histo	3/30 néoplasie 1/30 rickettsies 1/30 métazoaires 20/30 <i>Mytilicola</i>
	Maresclé, Vilaine Pont Mahé, Vilaine	Septembre Septembre	Adultes sur bouchots Adultes sur bouchots	15/Histo 15/Histo	6/15 ciliés 2/15 <i>Mytilicola</i> 1/15 grégarines 3/15 ciliés

LOTS TEMOINS DU LOT A MORTALITE DE L'ABER BENOIT					
8 (<i>Mytilus edulis</i>)	Aber Benoît (<i>Mytilus edulis</i>)	Aout	Adulte origine France voisins du lot à mortalité	60/ Frottis	13/60 <i>Marteilia</i>
		Aout		30/ Frottis	10/30 <i>Marteilia</i>
		Aout		30/ Frottis	9/30 <i>Marteilia</i>
		Aout		29/ Histo	4/29 <i>Marteilia</i> 1/29 Trématode 1/29 Grégarine

Si on compare les lots de moules pris à quelques mètres du lot à mortalité on se rend compte de deux différences flagrantes :

- L'origine des animaux
- Le taux et le niveau d'infestation différent en *Marteilia refringens*.

Dès la découverte du lot à mortalité associé à *Marteilia refringens*, une étude a été menée afin de savoir si la souche était comparable à celle qui est habituellement détectée en France, afin de prévenir toute extension du

problème. Cette étude a été menée par F. Le Roux, qui a confirmé que la souche de *Marteilia* sur les lots voisins du lot à mortalité était semblable à celle qui est observée habituellement en France (les moules irlandaises ayant disparu en totalité). D'autre part des lots ont été prélevés à proximité du lot présentant des mortalités, 1 mois et 2 mois après le problème : il n'a pas été observé d'anomalies, ni en terme de mortalités, ni en terme de niveau de *Marteilia refringens*. La seule explication du phénomène était soit une mauvaise zootechnie, soit une sensibilité particulière des moules irlandaises, soit une combinaison des deux. Un rapport détaille les modalités de cette enquête, menée en collaboration avec les Affaires Maritimes locales et les professionnels de l'Aber (A, Thébault et al, 1999). Une étude sera menée en 2000 afin de confirmer l'origine de ces mortalités.

Les autres cas de mortalités étaient des mortalités chroniques, inférieures au seuil légal des mortalités anormales, c'est à dire de l'ordre de 10% par mois. Il sera difficile de conclure entre un mauvais environnement et l'impact d'un pathogène, même si le taux de néoplasie est relativement important sur certains lots. La néoplasie pouvant induire dans certains cas, et à un stade avancé, des mortalités.

L'origine de ces néoplasies sur la moule n'est pas clairement identifiée, entre un problème infectieux ou environnemental.

Le Trématode en cause est rappelé dans la partie suivi de base.

- mortalités anormales de *Cerastoderma edule*

Zones	sites	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
5	Banc d'Arguin	Aout	Adulte	10/ Etat frais 31/ Histo	10/10 Meio 4/31 Meio 8/31 Himastla 11/31 Grégarine 8/31 Rickettsie 2/31 Foyers bactériens
6	Ronce	août	adultes	10/ Etat frais 28/histo	10/10 Meio 9/ 28 sporocystes <i>Labratrema</i> 17/28 greg dans branchies 11/28 greg dans GD 2/28 Rickettsies dans branchies 1/28 Rickettsies dans GD 1/28 Paravortex
8	Forêt Fouesnant	Septembre	Gisement riv. Pont l'Abbé mis sur parc au sol	15/Histo	1/15 hématosarcome 1/15 copépodes 1/15 ciliés 1/15 <i>Trichodina</i> 7/15 rickettsies 5/15 <i>Himasthla</i> 4/15 <i>Meio</i> 13/15 grégarines
	Riv. Pont l'Abbé	Septembre	Gisement riv. Pont l'Abbé Enfouies	12/Histo 15/Etat frais	6/12 copépodes 1/12 rickettsies 5/15 grégarines 2/12 <i>Meio</i> 5/12 <i>Paravortex</i> 6/15 <i>Paravortex</i>

	Forêt Fouesnant	Septembre	Gisement riv. Pont l'Abbé Remontantes	13/Histo	8/15 <i>Mei</i> 1/13 copépodes 7/13 grégarines 4/13 <i>Meio</i> 5/13 <i>Paravortex</i> 1/13 <i>Trichodina</i> 1/13 <i>Himasthla</i> 6/13 érosion diverticule
	Le Croisic	Août	Elevage Petit traict N (Naissain gisement Vilaine) enfouies	32/Histo	1/32 granulation cellulaire 10/32 nécrose microsc. 4/32 infiltration 1/32 bactéries 1/32 rickettsies 21/32 grégarines 4/32 turbellarié 10/32 <i>Meio</i> 1/32 <i>Trichodina</i> 2/32 <i>Himasthla</i> <i>continua</i> 5/32 métazoaires
	Le Croisic	Août	Elevage Petit traict N (Naissain gisement Vilaine) remontantes	11/Histo	11/11 nécrose microsc. 1/11 infiltration 1/11 rickettsies 11/11 <i>Meio</i> 1/11 <i>Himasthla</i> 1/11 métazoaires 4/11 <i>Labratrema</i>
	Le Croisic	Août	Elevage Petit traict N (Naissain gisement Vilaine) enfouies	27/Histo	2/27 infiltration 1/27 rickettsies 15/27 <i>Meio</i> 2/27 <i>Himasthla</i> 2/27 métazoaires 19/27 grégarines 4/27 turbellarié
	Le Croisic	Août	Elevage Petit traict S (Naissain gisement Vilaine) enfouies	30/Histo	4/30 hématosarcome 6/30 <i>Paravortex</i> 7/30 <i>Meio</i> 11/30 grégarines
	Le Croisic	Août	Elevage Grand traict (Naissain gisement Vilaine) remontantes	26/Histo	5/26 hématosarcome 4/26 infiltration 1/26 inflammation 4/26 <i>Meio</i> 12/26 grégarines 1/26 <i>Labratrema</i>

