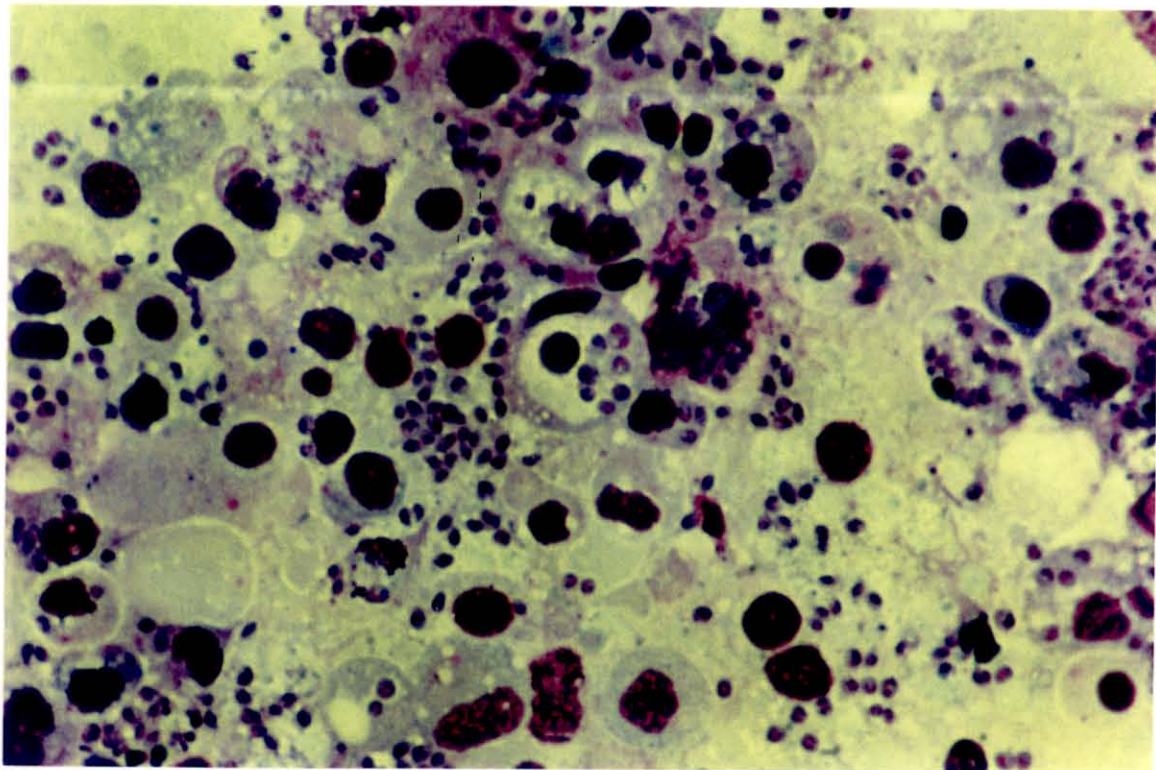


BILAN 1998 DU RESEAU REPAMO

IFREMER
BIBLIOTHEQUE
LA TREMBLADE

RESEAU NATIONAL DE SURVEILLANCE ZOOSANITAIRE DES MOLLUSQUES MARINS



Station de la Tremblade

Mus du Loup, boîte postale 133, 17390 La Tremblade

Tél. 46.36.18.41

Fax 46.36.18.47

Télex 632 160 F



**BILAN 1998 DU REPAMO
RESEAU DE SURVEILLANCE ZOOSANITAIRE DES
MOLLUSQUES MARINS**

**rédaction: A. Thébault, coordinatrice du réseau
REPAMO, BP 133, 17390 La Tremblade.**

IMPRIME A JOINDRE OBLIGATOIREMENT A TOUTE DEMANDE DE NUMERO PASEV

Nom : A. Thébault
Station : LA TREMBLADE

CELLULE PASEV

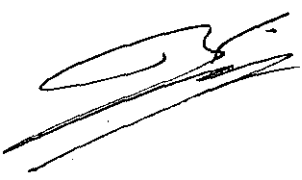
Centre : NANTES
DRV/RA/D Yves HARACHE p
DRV/RA/Adj Maurice HERAL p

PUBLICATION * p COMMUNICATION p NOTE TECHNIQUE p

<p>Auteur (s) : A. Thébault</p> <p>TITRE Bilan 1998 du Réseau de surveillance zoonitaire des mollusques marins (REPAMO)</p> <p>p Nom de la revue :</p> <p>p Nom du colloque :</p> <p>Date de parution : Septembre 1999</p> <p>Diffusion : libre</p>	<p>OBSERVATIONS RA/D</p>
---	--------------------------

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

Le réseau REPAMO répond à plusieurs objectifs, définis dans différentes Directives Européennes : 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. Le fonctionnement repose sur la collaboration entre les professionnels, la DPMCM, les laboratoires côtiers d'IFREMER, et trois cellules d'analyses. Les prélèvements et les outils diagnostiques choisis dépendent des différents objectifs. Le suivi se fait sur des populations sauvages et cultivées du littoral français. Le nombre d'analyses progresse régulièrement grâce à l'utilisation accrue de techniques de biologie moléculaire, pour atteindre 20 000 analyses en 1998. La qualité des analyses est vérifiée au cours des essais interlaboratoires entre les 3 cellules d'analyse. Cette année les résultats sont relativement satisfaisants. Les résultats sont stockés sur une base de donnée informatisée, mais d'accès contrôlé. Les analyses réalisées en 1998 n'ont pas révélé de nouvel agent pathogène ou exotique. Le suivi de *Bonamia ostreae* et de *Marteilia refringens* sur *Ostrea edulis* n'a rien révélé d'inhabituel, les taux de prévalences observés sont souvent faibles. Un site sentinelle a été choisi pour suivre les aspects zoonitaires du naissain d'huître creuse en période estivale. Certaines procédures de surveillance doivent encore évoluer pour répondre au mieux aux objectifs du réseau.

<p>AVIS RESPONSABLE HIERARCHIQUE</p> <p>Favorable p</p> <p>Défavorable p</p> <p>Sous-réserves p</p> <p>Date de la demande :</p> <p>Signature : P.i</p> 	<p>DECISION RA/D</p> <p>Accord p <input checked="" type="checkbox"/> Signature :</p> <p>Refus p</p> <p>Réserve p Y.HARACHE</p> <p>Date de la réponse : 07.09.99</p> <p>N° PASEV : 99.059</p>
--	--

Remerciements :

*** à A.G Martin, Y. Le Coguic, T. Hirata, G. Tigé, Y. Pichot, B. Chollet, animant les différentes 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 et T. Renault.**

*** 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.**

PLAN DU RAPPORT

INTRODUCTION	1
--------------------	---

Partie I : RAPPELS SUR LES OBJECTIFS ET LE FONCTIONNEMENT DU REPAMO

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	4
1.4.1 Mode de collecte des données	4
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 LA DIFFUSION DE L'INFORMATION	11

Partie II : 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	20
2.3 EPIDEMIOVIGILANCE	25
2.3.1 Suivi de base des gisements naturels de mollusques marins	25
2.3.1.1 suivi de <i>Mytilus edulis</i>	25
2.3.1.2 suivi de <i>Ruditapes spp.</i>	26
2.3.1.3 suivi de <i>Cerastoderma edule</i>	27
2.3.1.4 suivi de <i>Pecten maximus</i> et autres espèces	30
2.3.2 suivi d'élevages en l'absence de mortalités	31
2.3.2.1 suivi de <i>Crassostrea gigas</i>	31
2.3.2.2 suivi de <i>Mytilus edulis</i> et <i>M. galloprovincialis</i>	33
2.3.2.3 suivi de <i>Cerastoderma edule</i>	34
2.3.2.4 suivi de <i>Pecten maximus</i> et autres espèces	35

2.3.3	Étude des cas de mortalité anormales et baisse des performances zotechniques	36
2.3.3.1	événements marquants de 1998 par secteurs	36
2.3.3.2	baisse de recrutement sur Arcachon	38
2.3.3.3	mortalités d'ormeaux <i>Haliotis tuberculata</i>	38
2.3.3.4	mortalités signalées sur <i>Crassostrea gigas</i>	39
2.3.3.5	mortalités d'ormeaux <i>Haliotis tuberculata</i>	42
2.3.3.6	mortalités signalées sur d'autres espèces	42
2.3.4	Contrôle des animaux de pays tiers ou de pays de l'Union Européenne	45
2.4	ACTION DE SOUTIEN DES LABORATOIRES D'ANALYSE DE PATHOLOGIE AUX PROGRAMMES DE RECHERCHE IFREMER	46
2.5	REPARTITION DES AGENTS PAR ESPECES DE COQUILLAGES OBSERVEES EN 1998	47
	CONCLUSION ET PERSPECTIVES	49
	TABLE DES ANNEXES	50
	BIBLIOGRAPHIE JURIDIQUE ET SCIENTIFIQUE.....	51

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. Si l'aquaculture représente seulement 30 % de la valeur halieutique nationale, l'aquaculture n'en est pas moins une activité toujours en plein essor depuis le début des années 90. (source l'Officiel de la Conchyliculture Janvier 1999).

La France occupe la quatrième place mondiale derrière les pays asiatiques et devant les Etats Unis pour la production ostréicole. (source FAO 1998)

En Europe la France est le premier pays producteur de mollusques, avec 35% du volume global, occupant la première place pour la production d'huîtres, et la quatrième pour l'élevage de moules. (source FAO 1998).

Les importations d'huîtres sont faibles, de l'ordre de 1,3% du tonnage et viennent surtout d'Irlande, du Royaume Uni et d'Espagne (source : L'Officiel de la Conchyliculture janvier 1999). Le nombre de personnes détenteurs de concessions serait approximativement de 6100 concessionnaires (source DPMCM), mais ceci ne représente qu'une petite partie des emplois liés à cette activité économique.

Malgré cette situation solide, la conchyliculture française a connu dans le passé des épizooties catastrophiques (Grizel, 1996). Deux exemples récents suffisent à illustrer ce danger :

- 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.

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 zoosanitaire sont d'apporter leur contribution pour :

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

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

I/ 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.

1.2. OBJECTIFS

- 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.

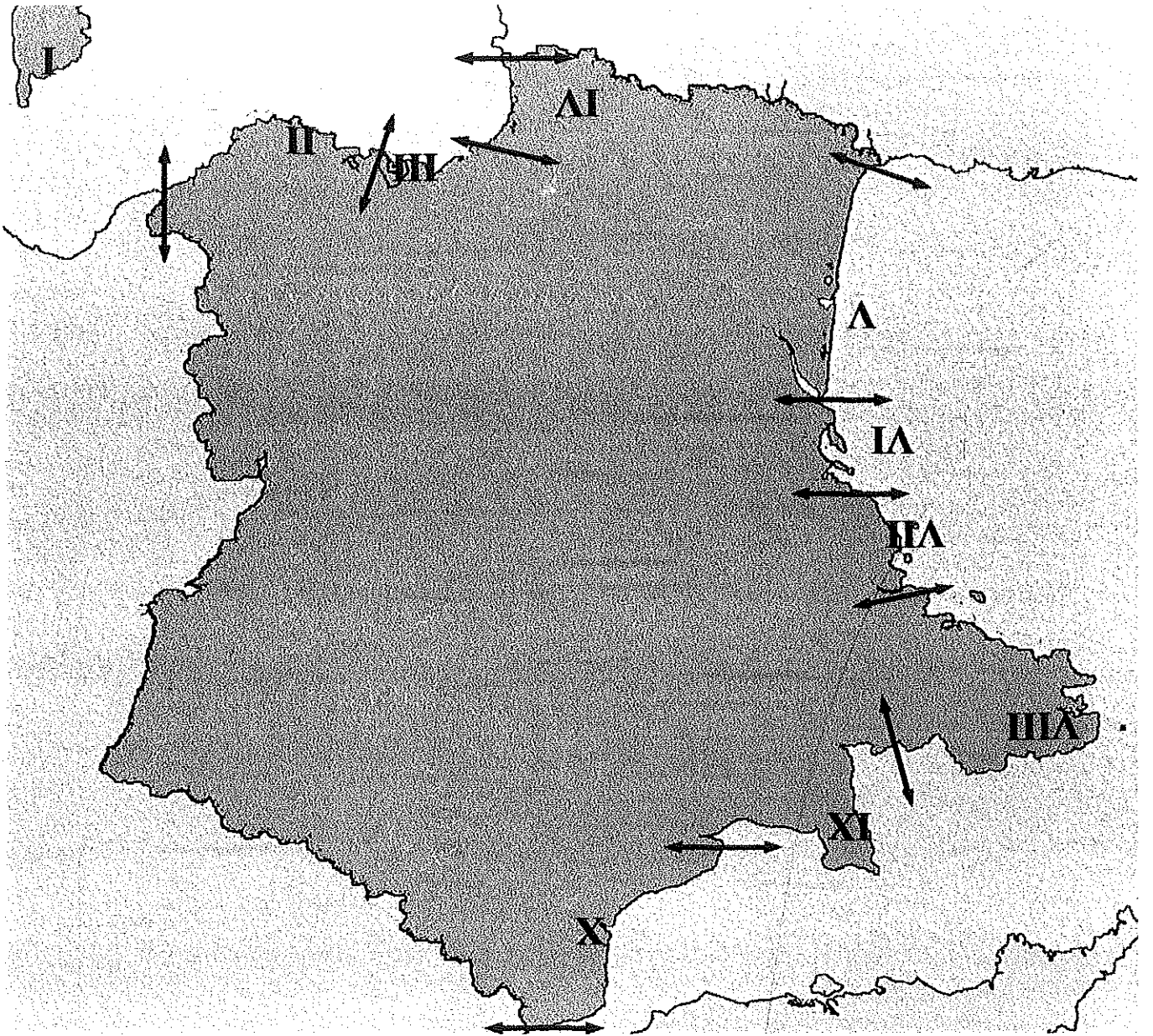
- Zone 5 : de la frontière espagnole à la rive gauche de la Gironde. (bassin d'Arcachon).
 - Zone 6 : de la rive droite de la Gironde à la rive gauche de la Sèvre niortaise (Charente).
 - Zone 7 : de la rive droite de la Sèvre niortaise à la rive gauche de la Loire.
 - Zone 8 : de la rive droite de la 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 *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.



ANNEXE 2 : Les différentes zones du REPAMO

- 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.

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

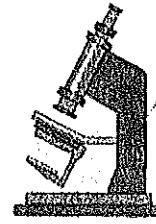
L'annexe 3 rappelle le fonctionnement du réseau.

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 zoonitaire a pris différentes formes en 1998 :
 - 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 d'Arcachon par l'animateur du réseau, F. Berthe.
 - Participation aux congrès et aux manifestations des professionnels : ex présentation Bordeaux Aquaculture en octobre 1998.
 - En matière légale l'année 1998 sera marquée par le décret 98/391 en Conseil d'état du 19 mai 1998/391 qui rend obligatoire la déclaration des mortalités anormales auprès de la DDAM (Direction Départementale des Affaires Maritimes).
 - 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.

ANNEXE 3 : le fonctionnement du REPAMO

INFOS ET PRELEVEMENTS:
labos côtiers, DPMCM
professionnels



ANALYSES:
3 CELLULES DE VEILLE

**COMPTE RENDUS
INFORMATION ET SAISIE**



COORDINATION

**ESSAIS INTERLABO
FORUM ELECTRONIQUE
REUNIONS
INFORMATIONS**

PRODUCTIONS



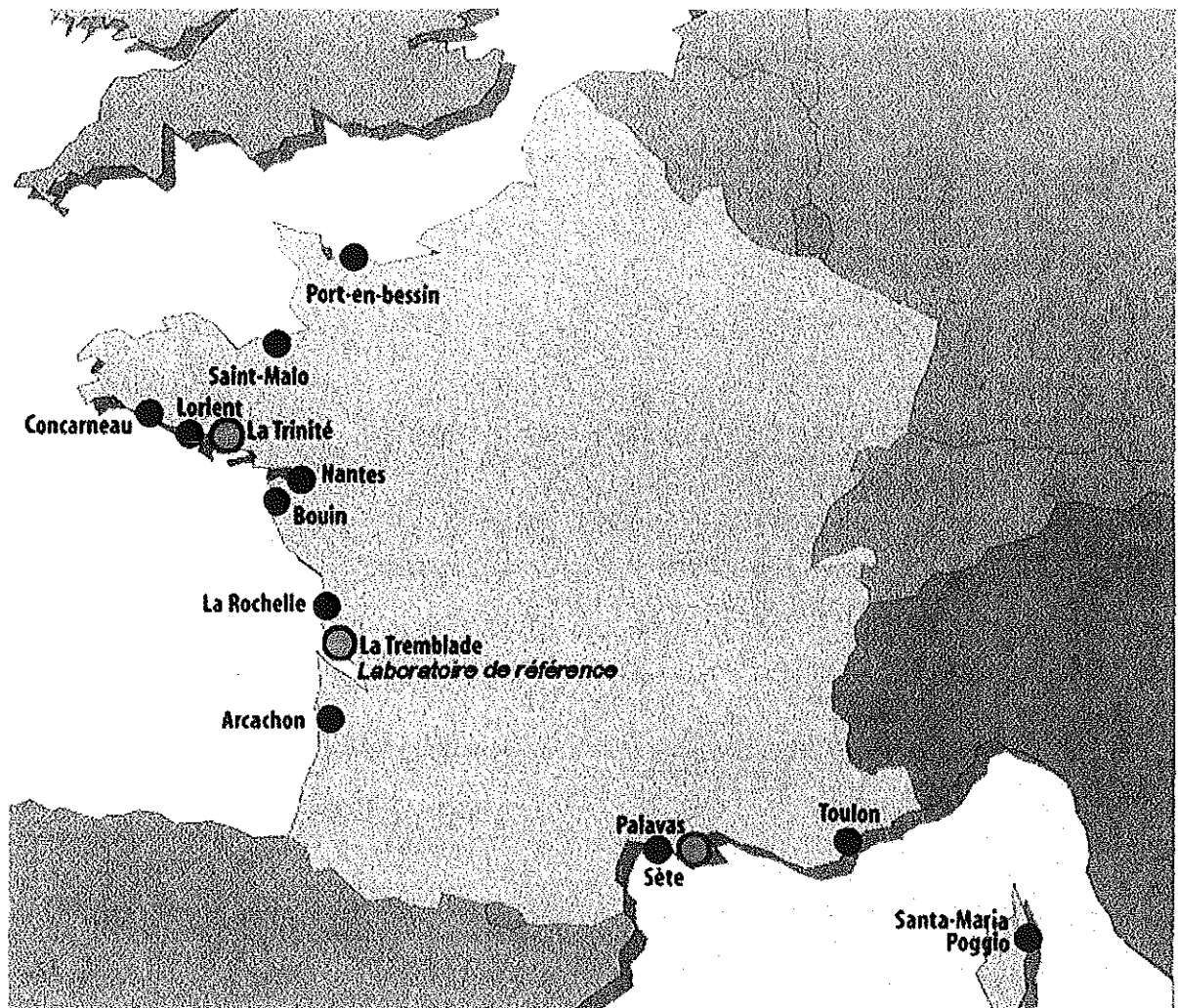
**INFO SUR EPISODES MORTANO
BASE DE DONNEES SOUS ACCESS
AVIS TECHNIQUES (DPMCM, PREFET)
BILAN ZOOSANTITAIRE NATIONAL**



1.4.3. Acteurs du repamo :

- **Les partenaires extérieurs à IFREMER :**
 - Les professionnels ou leurs représentants sont parfois directement au contact des laboratoires d'analyses et effectuent par eux-mêmes les estimations de mortalité et les prélèvements nécessaires aux analyses. Les questionnaires leur sont soumis le plus souvent par téléphone ou par contact direct, voir par courrier dans certains cas.
 - Les DDAM sont avertis en cas de mortalité anormale, en accord avec la législation. Les DDAM font alors appel à l'IFREMER pour établir les origines possibles de mortalité. Les DDAM sont une source précieuse d'information, d'estimation des mortalités et de prélèvements pour le réseau repamo.
- **Au sein d'IFREMER**
 - Les laboratoires côtiers : Une partie du travail des laboratoires côtiers de l'IFREMER concerne le repamo. Les laboratoires côtiers de l'IFREMER effectuent les prélèvements et soumettent les questionnaires aux professionnels concernés. Ils effectuent aussi, suivant les cas, des estimations de mortalité. Une douzaine de laboratoires côtiers de l'IFREMER travaillent régulièrement avec le repamo. Les laboratoires côtiers étudient par ailleurs les aspects zootechniques et environnementaux des cas de mortalité anormale, ce qui peut permettre de mieux gérer la surveillance zoosanitaire.
 - Les laboratoires d'analyse : Trois cellules de veille zoosanitaire (Palavas, La Tremblade et La Trinité) sont en charge des zones du littoral français leur correspondant (Méditerranée, Atlantique Sud et Nord Loire). Les personnes des cellules de veille peuvent aussi effectuer des prélèvements, des estimations et soumettre des questionnaires. Les modèles de questionnaires sont d'ailleurs issus des cellules de veille. Mais leur activité principale réside dans la recherche d'agents infectieux sur les prélèvements réalisés, dans l'analyse des résultats obtenus, la saisie informatisée et la communication des résultats obtenus.
 - La coordination des trois cellules et l'animation du réseau sont actuellement assurés depuis le laboratoire de La Tremblade.
 - Le réseau bénéficie aussi de l'apport des nouvelles techniques diagnostiques mises au point par l'équipe de chercheurs de La Tremblade, au sein du laboratoire de référence national et européen des maladies des mollusques.
 - La situation géographique des différents laboratoires acteurs du réseau sont rappelés dans l'annexe 4.

ANNEXE 4 : les laboratoires IFREMER participant au REPAMO



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

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

D'autres techniques sont utilisées comme :

- **histologie avec coloration de Feulgen et Rossenbeck** : permet de préciser les anomalies nucléaires en cas de suspicion virale ou bactérienne.
- **histologie avec coloration au Trichrome de Masson** : comparable à l'hémalun-éosine.
- **la microscopie électronique à transmission** : en complément de l'histologie cette technique permet l'identification de l'agent rencontré, ou de confirmer la suspicion. La lourdeur et les contraintes de ce type d'analyse restreignent considérablement le nombre d'animaux, voir de tissus pouvant être analysés.