	Vilaine	Août	Gisement Jeunes coques	15/Etat frais 23/Histo	6/15 Meio 9/23 gregarines 6/23 rickettsies 1/23 copépodes
--	---------	------	---------------------------	---------------------------	--

La stratégie cette année a été de comparer des animaux enfouis et remontants, comme cela avait pu être fait dans certaines études sur les facteurs de mortalité des coques, à ceci près que seuls les trématodes avaient pu être suivis.

Dans certains cas l'infestation en *Labratrema minimus* semble bien être un facteur de risque pour la coque. La difficulté reste le moment du prélèvement par rapport aux mortalités.

Des hématosarcomes sont décrits pour la première fois au Croisic, à un niveau non négligeable. Ceci n'est pas dû à un biais d'observation car ni la technique d'analyse, ni l'observateur, n'a changé. Certaines origines d'approvisionnement ont pu changer, depuis les problèmes d'approvisionnement en Vilaine. Cette maladie est notamment présente en Bretagne Nord. L'origine infectieuse de ces hématosarcomes est fortement suspectée. Cette maladie évolue lentement, mais aurait pu être à l'origine de mortalités dépassant les 30%. (Auffret, M., Poder, C., 1986)

- Mortalités *Ruditapes decussatus*

Zone	Zone (site)	Mois du prélèvement	Age, Origine et mode élevage	technique	Résultats par lots
8	Aulne	Avril	Gisement	15/Histo 30/Macro	3/15 métazoaires 5/15 rickettsies 0/30 Anneau brun
	Riv. Pont l'Abbé	Septembre	Gisement Lot mis sur parc au sol	30/Histo 56/Macro	7/30 Perkinsus atl. 1/30 métazoaires 2/30 rickettsies 1/30 grégarines 2/30 sporocystes ind. 7/30 <i>Himasthla</i> 6/30 <i>Paravortex</i> 2/56 Anneau brun
9	9 (Blainville)	Septembre	Gisement mis en éclosion	10/Histo 10/Macro	2/10 rickettsies 7/10 Anneau brun

Le taux de *Perkinsus atlanticus* et le taux d'anneau brun n'explique pas vraiment les mortalités observées à Pont L'abbé. Là encore il peut s'agir d'un biais d'échantillonnage lié au moment du prélèvement par rapport aux mortalités.

Le taux d'anneau brun observé à Blainville est important, même si l'échantillonnage est plutôt faible. La correspondance avec le VP1 est probable, pourrait expliquer les mortalités, car au moins en terme de pathogènes, l'anneau brun n'est pas expliqué autrement par les pathogènes observés en histologie. Il faut savoir que vu l'état moribond des animaux, une suspicion bactérienne est difficile à établir par histologie sur les mollusques.

• mortalités de *Ruditapes phillipinarum*

Zones	sites	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
6	Gallon D'Or	Aout		11/ Etat frais	6/11 Meiog
				30/ Histo	5/30 Meiog 15/30 Grégarine 4/30 Rickettsie 1/30 Paravortex 1/30 Trichodine 6/30 Anomalies nucléaires
	Ronce	Aout		6/ Etat frais	6/6 Meiog
				28/ Histo	12/28 Meiog 9/28 sporocystes 28/28 Grégarine 3/28 Rickettsie 1/28 Turbellarié 6/28 Anomalies nucléaires
8	Golfe Morbihan	Mai	Gisement	30/Histo	3/30 Perkinsus atl. 2/30 <i>Paravortex</i> 3/30 métazoaires 14/30 rickettsies 0/30 Anneau brun
				30/Macro	
	Golfe Morbihan	Mai	Gisement	29/Histo	1/29 nécroses micr. 9/29 rickettsies 0/30 Anneau brun
				30/Macro	
	Odet	Mars	Gisement	8/Histo	2/8 Perkinsus atl. 3/8 rickettsies 0/30 Anneau brun
				30/Macro	
	Rade de Brest	Décembre	Italie- > sol à Etel -> bassin à Brest Adultes (branchies noires)	8/Histo 8/Macro	6/8 Perkinsus atl. 2/8 <i>Paravortex</i>
	Rance	Mai	Gisement	30/Histo 8/Etat frais 30/Macro	3/30 métazoaires 6/30 rickettsies 5/8 <i>Paravortex</i> 0/30 Anneau brun
St Philibert	Janvier	Adultes en bassin	10/Histo 10/macro 10/Etat frais 25/Macro	7/10 Perkinsus atl. 0/10 Anneau brun 2/10 <i>Paravortex</i> 0/25 Anneau brun	
St Philibert	Janvier	Origine Italie Adultes en bassin	10/Histo 10/macro 10/Etat frais 25/macro	2/10 Perkinsus atl. 1/10 métazoaires 0/10 Anneau brun 5/10 <i>Paravortex</i> 0/25 Anneau brun	

Les échantillonnages étaient inférieurs à ce qui habituellement requis, ce qui influe sur la précision de l'estimation de la prévalence. Les taux et les niveaux d'infestation en *Perkinsus atlanticus* observés sur des palourdes en bassin peut expliquer dans une certaine mesure les mortalités observées. Les comparaisons entre sites, ou bassins / milieu naturel sont difficiles car les dates de prélèvement diffèrent. Le VP1 ne semble pas en cause, si l'on en croit l'examen macroscopique, dans les mortalités de *Ruditapes philippinarum*.