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'écloserie*).
- BACTERIOLOGIE.
- HYBRIDATION IN SITU.
- FROTTIS.
- ETAT FRAIS.(Trématodes)
- MACROSCOPIE.
- THIOGLYCOLLATE.(*Perkinsus*).

CONTROLE AUX TRANSFERTS

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

- **l'examen macroscopique** : accompli de façon globale systématiquement pour chaque analyse, cet examen peut être spécialisé dans la recherche de parasites macroscopiques comme *Mytilicola*, les crabes pinnothères.
- **l'état frais** : la dissection grossière de l'animal est suivie de l'examen au microscope photonique et permet l'identification de parasites, des Trématodes ou des Turbellariés, essentiellement.
- **le frottis** est une apposition d'organes, sur une lame observée au microscope photonique, après coloration à l'hémacolor. Cette technique est plus rapide que l'histologie pour la détection des parasites *Bonamia ostreae* et *Marteilia refringens*.
- **l'analyse bactériologique** : les analyses sont réalisées par ensemencement sur milieu gélose au Zobell et gélose TCBS, puis identification biochimique suivant les cas.
- **la culture au thioglycollate** : il s'agit d'un milieu sélectif permettant la détection quantitative du parasite *Perkinsus atlanticus* sur les palourdes *Ruditapes philippinarum* et *decussatus* au microscope photonique.
- **la technique de détection par PCR** (Polymérase Chain Reaction) de virus de type herpès sur larves et naissain d'huîtres (T. Renault, com. pers.) . L'amplification enzymatique permet une multiplication exponentielle des copies de l'ADN viral recherché, ce qui le rend détectable sur un gel. En 1997 les amorces utilisées étaient A3-A4, A5-6 et la réaction était une Nested PCR (deux cycles de réactions d'amplification). En 1998 les amorces utilisées sont différentes, il s'agit d'OHV3-OHV4, et la réaction est une simple PCR (un seul cycle). 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 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. Deux approches ont été menées en 1998 :

- **en histologie : un atelier technique** de lecture histologique s'est tenu en juin 1998 à la Trinité, réunissant les personnes qui font les lectures et les préparations histologiques pour le contrôle zoosanitaire.

Par ailleurs le laboratoire de référence a fourni des lames du parasite exotique *Mikrocytos mackini* aux 3 cellules de veille.

- **état frais** : Les principes de l'identification des Trématodes de coques ont été communiqués aux 3 cellules au cours de la réunion de juin à la Trinité.

- **en PCR : essais interlaboratoires** 1998 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, mais sont aussi devenus une opportunité de tester à une plus grande échelle des modifications du protocole qui pourront être adoptées d'autant plus rapidement à l'échelle du réseau, en contrôlant le plus possible les aspects de répétabilité et de reproductibilité.

Les objectifs des essais interlaboratoires 1998 étaient les suivants :

- Valider les résultats obtenus au cours de l'année 1998, avec les amorces OHV3-OHV4, pour les trois laboratoires d'analyse.
- Tester un nouveau témoin : un témoin interne, permettant de détecter des inhibitions de réaction propres à chaque pool d'échantillon. En effet il peut y avoir des facteurs inhibiteurs de la réaction de PCR dans l'échantillon, ce qui crée le risque d'obtenir des faux négatifs. Le témoin interne permet de détecter ce phénomène.
- Tester une nouvelle amorce OHV114, couplée à OHV3.

Description des essais :

- **Essai 1** : contrôle des réactifs, du thermocycleur et de la répétabilité du manipulateur avec les amorces OHV3-OHV4:
 - 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 2 cellules sur 3. Le troisième laboratoire, n'utilise en routine que la partie parfaitement satisfaisante du thermocycleur, à savoir 50 positions sur 54. Si les résultats ne sont donc pas invalidés, le changement d'appareil doit intervenir rapidement.

- **Essai 2 :** détection sur des lots de naissain d'huîtres creuses avec les amorces OHV3-OHV4.
 - Une vingtaine de surnageants contenant des pools d'échantillon, venant de chaque cellule de veille, soit **60 surnageants** en tout de différentes origines dont 17 surnageants déclarés positifs, ont été centralisés à la Tremblade. Les échantillons ont été randomisés (essai en aveugle), divisés en trois lots et renvoyé aux trois cellules d'analyse.
 - **Résultats :** la reproductibilité entre les cellules de veille est excellente : on trouve un *generalized kappa* de 0,753, valeur comparable à celle obtenue en 97 et toujours supérieure à 0,6. On trouve un X2 de Mac Nemar significatif, en effet 2 laboratoires ont tendance à avoir moins de positifs que le troisième sur cette expérience.
- **Essai 3 :** détection sur des lots de naissain d'huîtres creuses avec les amorces OHV3-OHV114
 - Le matériel biologique utilisé est le même que pour le précédent essai.
 - **Résultats :** la reproductibilité entre les cellules de veille est de 0,67, ce qui est satisfaisant. Le X2 est aussi significatif mais le laboratoire qui trouvait le plus de positifs à l'expérience précédente, en trouve le moins sur cette deuxième. Globalement on trouve 3 positifs supplémentaires/17 avec ces nouvelles amorces comparées à OHV3-OHV4.
- **Essai 4 et 5 :** **détection des inhibitions de réaction** sur les échantillons négatifs des essais 2 et 3, testage du témoin interne.
 - Tous les pools négatifs des essais précédents ont été analysés.
 - Un fragment d'ADN viral, de taille attendue différente de celui du virus sauvage été ajouté dans chaque tube de surnageant.
 - **Résultats :** 4 surnageants de même origine présentaient une inhibition de réaction. La reproductibilité de ces deux essais, mesurée par *kappa* est comprise entre 0,47 et 0,7, suivant les amorces utilisées, ce qui est une valeur relativement faible. On s'aperçoit, ce qui est rassurant, du faible nombre d'inhibitions de réaction à l'échantillon d'une quarantaine de surnageants négatifs de différentes origines. Une meilleure standardisation du protocole sera prévue pour son utilisation en 1999.
- **Conclusion**
Ces essais sont encourageants en raison de l'absence de contaminations et d'un faible nombre d'inhibitions de réaction observées sur les échantillons négatifs des essais. L'utilisation des amorces OHV3-OHV114 pour la détection d'ADN viral est mortalière anormale pour être tentée en 1999. L'utilisation du témoin effectuée sur des lots aux résultats négatifs en 1999 mais nécessiter des contrôles complémentaires en vue d'améliorer la répétabilité.

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 53 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 1997 a été diffusé auprès du CNC et de la DPMCM.

2/ RESULTATS DES ANALYSES DU REPAMO EN 1998

2.1/ EFFORT D'ANALYSE GLOBAL REALISE EN 1998

- Effort d'analyse global en fonction des zones

ZONE	HISTOLOGIE		FROTTIS		ETAT FRAIS		DIVERS		PCR		TOTAL	
	Nb lots	Nb ind	Nb lots	Nb ind	Nb lots	Nb ind	Nb lots	Nb ind	Nb lots	Nb ind	Nb lots	Nb ind
10	4	173									4	173
9	6	166	16	477							22	643
8	77	1166	44	1664	17	487	3	110	111	3130	252	6574
7	21	610			2	166	1	30	46	1410	70	2218
6	20	586	1	14	5	150	4	195	154	4581	184	5531
5	14	448	2	55	2	120	13	502	16	540	47	1667
4	1	15	4	138	0	0					5	153
3	60	1068	3	71			1	1	11	340	75	1480
2	1	20	2	93							3	113
1	1	30							1	30	2	60
Etranger	11	435					2	92	1	20	14	547
Total 1996		2763		3362		0		44		3715		10184
Total 1997		3776		4081		0		72		4665		12564
Total 1998	216	4717	72	2512	26	923	24	930	307	9061	678	19159

L'effort d'analyse a largement augmenté en 1998 : la simplification du protocole de PCR, a permis de doubler en une année le nombre d'analyses réalisées.

L'augmentation du nombre de personnel d'analyse se fait sentir en histologie et en état frais. La répartition entre zones est à peu près cohérente avec la production de mollusques bivalves.

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

motif	Nombre d'animaux analysés	% du total
Suivi huîtres plates	1872	9.3%
Suivi gisements	1224	6.1%
Suivi élevages*	1648	8.2%
Mortalités anormales	1240	6.2%
Etudes sur mortalités	9724	48.5%
Lots étrangers	415	2%
Essai génétique	1476	7.3%
Privé	180	0.9%
Lots expérimentaux	1380	6.9%
Essais interlaboratoires	Equivalent 900	4.6%
Total	20059	100%

L'effort d'analyse en fonction des objectifs est à peu près cohérente avec l'importance de ceux-ci. Les essais interlaboratoires garants de la qualité des analyses d'un laboratoire à l'autre ont un coût non négligeable en temps et en matériel, mais les analyses en PCR sont aussi nombreuses au bilan global d'analyses.

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

espèce	Nombre d'animaux analysés	% du total
<i>Crassostrea gigas</i>	13756	71.8%
<i>Ostrea edulis</i>	2747	14.3%
<i>Mytilus edulis et gallo</i>	833	4.3%
<i>Cerastoderma edule</i>	1041	5.4%
<i>Ruditapes dec ou phil</i>	590	3%
<i>Haliotis tuberculata</i>	80	0.4%
<i>Pecten maximus</i>	20	0.1%
<i>Mercenaria mercenaria</i>	18	0.1%
<i>Crassostrea angulata</i>	30	0.14%
<i>Venerupis aurea</i>	14	0.1%
<i>Venerupis lamellosa</i>	30	0.1%
Total	19159	100%

L'ordre est à peu près celui de l'importance économique de l'espèce, mais le volume d'analyse tient aussi compte de données conjoncturelles :

- Peu de troubles ont été rapporté sur les moules, et pas d'agents de maladies graves sur cette espèce n'ont été observés en France.
- Des mortalités anormales de coques ont été observé en 1997, et d'ormeaux en 1998.
- L'huître plate, contaminée par deux maladies à déclaration obligatoire, fait l'objet d'un suivi particulier, qui sera détaillé ci-dessous.