- *Clamys varia*

Zones	sites	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
3	Etang de Thau	décembre	Jeune (4)	6 histo	Aucun agent détecté

- *Glycimeris glycimeris*

<i>Glycimeris glycimeris</i>	Zone (site)	Origine et mode élevage	Mois du prélèv.	Techn.	Résultats par lots
Trinité	8 (St Brieu) étude	Sauvage	Septembre	29/Histo 30/macros	2/29 Rickettsies. 1/29 noyaux hypertr.. 2/29 nécrose microsc. 6/30 pinnothère

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

- Pour exportation

Espèce	Zones d'analyse	origine	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
<i>O. edulis</i>	3	Paimpol	novembre	24	30 frottis	RAS

- Contrôle

Espèce	Zones d'analyse	origine	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
<i>O. edulis</i>	3	Galice (Espagne)	septembre	26	30 histo	RAS
<i>C. gigas</i>	6	Irlande	Mars	• adultes	• 10/ Histo	• 1/10 cilié

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

Espèce étudiée	Nb indiv (nb lots)	programme	Méthode d'analyses	Laboratoire concerné	Pathogènes détectés
<i>C. gigas</i>	60 en 2 lots	densité	30 histo 30 PCR (6x5)	Palavas	3/30 Mytilicola 6-/6
<i>O. edulis</i>	810 en 35 lots	Relance HP Thau	174 histo 521 frottis 115 PCR (23x5)	Palavas	6/174 Marteilia 1/174 Rickettsie 6/174 ciliés 182/521 Marteilia 2/521 Bonamia 23-/23
<i>Ostrea. edulis</i>	240 (8) -	Génétique - Normandie	Frottis	Trinité	<i>Bonamia ostreae</i> Haplosporidies (1 cas)
<i>Ostrea. edulis</i>	441 (13) -	Génétique - Bretagne	Frottis	Trinité	<i>Bonamia ostreae</i> Haplosporidies (1 cas)
<i>Ostrea. Edulis</i>	60 (0)	Génétique Ecloserie-nurserie	PCR	Trinité	0/60
<i>Crassostrea rhizophorae</i>	4	Conservatoire de souche (Sénégal)	histologie	Tremblade	3/ 4 spores de grégaires
<i>O. edulis</i>	28	Génétique (Croatie)	Histologie	Tremblade	4/28 Cilié 3/28 Néoplasie 1/28 Rickettsie
<i>C. gigas</i>	21	Labo réf (Mexique)	Histologie HIS	Tremblade	2/21 suspicion et confirmation Herpès
<i>C. angulata</i>	30	Génétique (F1 de géniteurs espagnols)	Histologie / Hybridation in-situ sur 3 Ax	Tremblade	30/30 Anomalies nucléaires 1/30 Haplosporidie 1/30 Mytilicola
<i>C. gigas</i>	30	Génétique	PCR	Tremblade	1 lot 6/6 –
<i>C. gigas</i>	30	Génétique	PCR	Tremblade	1 lot 6/6 –
<i>C. sikamea</i>	8	Génétique	Histologie	Tremblade	8/8 RAS
<i>C. gigas</i>	4 lots de Larves	Manip Arcachon	PCR	Tremblade	4 lots 1/1-

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, à l'exemple de la Croatie ou du Mexique. 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*. De même sur *Crassostrea angulata*, la présence d'Haplosporidies ou d'anomalies nucléaires (suspicion herpès) est suivie par des travaux de taxonomie.

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

répartition par espèces :

ESPECE	B O N A M I A	M A T E I L I A	H A P L O S I P O S I D I E S	P E R K I N D I E S A T L A	C O R C I D I E S	V I R C U S H E R P E S *	H Y P E R P L A S I E H E M O	V I B E R I O *	B A C T E R I E S I N D	R I C K E T S I E S	C I L I E S	G R E G A R I N E S	T R E M A T O D E S	M E T A Z O A I R E S I N D	A N N E A U B R U N	M Y T I L I C O L A	T U R B E L L A R I E	T R I C H O D I N E S	P O L Y D O R A *	P I N N O T H E R E S *
<i>Crassostrea gigas</i>		P*	P			P			P	P				P		P		P	P	
<i>Crassostrea angulata</i>			P													P				
<i>Ostrea edulis</i>	P	P	P				P			P	P			ces tod es						
<i>Mytilus edu</i>		P	P				P			P	P	P	P	P		P				P
<i>Mytilus gallopro</i>		P					P			P	P	P	P			P				P
<i>Cerastoderm a edule</i>			P		P		P			P	P	P	P	P		P	P	P		
<i>Ruditapes dec. et phi</i>			P	P	P				P	P	P	P?	P	P	P			P	P	
<i>Haliotis tuberculata</i>								P							P					
<i>Pecten maximus</i>										P					P					
<i>Mercenaria mercenaria</i>										P										
<i>Venerupis aurea</i>			P												P					
<i>Venerupis lamellosa</i>										P					P					

Légendes :

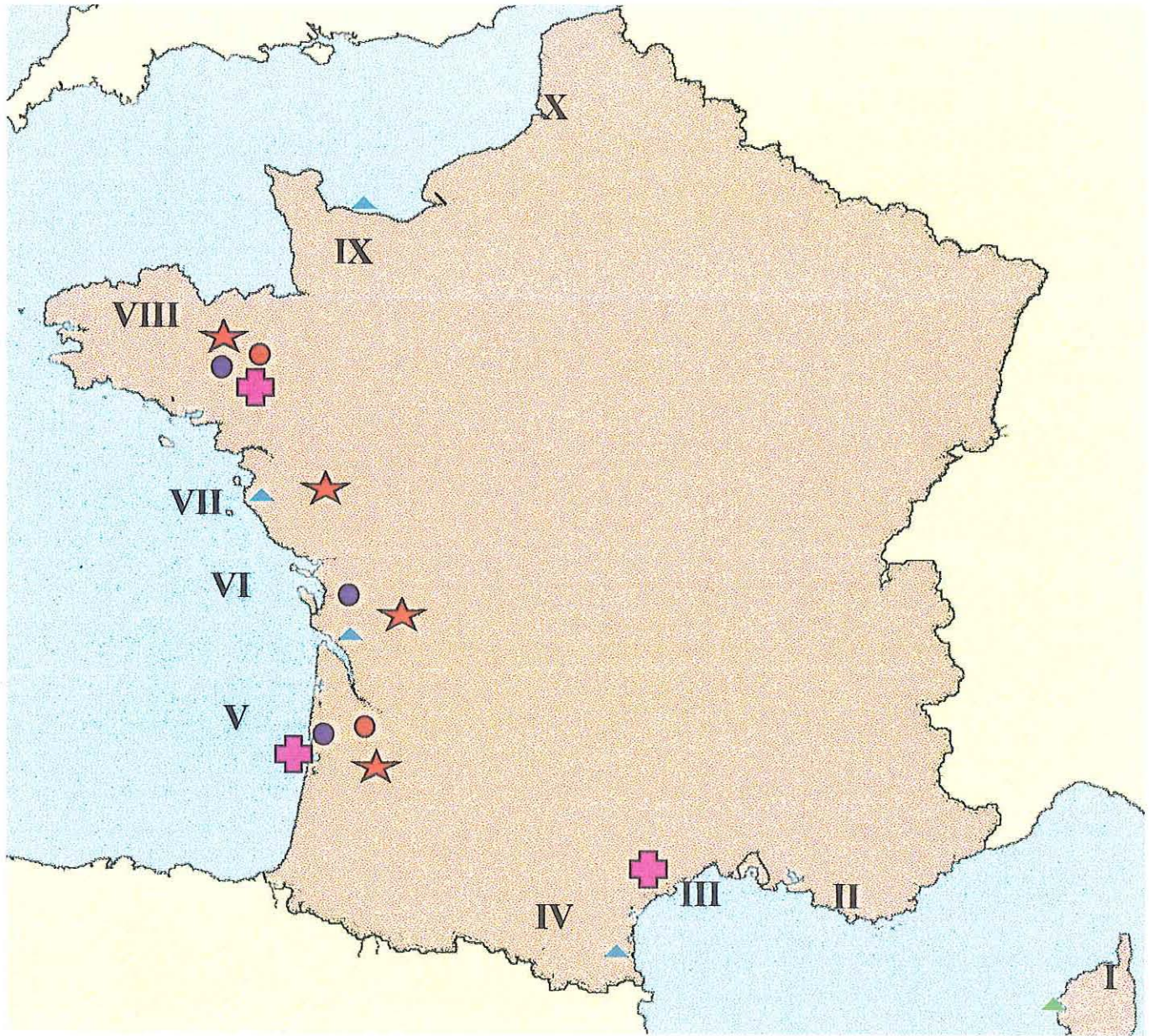
- P : présent sur un des lots au cours du suivi du REPAMO.
- les agents marqués d'un * ne sont pas systématiquement relevés, soit qu'ils soient considérés comme des opportunistes, et non comme des agents pathogènes, soit que la technique d'analyse adaptée ne soit pas effectuée en routine sur certaines espèces.
- ** : la présence de *Marteilia* sur *C. gigas* doit être considérée comme une forme non infectante et non contagieuse.

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 9.
- 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 symbiotes 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.**
 - Pour *Crassostrea gigas* en annexe 11.
 - Pour *Mytilus edulis* et *galloprovincialis* en annexe 12.
 - Pour *Cerastoderma edule* en annexe 13.
 - Pour *Ruditapes decussatus* et *philippinarum* en annexe 14.