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 sont étudiées actuellement sur la base de séquences du gène de la petite sous-unité ribosomale. La marteiliose fait partie des maladies à déclaration obligatoire à l'OIE.*

**Bonamia ostreae* est un protozoaire, du phylum des *Ascetospora*, parasite de l'huître plate *ostrea edulis*, responsable de la Bonamiose. La maladie a été introduite accidentellement en Bretagne en 1979, et s'est rapidement propagée à l'ensemble du littoral français. L'agent a été décrit (Y. Pichot et Al, 1980) comme un parasite intracellulaire, infectant les hémocytes de l'huître, qui interviennent dans la défense immunitaire (N. 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. Les relations taxonomiques entre *Bonamia ostreae*, *Bonamia sp*, et *Mikrocytos mackini* sont en cours d'étude. Ces deux derniers parasites sont des agents de maladies graves, exotiques, à déclaration obligatoires à l'OIE. La répartition mondiale de ces différents agents est rappelée en annexe 9.*

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

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

maladies	agents	hotes sensibles	hotes porteurs	Pays ayant déclaré la maladie
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 costale</i>	<i>Crassostrea virginica</i> .	?	USA côte Est.
	<i>Haplosporidium nelsoni</i>	<i>Crassostrea virginica</i> , <i>Crassostrea gigas</i>	?	USA, Japon.
martelliose	<i>Marteilia refringens</i>	<i>Ostrea edulis</i> , <i>angasi</i> , <i>Tiostrea chilensis</i> , <i>Ostrea puelchana</i>	?	France, Italie, Maroc, Portugal, Espagne, Grèce
	<i>Marteilia sydneyi</i>	<i>Saccostrea commercialis</i> , <i>Saccostrea echinata</i> (?)	?	Australie
mikrocytose	<i>Mikrocytos mackini</i>	<i>C. gigas</i> , <i>C. virginica</i> , <i>O. edul</i> , <i>O. conchaphila</i>	?	Côte ouest Canada
	<i>Mikrocytos roughleyi</i>	<i>Sacc commercialis</i> ,	?	Australie ouest, New South Wales
perkinsose	<i>Perkinsus marinus</i>	<i>C. virginica</i> , <i>C. gigas</i>	?	USA Côte est
	<i>Perkinsus olseni</i>	<i>Haliotis ruber</i> , <i>H laevigata</i> , <i>H. cyclobates</i> , <i>H. scalaris</i>	?	Australie

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

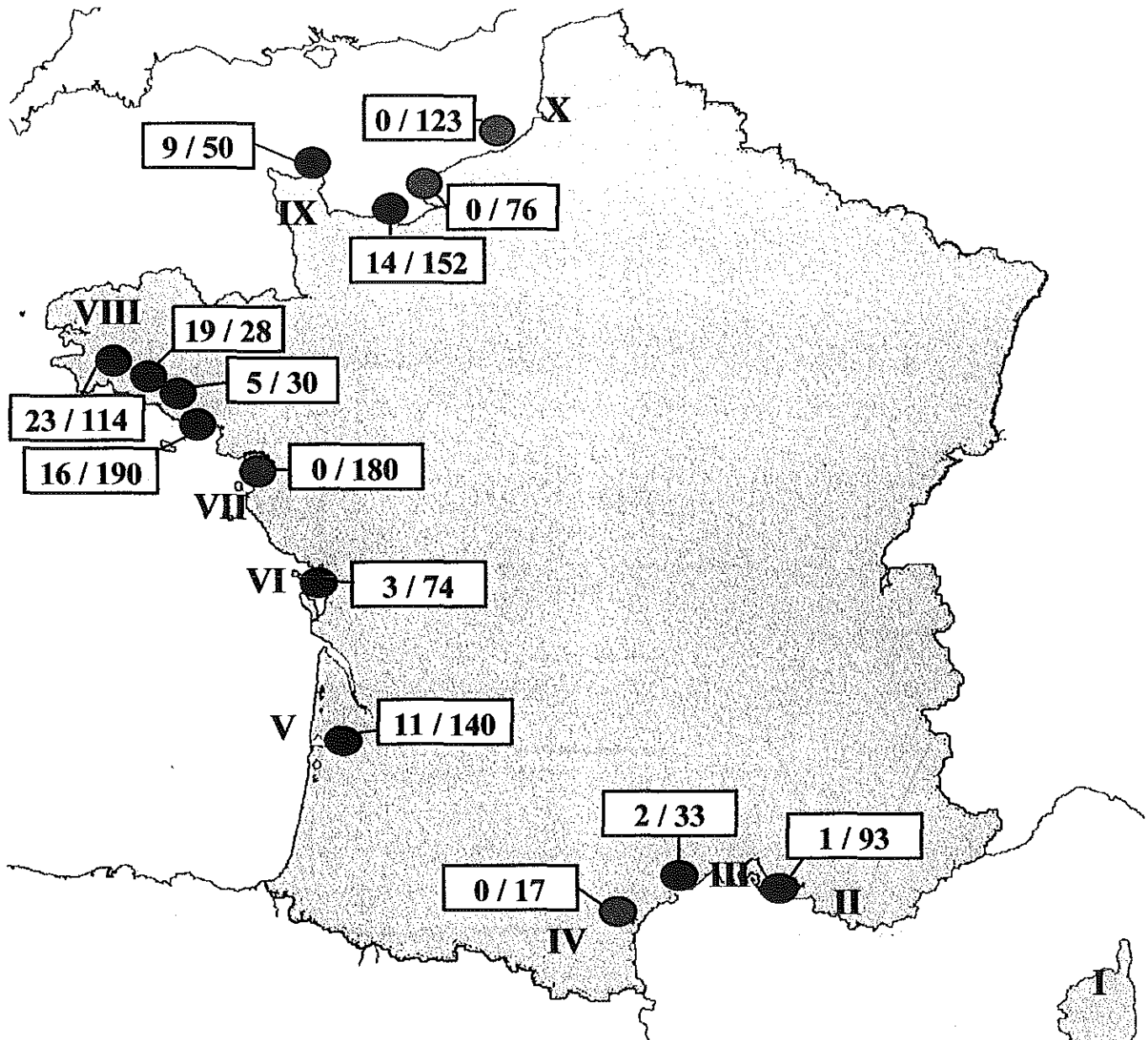
Zone	sites	mois	Age et origine	Nb individus analysés	Résultat <i>Marteilia refringens</i>	Résultat pour <i>Bonamia ostreae</i>
1	Pas d'analyse					
2	Golfe de Fos	<ul style="list-style-type: none"> • Mai • Octobre 	Adultes de gisement naturel.	<ul style="list-style-type: none"> • 30/frottis • 63/histo ou frottis 	<ul style="list-style-type: none"> • 0/0. • 3/20. (histe) 	<ul style="list-style-type: none"> • 0/30. • 1/63
3	Etang de Thau	<ul style="list-style-type: none"> • Mai • Août • Septembre 	<ul style="list-style-type: none"> • Adultes de gisement. • Adultes d'élevage. • Adultes d'élevage. 	<ul style="list-style-type: none"> • 2/histo. • 20/frottis • 31/histo ou frottis 	<ul style="list-style-type: none"> • 1/2 • 5/10. • 10/20 	<ul style="list-style-type: none"> • 0/2. • 2/20 • 0/31
4	<ul style="list-style-type: none"> • Port Leucate. • Etang de Salses. 	<ul style="list-style-type: none"> • Octobre • Octobre 	<ul style="list-style-type: none"> • Adultes de gisement. • Adultes de gisement 	<ul style="list-style-type: none"> • 54/frottis • 15/histo et frottis 	<ul style="list-style-type: none"> • 38/54 • 0/15. 	<ul style="list-style-type: none"> • 0/2 • 0/15
5	<ul style="list-style-type: none"> • Cap Ferret • Grand Banc 	<ul style="list-style-type: none"> • Avril • Avril 	Indemnes mis sur sites en poches, prélevés adultes.	<ul style="list-style-type: none"> • 30/histo et frottis • 30/histo et frottis • 20/histo • 60/histo 	<ul style="list-style-type: none"> • 0/30. • 2/30. 	<ul style="list-style-type: none"> • 0/30 • 0/30
6	<ul style="list-style-type: none"> • Cap Ferret • Grand Banc • Gisement Angoulins. • Ile d'Aix. 	<ul style="list-style-type: none"> • Novembre • Novembre • Avril • Novembre 	Adultes	<ul style="list-style-type: none"> • 14/frottis • 60/histo 	<ul style="list-style-type: none"> • 0/20. • 0/60. • 0/14. • 0/60. 	<ul style="list-style-type: none"> • 1/20 • 10/60 • 0/14 • 3/60
7	<ul style="list-style-type: none"> • Roches de Grasseloup. • Roches de la Coupelasse. • Est Noirmoutiers • Roches de Grasseloup. • Roches de la Coupelasse. • Est Noirmoutiers 	<ul style="list-style-type: none"> • Mai • Mai • Mai • Septembre • Septembre • Septembre 	Adultes	<ul style="list-style-type: none"> • 30/histo • 30/histo • 30/histo • 30/histo • 30/histo • 30/histo 	<ul style="list-style-type: none"> • 0/30. • 0/30. • 0/30. • 0/30. • 0/30. • 0/30. 	<ul style="list-style-type: none"> • 0/30 • 0/30 • 0/30 • 0/30 • 0/30 • 0/30

Zone	sites	mois	Age et origine	Nb individus analysés	Résultats Martellia refringens	Résultat pour Bonamia ostreae
8	• Baie de Quiberon En eau profonde	• Janvier	• Jeunes (coll)	• 50/frottis	• 0/50.	• 0/50.
		• Avril	• Naissain/jeunes (coll/gis)	• 140/frottis	• 0/30.	• 2/140
		• Mai	• Jeunes (coll).	• 30/frottis	• 0/0.	• 0/30.
		• Juin	• Adultes (élevage).	• 30/frottis	• 0/0.	• 1/30
		• Octobre	• Adultes/jeunes (gisement).	• 220/histo ou frottis	• 0/50.	• 15/220
	• Rivière d'Etel Secteur découvrant	• Octobre	• Adultes (élevage)	• 30/frottis	• 0/0	• 5/30
			• Jeunes. (élevage).	• 30/frottis	• 0/0	• 0/30
	• Rivière de Belon. Secteur découvrant	• Janvier	• Adultes (élevage)	• 56/frottis	• 0/28	• 19/28
	• Odet En eau profonde	• Octobre	• Jeunes(gisement)	• 20/histo	• 0/20	• 4/20
			• Adultes. (gisement).	• 114/histo ou frottis	• 3/89	• 23/114.
	• Rade de brest En eau profonde	• Mai	• Naissain (captage)	• 60/frottis	• 7/30	• 0/30.
		• Octobre	• Adultes (élevage)	• 100/frottis	• 0/50.	• 9/50
	• Paimpol Secteur découvrant	• Novembre	• Jeunes (élevage)	• 135/30 histo, 105 frottis	• 0/135	• 0/135
		• Adultes (élevage)	• 152/50 histo, 102 frottis	• 0/50(histo)	• 6/50 histo et 8/102 frottis	
• Cancale En eau profonde						

Analyse des résultats :