ANNEXE 11 : Répartition géographique des agents observés sur *Crassostrea gigas* en 1999

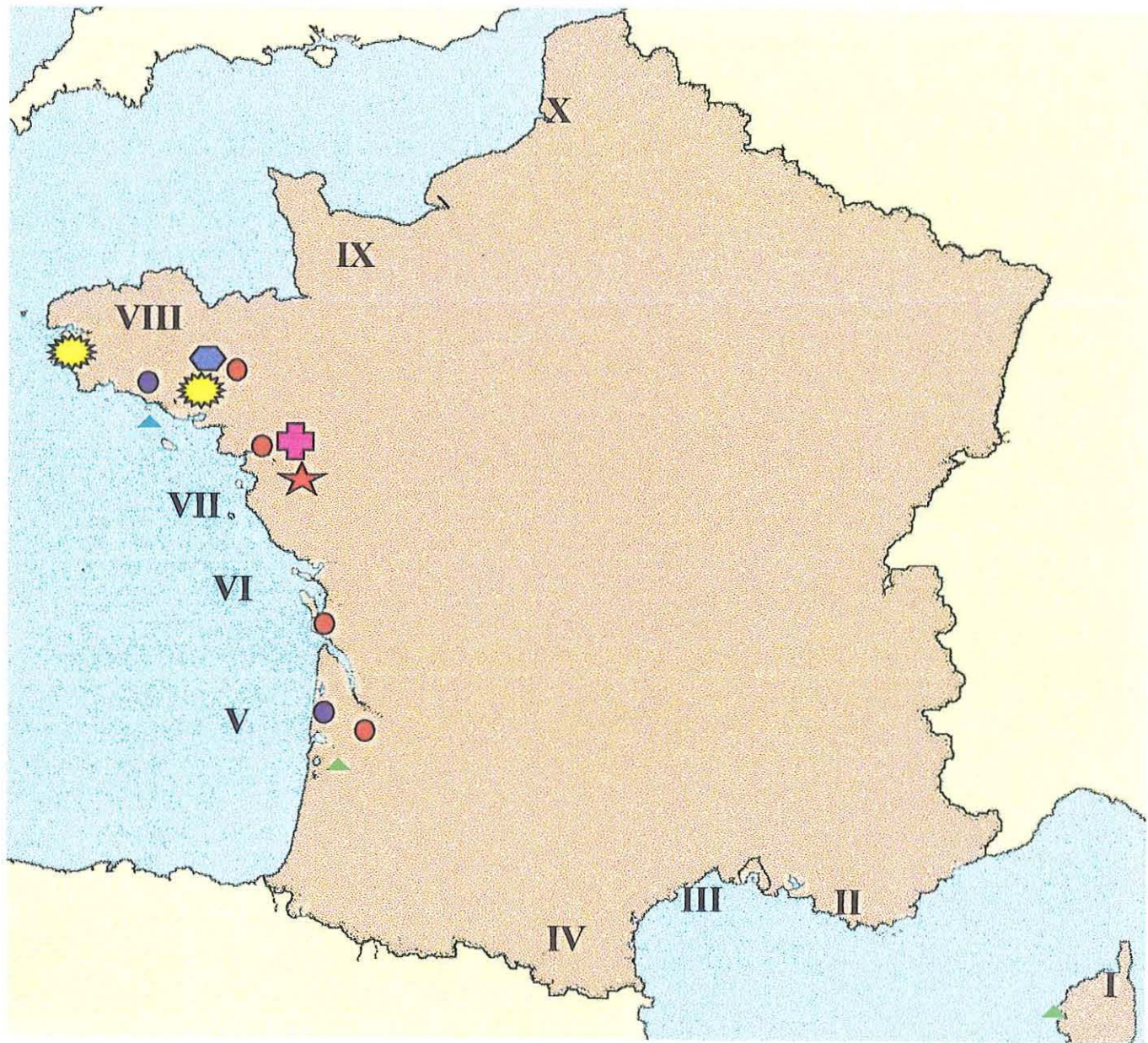


Légendes



Mytilicola
Métazoaire non identifié
Rickettsies
Haplosporidies
Myicola.