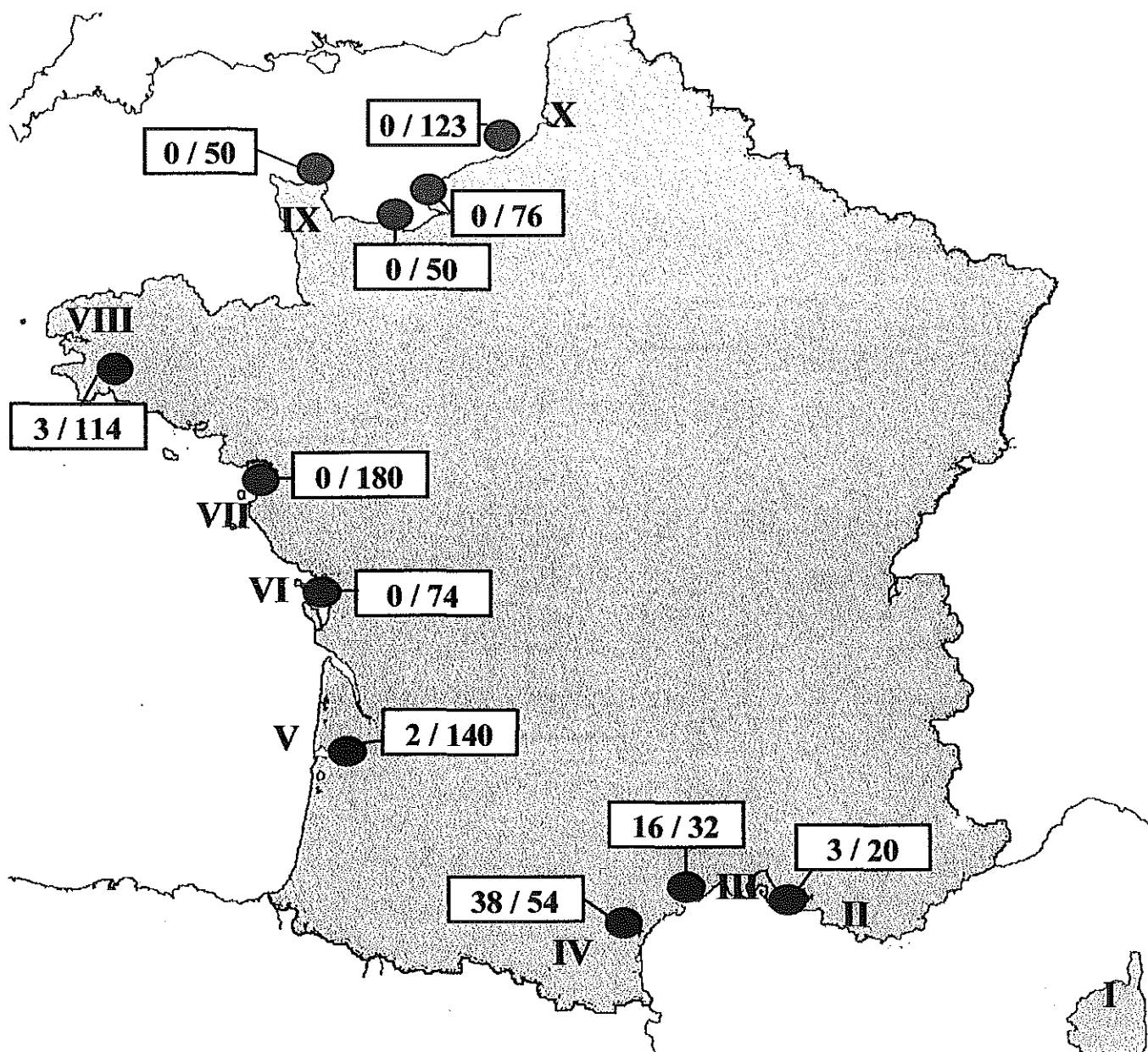
- Pour *Bonamia ostreae* : en général tous les taux de prévalences observées sont faibles, de l'ordre de 5 à 10% sauf dans certaines zones de Bretagne. La répartition géographique des résultats est donnée en annexe 6. Le fait que le parasite n'a pas été trouvé dans certaines zones, est surtout la conséquence d'un échantillonnage qui ne permet pas de détecter de faibles prévalences. Le fait que les taux les plus élevés se trouvent en Bretagne, là où la culture est la plus forte, n'est pas très étonnant. *Bonamia* serait aussi dépendant de la densité des huîtres plates. A ceci près que dans la Baie de Quiberon et de Cancale, là où la production de plate est la plus forte, les taux de *Bonamia* sont autour de 10% (A. G Martin *et al*, 1999). On considère que toutes les zones françaises, sauf les deux zones en cours de classement, sont contaminées en *Bonamia*. Dans les années 80, les taux de prévalence qui précédaient des mortalités fortes étaient autour de 50 à 60%.
- Pour *Marteilia refringens* : globalement la répartition de *Marteilia* correspond à celle attendue, comme le montre la répartition géographique en annexe 7. Pour la Méditerranée les prélèvements de fin d'été, début d'automne montrent des taux de prévalence élevés sur le gisement de Port-Leucate, comme en 1997, ainsi que sur des huîtres d'élevages de l'étang de Thau. Le parasite a été détecté pour la première fois dans la partie nord du golfe de Fos, cette année. Les animaux indemnes déposés depuis plus d'un an dans la baie d'Arcachon, ont montré cette année la présence de *Marteilia*, ce qui est compatible avec ce que l'on sait de l'infestation de ce parasite, à savoir que la deuxième année d'exposition révèle davantage la présence du parasite. Ailleurs, dans les zones considérées comme contaminées, les prévalences observées sont souvent faibles, sauf en rade de Brest. Les résultats négatifs sont plutôt à considérer comme un échantillonnage trop faible pour déceler des faibles prévalences.

ANNEXE 6 : principaux résultats des analyses de *Bonamia ostreae* sur des adultes *Ostrea edulis* en 1998.



- 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 1998.



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

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

<i>Zones</i>	<i>sites</i>	<i>mois</i>	<i>Age et origine</i>	<i>Nb individus analysés</i>	<i>Résultats Martellia refringens</i>	<i>Résultat pour Bonamia ostreae</i>
9	• Gisement de Granville <i>En eau profonde</i>	• Novembre	• Adultes (gisement)	• 76/histo	• 0/76	• 0/76
10	• Gisement de Veules les Roses (Seine Maritime) <i>Secteur découvrant</i>	• Novembre	• Adultes(gisement)	• 123/histo	• 0/123	• 0/123

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

	1992	1994	1995	1996	1997	1998	Total
Granville (Zone 9)	152	50	150	132	151	76	711
Veules les Roses (Zone 10)					141	123	264

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

Des mortalités estivales ont été observées en écloserie sur des larves et sur des sites de captage sur le naissain d'huîtres creuses depuis le début des années 90. Un virus de type herpes 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 herpes chez des espèces de mollusques marins posaient la question de leur parenté avec d'autres virus de la famille des Herpesviridae et tout particulièrement avec les herpesvirus 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 herpesvirus 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 herpes a été décrit en 1972 sur *Crassostrea virginica* (Farley *et al.*, 1972). Le virus de type herpes observé en France semble capable d'infecter des larves d'autres espèces de mollusques comme *Ostrea edulis*. Des virus de type herpes 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 1998 obtenus au sein du repamo:

Les résultats suivants ont été obtenus avec les amorces OHV3-OHV4 :

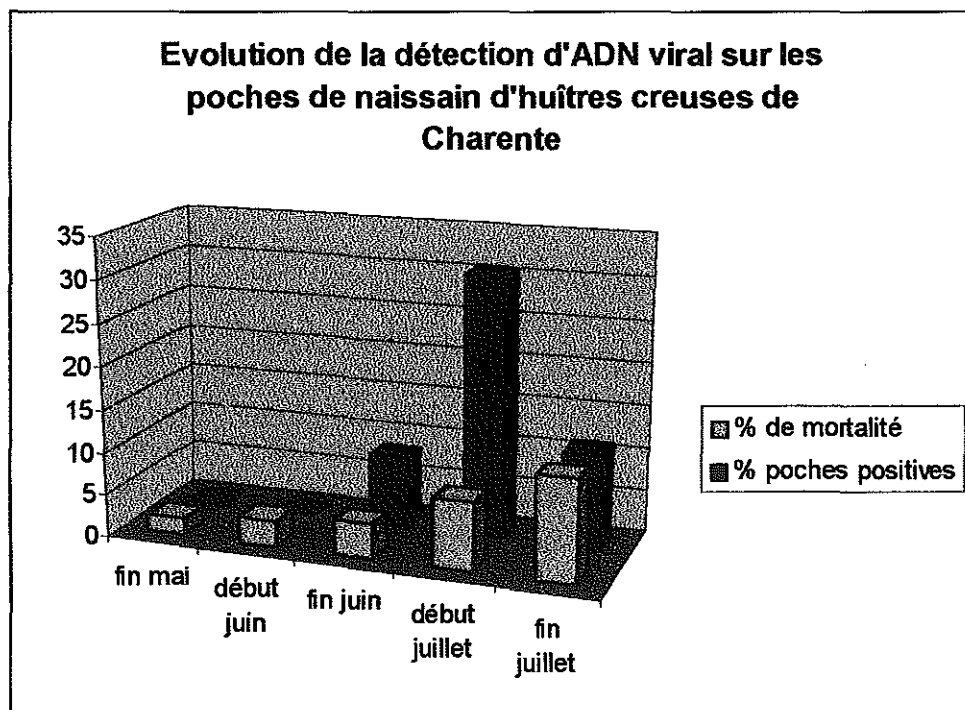
• Répartition spatiale de la détection de la présence d'ADN viral :

L'ADN du virus de type herpès a été trouvé en 1998 sur les zones de captage naturels, aussi bien sur Arcachon et sur la Charente, ainsi que sur des lots issus d'écloserie. La répartition spatiale des résultats positifs est donnée en annexe 8. Dans la mesure où les modes de transmission ne sont pas tous connus, où certaines zones n'ont pas été échantillonnées, où les transferts entre zones sont fréquents, la répartition géographique est donnée à titre indicatif. Les animaux échantillonnés sont issus d'élevages le plus souvent.

Les résultats sur le bassin d'Arcachon ne résultent pas d'un échantillonnage représentatif du bassin. Ces résultats ont été obtenus par contrôle après achat et avant réimmersion dans une autre zone. Les résultats ne peuvent être en aucun cas reliés à la qualité du naissain, car il faudrait tenir compte de la variabilité au sein d'une zone de production et probablement de la date d'analyse.

• Evolution dans le temps de la détection d'ADN viral sur un site de captage

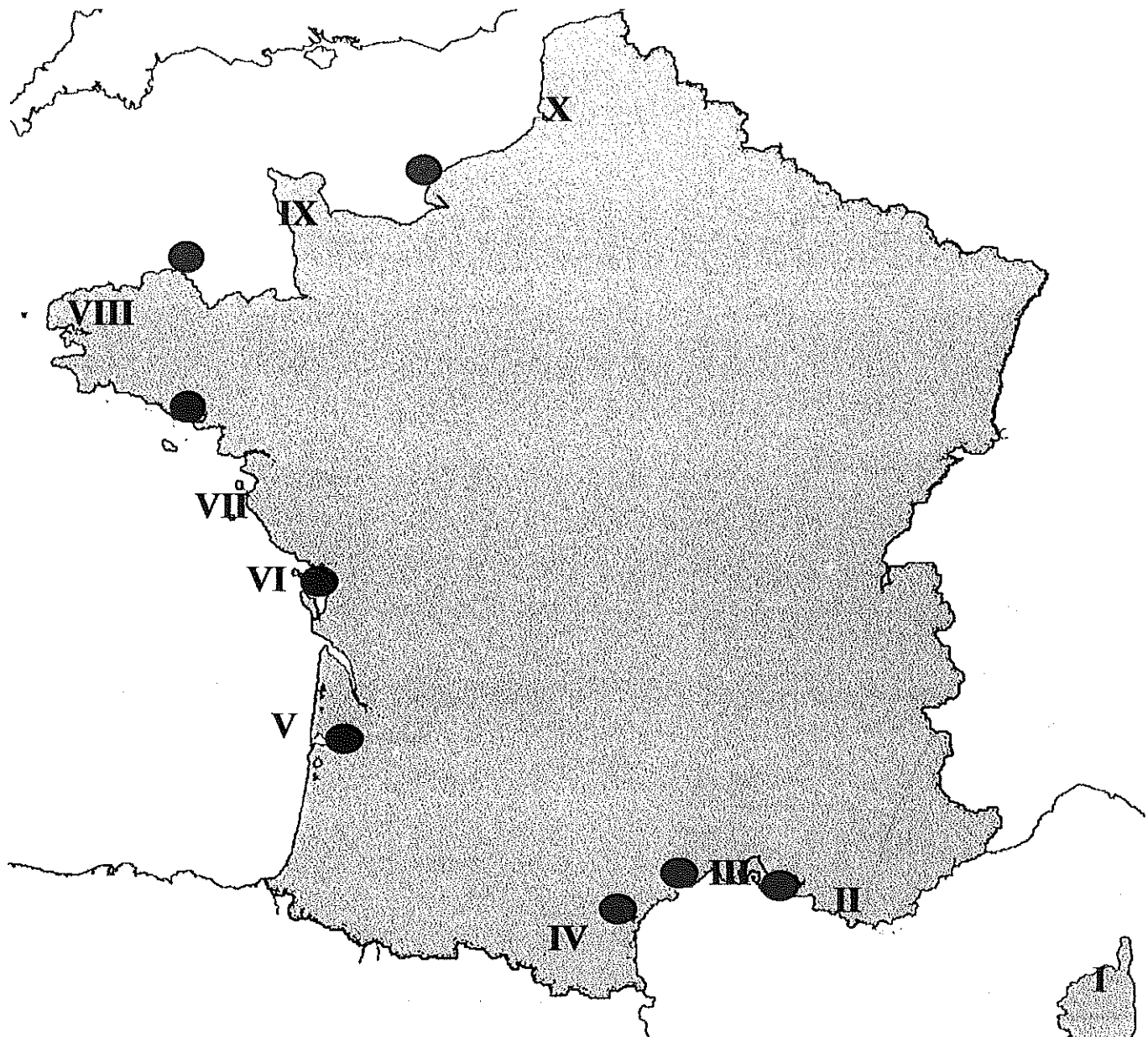
Le suivi d'une cohorte de 12 concessions, avec 3 poches suivies par concessions, d'un site de captage en Charente a permis d'obtenir l'historique suivant du % de poches et de concessions détectées positives au cours du temps:



Le résultat de début Juin n'est pas connu, il ne faut donc pas en tenir compte sur le schéma ci-dessus.

Le nombre de poches positives trouvées n'a pas excédé 30%.

ANNEXE 8 : résultats positifs des analyses de recherche d'ADN de type herpès sur du naissain de *Crassostrea gigas* en 1998.



Légendes

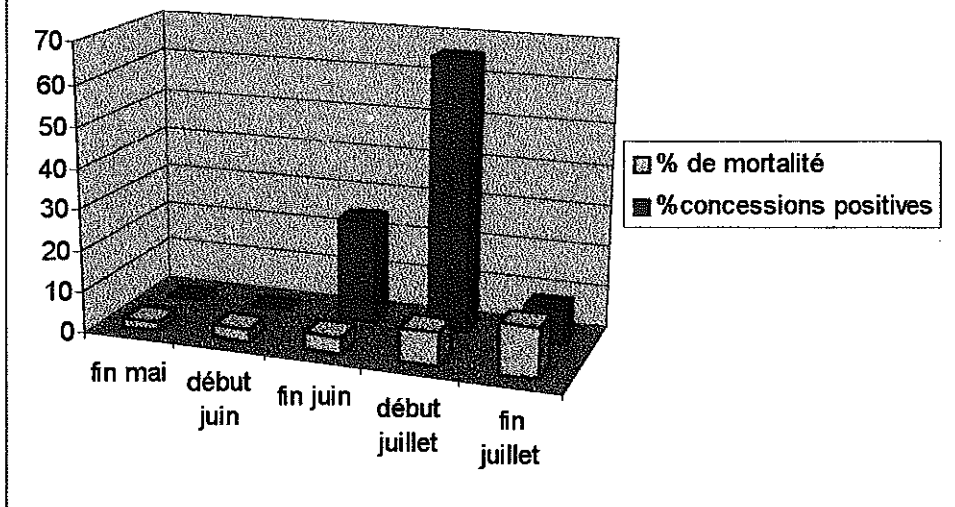


● zone contaminée et trouvée positive.

● zone considérée contaminée et échantillon insuffisant ou absence de prélèvements.

I zone

Evolution de la détection d'ADN viral au cours de l'été sur des concessions de naissain de Charente



Remarque : les résultats de la détection pour début juin ne sont pas connus.

Le nombre de concessions contaminées par le virus de type herpès semble très élevé, et atteint sur notre échantillon 11 concessions/12.

Les données sur le nombre de pools positifs par lots, sur les données de cette cohorte, donne des indications supplémentaires sur l'allure de la présence de l'ADN de type herpès qui a les caractéristiques suivantes :

- Un grand nombre de concessions concernées sur notre site d'étude.
 - Un nombre de poches concernées relativement importantes, d'à peu près 30%.
 - Un nombre d'animaux ou de pools concernés réduits.
 - **L'ADN viral semble équitablement réparti entre concessionnaires, mais à un niveau faible.**
 - Une détection de l'ADN viral qui varie dans le temps.
 - Le début de la détection semble correspondre au démarrage des mortalités de naissain, même si celles-ci sont modérées et considérées comme « normales ».
- **Etude de la détection du virus au cours de suivis en Bretagne (A.G. Martin et Al)**
- Des suivis ont été réalisés au cours de l'été 1998, afin de déterminer des facteurs de mortalités sur le naissain. Les faibles taux de mortalité, le faible nombre parfois de lots détectés positifs par PCR, n'ont pas permis de donner de conclusion satisfaisante sur le lien entre les mortalités observées et la détection d'ADN viral.

- **Détection du virus sur des adultes *Crassostrea gigas***

Un cas de PCR positive sur des huîtres de 4 ans, analysées en une à une, ayant présenté des mortalités de 20-25% en bassin ont été mis en évidence le 6 juin 1996. (source A. G. Martin et T. Hirata, comm. Pers) . Il n'a pu être mis en évidence par PCR d'ADN de virus de type herpès sur les adultes de *Crassostrea gigas* depuis. Des effets inhibiteurs pourraient être responsables de l'absence de signal positif sur les adultes.

12 lots de 30 individus ont été analysé individuellement par PCR, suite à des mortalités anormales, sans résultat positif.

- **Niveau de détection sur les lots positifs**

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	juin	3 lots à 1/6
Charente	Début juillet	8 lots à 1/6 ; 3 lots à 2/6
Charente	Fin juillet	4 lots à 1/6
Ecloserie	mai	2 lot à 6/6
Ecloserie	juin	2 lots à 1/6
Ecloserie	juillet	1 lots à 1/6
Arcachon	avril	1 lot à 1/6, 3 lots à 2/6, 2lots à 3 /6
Arcachon	mai	1 lot à 4/6
Rivière Auray	juillet	1 lot à 1/6
Origine Arcachon mais après réimmersion en Baie de Quiberon	août	1 lot à 1/6
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.

• **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	7	25
Lot négatif en PCR	<ul style="list-style-type: none"> • Bretagne : 84 • Atlantique Sud : 15 • Méditerranée : 1 • Total : 100 	<ul style="list-style-type: none"> • 42 • 112 • 9 • Total : 163

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 dits sans mortalité ont été suivis dans le temps, mais il existe vraisemblablement une erreur sur la mesure de mortalité.
- 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.

Au vu du tableau le lien entre la détection du virus de type herpès et un certain nombre de mortalités anormales de naissain d'huîtres observées en 1998 sur le littoral français ne peut être retenu.

D'autres explications peuvent expliquer les mortalités de naissain de 1998. Mais ces résultats ne peuvent être extrapolés : les conditions environnementales peuvent varier d'une année sur l'autre, d'autre part notre mesure est loin d'être totalement satisfaisante, enfin il n'a pas eu beaucoup de cas rapportés de mortalités anormales de naissain cette année.

• **Comparaison avec les résultats obtenus en 1997 :**

3487 huîtres creuses au stade naissain ont été analysés en 1997 contre 8700 individus en 1998, et ceci malgré la diminution du nombre de déclarations de mortalités anormales de naissain en 1998(cf chapitre sur les mortalités anormales).

En fait le travail et le coût des analyses ont aussi beaucoup baissé entre les deux années du fait du changement de la nested PCR en PCR simple, ce qui a permis d'augmenter le nombre d'analyse réalisées.

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 détecté précocement et déclencher l'alerte : les mortalités anormales font ainsi l'objet d'un suivi particulier. Comme ce suivi est peut être parfois tardif, et pour augmenter la confiance que l'on peut accorder à un résultat négatif, en matière de détection d'un pathogène nouveau, ainsi qu'accroître les données d'épidémiologie descriptive, un suivi des principales espèces de mollusques en l'absence de mortalités déclarées a aussi été mis en place. Le suivi de base a de ce fait un objectif intermédiaire entre l'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 gisements naturels de *Mytilus edulis*

Zones	sites	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
5	• Arcachon, banc d'Arguin	• Mai • Septembre	• Adultes • Adultes	• 30/ histo • 30/ histo	• 10/30 Ciliés. • 2/30 Métazoaires. • 2/30 Mytilicola. • 4/30 Grégarines. • 1/30 Myicola • 5/30 Mytilicola.
7	• Bouin, Le fain	• Mars • Septembre	• Adultes • Adultes	• 30/ histo • 29/ histo	• 7/30 Ciliés • 1/30 Grégarines • 1/30 Métazoaires • 4/29 Ciliés • 1/29 Grégarines • 5/29 Mytilicola • 3/29 Pinnothères
8	• rivière de la Trinité	• Mars	• adultes	• 15/histo • 20/frottis	• 6/15 <i>Marteilia</i> . • 2/15 métacercaires (trématodes) • 11/20 <i>Marteilia</i>
9	Baie des Veys	• Juin	• Jeunes	• 30/histo • 30/macrosco pie	• 5/30 grégarines • 11/30 trématodes • 3/30 rickettsies • 2/30 métazoaires • 2/30 pinnothère.

10	• Ambleteuse	• Avril	• Jeunes	• 15/histo	• 4/15 Ciliés
	• Le portel	• Avril	• Jeunes	• 30/examen macro • 15/histo • 30/examen macro	• 1/15 pinnothère • 7/30 pinnothère. • 1/15 Mytilicola • 6/30 crabes pinnothères

Commentaires sur les résultats :

La présence de *Marteilia* sur les moules *Mytilus edulis* pose la question d'un éventuel portage du parasite *Marteilia refringens* sur des zones indemnes, (Bower et Figueras, 1989), même si la transmission par proximité à des huîtres plates ne semble pas se produire. (Berthe et al, 1998).

L'état de santé des moules ne semblerait pas affecté par *Marteilia*, comme c'est le cas pour l'huître plate. L'histologie classique ne permet pas de distinguer les Rickettsies des Chlamydie, 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 stades 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 prévalences en parasites ne sont pas extrêmement différentes d'un site à l'autre, sauf pour les trématodes en baie des Veys, mais l'échantillon n'est pas suffisant pour conclure sur le secteur.