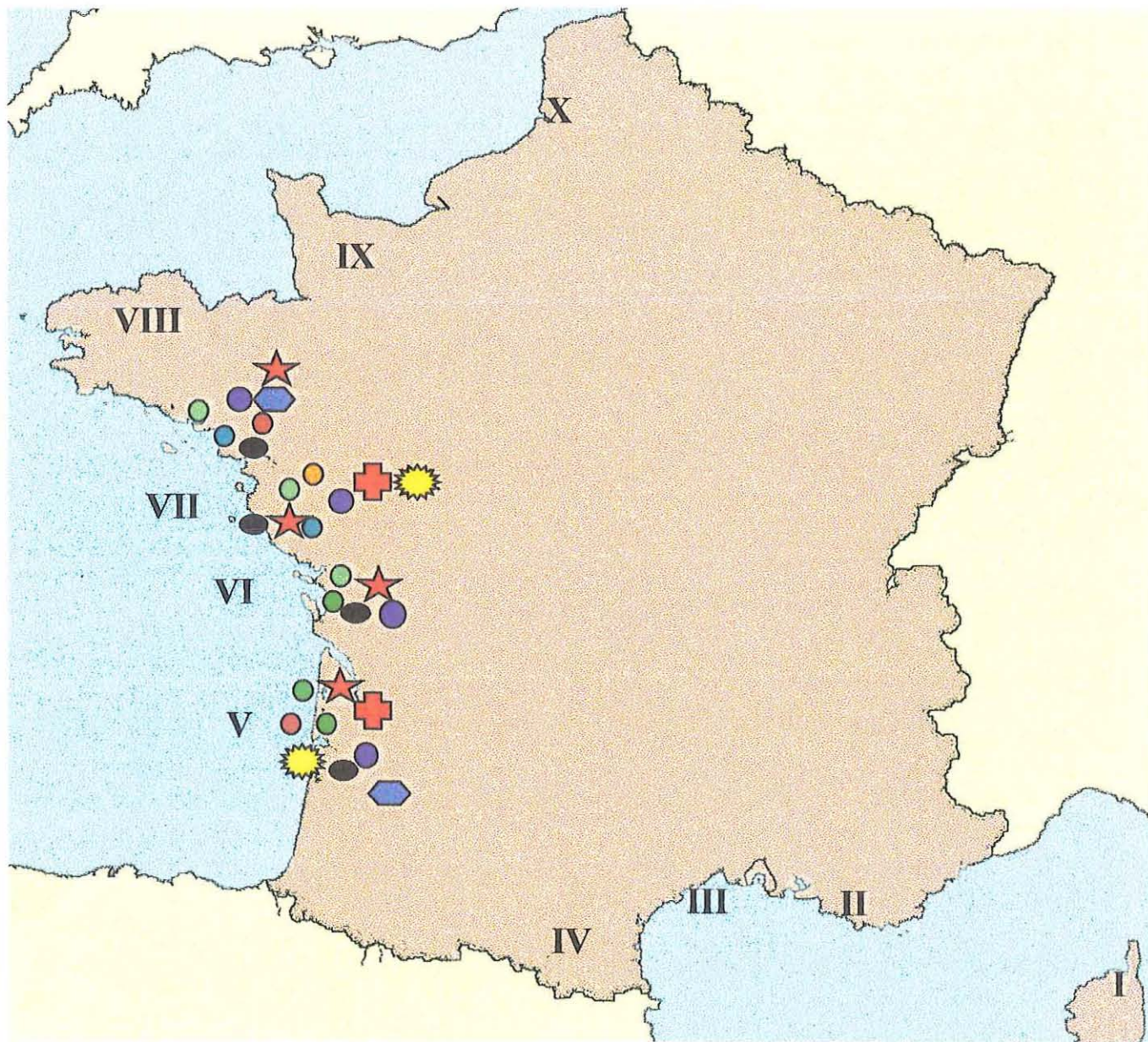
ANNEXE 12 : Répartition géographique des agents observés sur *Mytilus edulis* en 1999



Légendes

-  Trématodes
-  Hyperplasie hémo. aty.
-  Marteilia
-  Rickettsies
-  Haplosporidies
-  Mytilicola
-  Métazoaires ind.

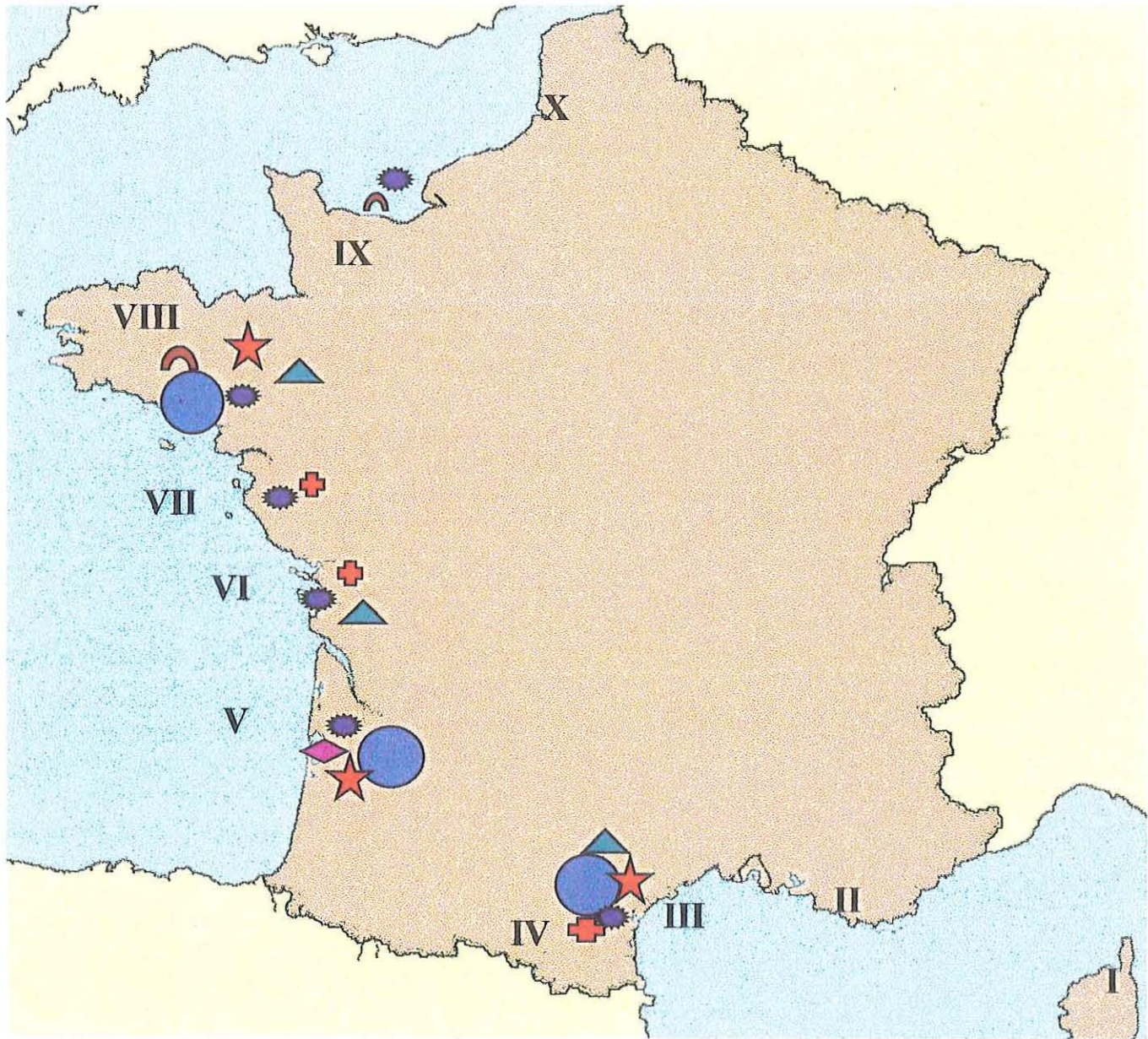
ANNEXE 13 : Répartition géographique des agents observés sur *Cerastoderma edule* en 1999