• 2.3.1.2. Suivi de gisements naturels de *Ruditapes decussatus et philippinarum*

Zones	sites	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
3	Etang de Thau (<i>R. decussatus</i>)	Avril	Adultes/jeunes de <i>Ruditapes decussatus</i>	76/histologie (6 lots)	<ul style="list-style-type: none"> • 15/76 Bactéries • 1/76 Ciliés • 16/76 Haplosporidies • 30/76 Perkinsus • 24/76 Rickettsies • 6/76 vers.
5	Arcachon (banc d'Arguin).	<ul style="list-style-type: none"> • Mai • Septembre 	<ul style="list-style-type: none"> • Adultes • Adultes 	<ul style="list-style-type: none"> • 30/histologie • 30/histologie et macroscopie 	<ul style="list-style-type: none"> • 1/30 métazoaires. • 9/30 Perkinsus • 6/30 Rickettsies • 9/30 Trichodines. • 2/30 anneau brun • 2/30 calcification du pied. • 18/30 Perkinsus • 2/30 Rickettsies.
6	Fouras	• Mai	• Adultes	• 30/histologie	<ul style="list-style-type: none"> • 5/30 Rickettsies. • 1/30 Trichodines • 1/30 Turbellarié
7	Roches de Riberge	<ul style="list-style-type: none"> • Avril • Septembre 	<ul style="list-style-type: none"> • Adultes • Adultes 	<ul style="list-style-type: none"> • 30/histologie • 28/histologie 	<ul style="list-style-type: none"> • 1/30 Ciliés • 15/30 Rickettsies • 12/30 Turbellariés • 1/28 Ciliés

					<ul style="list-style-type: none"> • 4/28 Rickettsies • 1/28 Turbellariés.
8	Golfe du Morbihan	• Mars	• Adultes	<ul style="list-style-type: none"> • 30/histologie • 15/histologie 	<ul style="list-style-type: none"> • 1/30 Métazoaire • 3/30 Perkinsus • 9/30 Rickettsies • 1/15 Métazoaire • 5/15 Perkinsus • 5/15 Rickettsies

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* (cf ci-dessous) que l'on trouve en mai et en début septembre sur différents sites français.
- 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 qui appartiennent à une famille pouvant provoquer des maladies graves sur des mollusques. *Haplosporidium costale* et *nelsoni* sont des agents exotiques de maladies des mollusques à déclaration obligatoire. La taxonomie d'*Haplosporidium armoricanum* de la palourde est à confirmer à l'aide de marqueurs génétiques, ce qui est une des tâches du laboratoire de référence de la Tremblade.
- 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 pour l'instant infructueux.
- Les taux de prévalence de ces différents agents sont variables suivants les sites et les périodes, mais ne sont pas négligeables.

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. La parenté phylogénétique entre *Perkinsus olseni* et *Perkinsus atlanticus* est en cours d'étude. Des techniques diagnostiques au thioglycollate sont en cours d'étude. (Almeida *et al.*, 1999)

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

Seuls sont indiqués ci-après les résultats des mois d'Avril et Juin. En effet les périodes d'avril et juin ont été analysées dans le maximum de sites. Les infestations parasitaires sont différentes en été et en hiver, il est donc important de se situer à deux périodes différentes de l'année. Les mortalités se rencontrent le plus souvent au printemps et à la fin de l'été, ce qui justifie le choix prioritaire de ces deux périodes.

<i>Zones</i>	<i>sites</i>	<i>mois</i>	<i>Age</i>	<i>Nb individus analysés</i>	<i>Résultats</i>
5	<i>Banc d'Arguin</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>avril</i> • <i>juin</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Adultes/jeunes</i> • <i>Adultes/jeunes</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>60/histo et état frais</i> • <i>60/ histo et état frais</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>5/60 Meio*, 10/60 Labra*</i> • <i>5/60 Hima*</i> • <i>5/60 Tricho (Ciliés)</i> • <i>25/60 Rick*</i> • <i>15/60 Greg*</i> • <i>1/60 Parav*</i> • <i>1/60 Metaz*</i> • <i>20/60 Meio*, 9/60 Labra*</i> • <i>2/60 Hima*</i> • <i>1/60 Reni*</i> • <i>1/60 Tricho (Ciliés)</i> • <i>17/60 Rick*</i> • <i>17/60 Greg*</i> • <i>3/60 Parav*</i> • <i>4/60 Metazoaire</i> • <i>1/60 Mytil</i> • <i>1/60 Ciliés</i> • <i>1/60 haplo</i>
6	<i>Banc de Ronce</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>avril</i> • <i>juin</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Adultes /jeunes</i> • <i>Adultes /jeunes</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>30 histo et état frais</i> • <i>30 histo et état frais</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>12/30 Meio*, 1/30 Labra*</i> • <i>1/30 Tricho (Ciliés)</i> • <i>8/30 Rick*</i> • <i>27/30 Greg*</i> • <i>9/30 Parav*</i> • <i>1/30 Hyperplasie hémocytaire atypique.</i> • <i>11/30 Meio*, 2/30 Labra*</i> • <i>1/30 Hima</i> • <i>12/30 Rick*</i> • <i>25/30 Greg*</i> • <i>3/30 Parav*</i>
7	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Roches de Riberge</i> • <i>Baie de Bourgneuff</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Avril</i> • <i>juin</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Adultes/jeunes</i> • <i>Adultes/jeunes</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>62/ histo et état frais</i> • <i>60/ histo et état frais</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>1/62 Meio*, 4/62 Hima*</i> • <i>2/62 Tricho (Ciliés)</i> • <i>11/62 Rick*</i> • <i>56/60 Greg*</i> • <i>16/62 Parav*</i> • <i>3/62 Metazoaire</i> • <i>1/62 coccidies</i> • <i>1/60 Labra</i> • <i>23/60 Hima</i> • <i>6/60 Rick*</i> • <i>56/60 Greg*</i> • <i>6/60 Parav*</i> • <i>4/60 Metazoaire</i> • <i>2/60 Mytil</i> • <i>2/60 Ciliés</i> • <i>1/60 coccidies</i> • <i>1/60 haplosporidies</i>

Zones	sites	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
8	Le Croisic , Gros Banc	<ul style="list-style-type: none"> • avril • juin 	<ul style="list-style-type: none"> • adultes 	<ul style="list-style-type: none"> • 30 histo et état frais 	<ul style="list-style-type: none"> • 5/30 Meio • 5/30 Hima • 3/30 Rick* • 3/30 Greg* • 5/30 Parav* • 2/30 Metaz • 17/30 Meio • 2/30 Labra • 11/30 Hima • 3/30 Rick* • 15/30 Greg* • 4/30 Parav*

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.
 - « reni » pour *Renicola roscovita* a les mêmes caractéristiques que les *Himasthla*.
- Les « rick » pour Rickettsies : comme chez les autres espèces de mollusques les Rickettsies ne peuvent être distinguées en histologie des *Chlamydiae*. 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.

• **2.3.1.4. suivi de *Pecten maximus* et autres espèces**

• ***Pecten maximus***

Zones	sites	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
10	Seine maritime	juillet	adultes	20/histo	<ul style="list-style-type: none"> • 12/20 Rickettsies • 3/20 métazoaires non déterminés

Commentaires :

- sur les Rickettsies : Il n'est pas possible de distinguer en histologie les Rickettsies et les Chlamydie. En 1988 un épisode de mortalité avait été attribué aux infections aux Rickettsies sur les branchies, grâce à des techniques diagnostiques par anticorps (Le Gall et al, 1988). Le taux de prévalence était de 100% sur 75 coquilles St Jacques et les taux d'infestation individuels élevés. La mortalité en Baie de St Brieuc en Mars 1987 s'était élevée à 40%. Cette année il n'y a pas eu de mortalités anormales constatées, malgré la présence de Rickettsies dans les branchies.
- Sur les métazoaires : l'histologie ne permet pas leur identification, mais on ne connaît pas de métazoaires réellement pathogènes pour la Coquille St Jacques.

• **suivi d'autres espèces de mollusques marins**

Espèce	Zones	sites	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
<i>Mercenaria mercenaria</i>	6	Château d'Oléron	avril	adultes	18/histo	<ul style="list-style-type: none"> • 2/18 Rickettsies ou Chlamydie
<i>Venerupis aurea</i>	3	Etang de Thau	mai	adultes	14/histo	<ul style="list-style-type: none"> • 3/14 haplosporidies • 3/14 vers indéterminés

Commentaires :

Ces deux espèces de coquillages sont très fréquemment rencontrés près ou dans des sites d'élevage et il est intéressant de montrer qu'un même parasite peut infester différents hôtes. Mais après la mise en évidence par histologie, il reste à montrer si oui ou non le parasite est bien identique entre ces différents hôtes.

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

Ce suivi permet, en théorie, de donner une image de l'état 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 et en 1998. (cf épidémiosurveillance). Ce type de contrôle pourra encore évoluer :

- d'une part avec meilleure optimisation reposant sur une meilleure connaissance de l'élevage conchylicole en France.
- d'autre part avec l'augmentation des moyens d'analyse.

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*

- **suivi de naissain de *C. gigas***
- Ces lots ont été analysé par les cellules de veille pour les motifs suivants :
 - A la demande des professionnels, des lots ont été examiné après l'achat et avant réimmersion sur site le plus souvent. Ces lots correspondent à ceux analysés en zone 5, 6, 7, et 8, ces lots ayant été analysés en Bretagne. Les résultats sur *Mytilicola* sont indiqués ci-dessous.(A. G. Martin *et al*, 1999).
 - En Méditerranée, une étude de stock a été réalisée au cours de juillet 1998 (Y. Pichot, 1998). Seuls les résultats d'histologie sont indiqués ci –dessous, tous les résultats de PCR ayant été listés dans la rubrique épidémiosurveillance du virus de type herpès.