Légendes

- | | | | |
|---|------------------------|---|--------------------|
| + | Haplosporidies | ★ | Trématodes (Labra) |
| ⬡ | Hyperplasie hémo. aty. | ● | <i>Mytilicola</i> |
| ☀ | Coccidies | ● | Grégarines |
| ● | Rickettsies | ● | Métazoaires ind. |
| ● | Trématodes (Meio) | | |
| ● | Trématodes (Hima) | | |

ANNEXE 14 : Répartition géographique des agents observés sur des gisements naturels de *Ruditapes decussatus* et *philippinarum* en 1999



Légendes

- | | | | |
|---|-----------------------------|---|--------------------|
| + | Haplosporidies | ▲ | Trématodes |
| ● | <i>Perkinsus atlanticus</i> | ◆ | calcification pied |
| ⤿ | Anneau brun | | |
| ★ | Rickettsies | | |
| ★ | Métazoaires ind. | | |

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les résultats de ce rapport sont une synthèse des rapports annuels des trois cellules de veille zoosanitaire du réseau, préparés par Yves Pichot pour la zone Méditerranée, Bruno Chollet et Anne Thébault, pour la zone Atlantique sud, Anne Geneviève Martin *et al* (2000) pour la zone Atlantique Nord.

Les volumes d'analyse a diminué en 1999 pour atteindre probablement un niveau d'équilibre autour des 12 000 analyse. Ceci est surtout dû à la diminution du nombre d'analyses de PCR, en essayant d'optimiser l'utilisation au mieux ce type d'analyse. La réorganisation de la cellule de veille de la Trinité en est aussi à l'origine. Le réseau d'essai a donné, une fois encore, des résultats satisfaisants mais qui n'ont pu être réalisés qu'entre deux cellules. Les analyses réalisées n'ont pas mis en évidence de nouvel agent pathogène ou d'agent pathogène exotique.

Le suivi des mortalités anormales a permis dans deux cas précis de répondre précisément et relativement complètement au problème posé, en écartant tout risque potentiel : il s'agit en particulier du cas des ormeaux et des moules. Le suivi des huîtres *Crassostrea gigas* s'est accru, dans les zones de captage, et sur différentes classes d'âge. Mais cette année il n'y pas eu, fort heureusement, de problème particulier ni sur le recrutement ni sur la production en élevage.

L'utilisation de la liste REPAMO, via intranet et des Bulletins de mortalité estivale ont été de nouveau particulièrement appréciée, permettant d'amélioration de la qualité et la vitesse de communication, de première importance pour les tâches d'épidémiologie. La base de données confidentielle de pathologie est aussi devenue opérationnelle dans les trois cellules.

Même si le réseau de surveillance national des mollusques français est le plus important, de ce type, en Europe, certains points seront améliorés dans le suivi de l'an 2000.

Les principaux aspects qui devront encore être revus sont les suivants :

- Le suivi de base des gisements et des élevages, notamment pour *C. gigas*. Le choix de dates similaires de prélèvements permettra une meilleure comparaison entre zones, de nombreuses contraintes techniques n'ont pas permis de résoudre ce point, complètement, en 1999.
- Etude de la prévalence des haplosporidies sur la production en élevage de *Crassostrea gigas*.
- Etude de la mise en place des différentes techniques d'Hybridation in situ et de bactériologie dans les différentes cellules de veille
- Suivi des mortalités anormales : la sensibilisation des différents partenaires du réseau devra être accentuée, de même que la standardisation des procédures.

La stratégie du réseau évolue vers une démarche de plus en plus active : en terme d'échantillonnage, puisque un certain nombre de suivis sur le terrain sont désormais en place, en terme de collaboration, notamment avec les laboratoires qui s'occupent de la qualité du milieu marin, en terme de sensibilisation, enfin, à la fois vers les professionnels et les autres instances administratives.

LISTE DES ANNEXES ET DES PHOTOGRAPHIES

- **Annexe numéro 1** : Caractères particuliers du suivi zoosanitaire des mollusques marins
- **Annexe numéro 2** : Les différentes zones du REPAMO
- **Annexe numéro 3** : Le fonctionnement du REPAMO
- **Annexe numéro 4** : Les laboratoires IFREMER participant au REPAMO
- **Annexe numéro 5** : Les méthodes d'analyse du REPAMO
- **Annexe numéro 6** : Principaux résultats des analyses de *Bonamia ostreae* sur des adultes *Ostrea edulis* en 1999
- **Annexe numéro 7** : Principaux résultats des analyses de *Marteilia refringens* sur des adultes *Ostrea edulis* en 1999
- **Annexe numéro 8** : Résultats positifs des analyses de recherche d'ADN de type herpes sur du naissain de *Crassostrea gigas* en 1999
- **Annexe numéro 9** : Maladies à déclaration obligatoire d'après données de l'OIE 1999
- **Annexe numéro 10** : Déclaration de cas de mortalités anormales
- **Annexe numéro 11** : Répartition géographique des agents observés sur *C. gigas* en 1999.
- **Annexe numéro 12** : Répartition géographique des agents observés sur *Mytilus edulis* et *M. galloprovincialis* en 1999
- **Annexe numéro 13** : Répartition géographique des agents observés sur des gisements naturels de *Cerastoderma edule* en 1999.
- **Annexe numéro 14** : Répartition géographique des agents observés sur des gisements naturels de *Ruditapes decussatus* et *R. philippinarum* en 1999.
- **Photographie 1**: *Bonamia ostreae* en histologie (N. Cochenec et B. Chollet)
- **Photographie 2** : *Marteilia refringens* en frottis (F. Berthe)
- **Photographie 3** : *Perkinsus atlanticus* en histologie (B. Chollet)
- **Photographie 4** : *Haplosporidium nelsoni* sur *Crassostrea virginica* (N. Cochenec).

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 règles sanitaires 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 agréées non agréées.
- 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 règles 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 agréées/non agréées.

• 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. Peyretailade, P. Peyret, D. Rodriguez, M. Gouy and C.P. Vivarès (1999). The existence of the phylum Paramyxia 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. , McGladdery, 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
- 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 *Prosorhynchus 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.
- 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.

Gouletquer, 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 Penec, 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.

Hine P.M., Thorne, E.T.,
Lauckner, G. (1983). Diseases of mollusca : bivalvia. Kinne, O. (ed) *Diseases of marine animals*, vol. 2, *Biologische Anstalt helgoland, Hambourg*, 1-1028.

Le Deuff, R.M., Nicolas, J. L. , Renault, T. , Nicolas, J. L., Cochenec, 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.
- 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.
- 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. Les mortalités d'ormeaux (*Haliotis tuberculata*) en Bretagne nord en 1998. (1999). 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., Cochenec, 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.
- 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. Bilan des examens zoosanitaires réalisés en 1998 en Méditerranée (1999). Rapport IFREMER, 1-23.
- Pichot, Y. Bilan des examens zoosanitaires réalisés en 1999 en Méditerranée (2000). Rapport IFREMER, 58p.

- Renault, T., Le Deuff, R.M., Cochenec, 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., Cochenec, 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., Aspects juridiques concernant la surveillance zoosanitaire des coquillages. Rapport IFREMER 1999.
- 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.
- 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.


DEMANDE D'AUTORISATION PASEV
IMPRIME A JOINDRE OBLIGATOIREMENT A TOUTE DEMANDE DE NUMERO PASEV

 Nom : A. Thébault
 Station : LA TREMBLADE

CELLULE PASEV

Centre : NANTES

DRV/RA/D

Yves HARACHE

p

DRV/RA/Adj

Maurice HERAL

p

PUBLICATION* p

COMMUNICATION p

NOTE TECHNIQUE p

Auteur (s) : A. Thébault

OBSERVATIONS RA/D

TITRE Bilan 1999 du Réseau de surveillance zoonitaire des mollusques marins (REPAMO)

Date de parution : Novembre 2000

Diffusion : libre

RESUME obligatoire (à positionner ci-dessous ou texte à joindre)

Le réseau REPAMO est un réseau de santé animale qui à plusieurs objectifs : prévenir et détecter l'introduction et la propagation d'un agent pathogène émergent, réémergent ou exotique pour les productions de coquillages d'intérêt commercial en France, surveiller l'évolution des maladies à déclaration obligatoire, surveiller les échanges avec nos partenaires commerciaux. La première partie de ce rapport décrit le fonctionnement du réseau. Le suivi se fait sur des populations sauvages et cultivées de mollusques bivalves du littoral français. Le nombre d'analyses a diminué en 1999, pour atteindre 12 000 analyses, ce qui correspond en partie à une réorganisation du travail d'analyse. La qualité des analyses a été vérifiée au cours des essais interlaboratoires. Cette année les résultats sont encore relativement satisfaisants. Les analyses réalisées en 1999 n'ont pas révélé de nouvel agent pathogène ou exotique. Les travaux de taxonomie menés par ailleurs ont cependant permis de préciser davantage à quels pathogènes on avait affaire. Deux cas de mortalités anormales ont été résolus, l'un en milieu confiné, l'autre en milieu ouvert. Le suivi de *Crassostrea gigas* dans les zones de captage a été mis en place, avec un échantillonnage actif sur les 3 classes d'âge, larves, naissain, adultes. Ce suivi n'a décelé aucune anomalie. La stratégie du réseau est en effet d'accentuer la sensibilisation de ces différents partenaires et d'avoir une démarche active pour la collecte des échantillons, afin d'obtenir des données qui pourront servir en cas de mortalités anormales ou de troubles zootechniques.

AVIS RESPONSABLE HIERARCHIQUE

 Favorable

 Défavorable

 Sous-réserves

Date de la demande :

Signature :

DECISION RA/D

 Accord

 Refus

 Réserve

Signature :

Y. HARACHE

Date de la réponse : 06.11.2000

N° PASEV : 2000.081