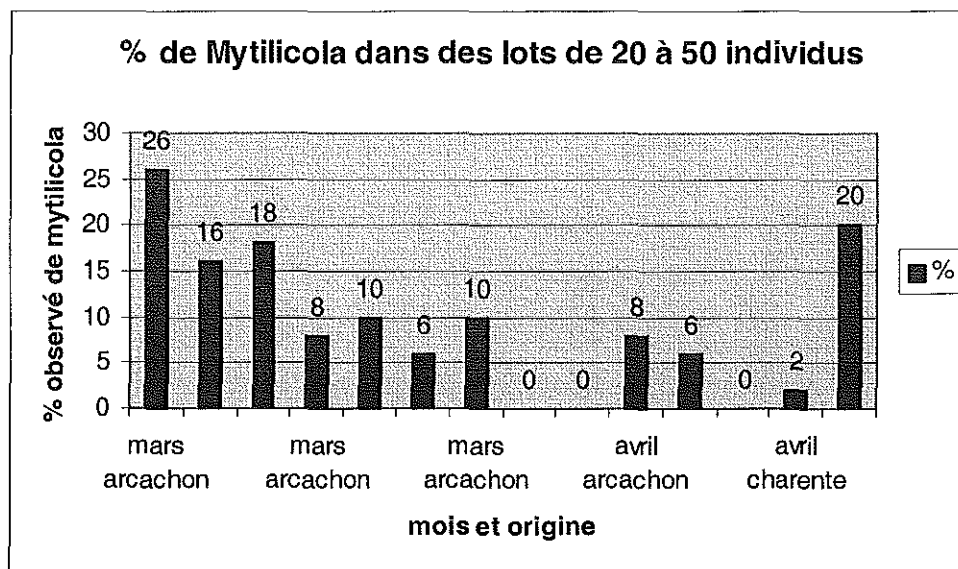
Zones	sites	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
3	Etang de Thau	Aout	<ul style="list-style-type: none"> • Juvéniles (élevage, de long. Moy. 65 mm) • adultes 	<ul style="list-style-type: none"> • 10/histo • 58/histo 	<ul style="list-style-type: none"> • 1/10 <i>Mytilicola</i> • 1/ 10 <i>Marteilia</i> • RAS
5	Arcachon	mai	naissain	<ul style="list-style-type: none"> • 20/histo par coloration de feulgen • 452/macrosco pie (13 lots) 	<ul style="list-style-type: none"> • 1/20 anomalies nucléaires • déformation de coquilles et présence

					<i>Mytilicola</i> (détails ci-dessous).
6	Fouras	<ul style="list-style-type: none"> • avril • fin Juillet 	<ul style="list-style-type: none"> • Naissain • naissain en poches 	<ul style="list-style-type: none"> • 10/histo par coloration de feulgen • 120/macrosco pie(3lots) • 135/histo (5 lots) 	<ul style="list-style-type: none"> • RAS • <i>Mytilicola</i> (détails ci-dessous). • 11/135 Ciliés • 6/135 <i>Mytilicola</i> • 2/135 Haplosporidies.
7	Vendée	décembre	jeunes	<ul style="list-style-type: none"> • 13 par coloration feulgen • 26 (2 lots par hémalun éosine). • 30/macroscope 	<ul style="list-style-type: none"> • RAS • 9/13 érosion du diverticule digestif. • 1/13 <i>Mytilicola</i> sp • 1/30 <i>Mytilicola</i> sp
8	<ul style="list-style-type: none"> • Aber Wrach • Golfe du Morbihan • Baie de Quiberon 	<ul style="list-style-type: none"> • Février • Juillet • aout 	<ul style="list-style-type: none"> • Naissain • Jeunes • naissain 	<ul style="list-style-type: none"> • 15/hémalun éosine • 15/hémalun • 254/macrosco pie/histo/bactério • 150/macrosco pie/histo/bactério 	<ul style="list-style-type: none"> • 1/15 <i>Mytilicola</i> • 1/15 Ciliés • 2/15 Ciliés • 197/254 taches jaunes sur glande digestive avec amas bactériens. • 20/150 taches jaunes

Commentaires

- *Marteilia* : un juvénile « présentait en bordure externe de l'épithélium de l'estomac des formes pouvant être assimilées à des stades précoces du cycle de *Marteilia* »(extrait du rapport bilan Méditerranée 1998, Y. Pichot). De telles observations ont déjà été faites dans le passé : la présence du parasite, et il n'est pas certain qu'il s'agisse de *Marteilia refringens*, doit être considérée comme accidentelle. Il faut rappeler que *Crassostrea gigas* est considéré comme non porteur de *Marteilia refringens*.
- Haplosporidies : il faudrait déterminer si *Haplosporidium* sp décrite chez *C. gigas* en Europe est une forme proche ou éloignée des Haplosporidies décrites dans d'autres pays, en annexe 9, comme pouvant entraîner des mortalités massives. Les taux de prévalence observés sont heureusement très faibles.
- Ciliés : les Ciliés sont considérés à la limite entre des symbiontes et des opportunistes profitant de l'affaiblissement des animaux pour proliférer. Les taux d'infestation et de prévalence sont faibles.
- Taches jaunes : des taches jaunes visibles à l'œil nu et associées à des amas bactériens ont été observé au cours de suivis d'élevages, au mois de Juillet, sur la gland digestive du naissain de *C. gigas*. Il n'a pas été observé de mortalités associées et ce phénomène a régressé au mois d'août pour disparaître par la suite. Les souches bactériennes isolées sont en cours de caractérisation.

- les résultats sur le % de *Mytilicola* présent dans le naissain sont indiqués dans l'histogramme ci-dessous :
- les données ne sont pas représentatives de l'origine des lots, et beaucoup plus de lots d'Arcachon que de Charente ont été analysés .



- Cet histogramme montre surtout la variabilité de % de *Mytilicola* en fonction des lots analysés.
- Le taux de prévalence ne donne qu'une partie de l'information ; il manque le taux d'infestation individuel qui permet de savoir si cette infestation serait préjudiciable à l'état de santé du naissain. *Mytilicola* est considéré comme peu pathogène pour le naissain à des niveaux raisonnables d'infestation. Il n'est pas considéré comme pouvant entraîner des mortalités massives.

• 2.3.2.2. suivi de *Mytilus edulis* et *galloprovincialis* sur bouchots

Zones	sites	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
3	• Etang de Thau : <i>Mytilus galloprovincialis</i>	• Août	• Adultes	• 209 /histo (11 lots)	• 21/209 <i>Mytilicola</i> • 3/209 trématodes • 2/209 <i>Marteilia maurini</i> • 1/209 Rickettsies • 1/209 Hyperplasie Hémocytaire Atypique
7	• Bouin, Maisons Blanche, eau profonde (<i>Mytilus edulis</i>)	• Mars	• Adultes	• 30/ histo	• 6/30 Ciliés • 4/30 Grégarines • 3/30 Métazoaires • 1/30 <i>Mytilicola</i> • 1/30 Rickettsies
		• Septembre	• Adultes	• 30/histo	• 12/30 Ciliés • 9/30 Grégarines • 2/30 sporocystes (trématodes)

					• 7/30 Pinnothères
8	• Aulne (<i>mytilus edulis</i>)	juin	jeunes	60/macroscopie	• 10/60 crabes pinnothères • 2/60 <i>Mytilicola</i> sp
9	• Est Cotentin (<i>mytilus edulis</i>) • Ouest Cotentin (<i>mytilus edulis</i>)	juin	jeunes	• 30/histo • 30/histo	• 4/30 trématodes • 9/30 <i>Mytilicola</i> • 7/30 trématodes • 6/30 <i>Mytilicola</i>

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. On peut noter la description de *Marteilia maurini* puisque celui-ci est clairement décrit sur *Mytilus galloprovincialis*. Yves Pichot souligne que la présence de ce parasite semble décroître sur l'étang de Thau. (Pichot, bilan 1998). Un cas d'hyperplasie hémocytaire atypique a été décrit : cette maladie est aussi communément appelée néoplasie hémocytaire et se caractérise par une prolifération d'hémocytes de taille et de forme anormale. Cette maladie est régulièrement décrite en Europe à des taux inférieurs à 4%. Cependant, sur la côte Ouest de l'Amérique du Nord, des prévalences supérieures à 40% ont été décrites. Des mortalités massives n'ont pu être imputées à cette maladie, qui serait transmissible par cohabitation. (Bower et Figueras, 1989). 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).

• 2.3.2.3. suivi des coques *Cerastoderma edule*

Une petite partie des résultats est donnée ici afin de ne pas alourdir ce rapport

Zones	sites	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
Zone 8	• Croisic, Sissable	• avril	• adultes	• 30/histo	• 10/30 <i>Meio</i> • 1/30 <i>Rick</i> • 16/30 <i>Greg</i> • 1/30 Ciliés
		• juin	• adultes	• 29/histo	• 6/29 <i>Meio</i> • 1/29 <i>Labra</i> • 22/29 <i>Greg</i> * • 11/29 <i>Parav</i> • 1/29 métaz • 1/29 ciliés • 1/29 <i>haplo</i>

	<ul style="list-style-type: none"> • Croisic, La Croix 	<ul style="list-style-type: none"> • mai 	<ul style="list-style-type: none"> • adultes 	<ul style="list-style-type: none"> • 30/histo 	<ul style="list-style-type: none"> • 4/30 Meio • 1/30 Hima • 6/30 Greg* • 6/30 Parav • 4/30 Ricke • 2/30 tricho
		<ul style="list-style-type: none"> • juin 	<ul style="list-style-type: none"> • adultes 	<ul style="list-style-type: none"> • 18/histo 	<ul style="list-style-type: none"> • 8/18 meio • 1/18 Hima • 2/18 Para • 12/18 Greg • 3/18 Rickettsies • 1/18 haplo
	<ul style="list-style-type: none"> • Croisic 	<ul style="list-style-type: none"> • avril 	<ul style="list-style-type: none"> • naissain 	<ul style="list-style-type: none"> • 30/macrosco pie 	<ul style="list-style-type: none"> • 2/30 crabe pinnothère

Les résultats obtenus sur les coques élevées du Croisic ne montrent pas de différences majeures entre les coques de gisement naturel et d'élevage. Malgré tout il faut remarquer que les animaux en élevages prélevés ici, ne sont mis en parcs que depuis quelques mois. Il faut aussi souligner qu'il peut exister des différences à faibles distances sur une même baie notamment pour les infestations en Trématodes. L'infestation en *Himasthla* dépend de l'âge des coques ce qui peut expliquer en partie le décalage entre ce qui a été observé au même moment sur le gisement naturel du Croisic et en élevages. D'autres résultats en cours d'analyse permettront de mieux appréhender la pathologie complexe de la coque, avec ses pluri-infestations sur un même individu.

• 2.3.2.4. suivi de *Pecten maximus*

Zones	sites	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
8	Baie de Quiberon	février	adultes	<ul style="list-style-type: none"> • 15/histo • 15/histo 	<ul style="list-style-type: none"> • 1/15 Rickettsies • 2/15 Rickettsies

En Baie de Quiberon, à partir d'animaux d'écloserie, les taux de prévalence en Rickettsies semblent faibles, même comparés à ceux de la Baie de Seine. Il aurait fallu un échantillonnage plus grand et dans des situations comparables pour s'en assurer.

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 en cours d'agrément 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, qui doivent être examinés par histologie classique. Cet échantillon peut atteindre plusieurs centaines d'individus, suivant les situations. 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. Seules des difficultés d'approvisionnement expliquent une taille d'échantillon inférieure. L'intérêt est majeur : prévenir la propagation d'un agent infectieux.

2.3.3.1. événements marquants de 1998 par secteurs :

Les mortalités de 1998 de *C. gigas* sont des mortalités ponctuelles, rarement étendues à un gros secteur, et globalement modérées, comparées aux années antérieures. La seule exception concerne le recrutement de larves de *C. gigas* sur Arcachon, qui en 1998 fut très diminué.

Des cas de mortalités anormales signalées sur des espèces autres que *C. gigas* semblent devenir plus fréquents, la sensibilisation sur ce sujet étant sans doute devenue meilleure. Des espèces peu ou pas étudiées jusque là, comme *Haliotis tuberculata*, sont devenues des objets de suivis, mais qui ne pourront donner de résultats tangibles qu'au terme d'un certain temps d'étude. Les données de déclaration de mortalités de 1998 sont récapitulées dans l'annexe 10.

- Normandie

Deux cas de mortalité anormales de naissain de *Crassostrea gigas* ont été rapportées, l'un en Juillet et l'autre en Septembre dans le secteur de Blainville. Des mortalités importantes de coques ont été rapportées à la mi-août au banc des Ravines en Baie des Veys, atteignant 54%. Toutes ces mortalités ont été attribuées à des erreurs de zootechnie ou à des facteurs environnementaux. Comme en 1997 ce secteur n'a donc pas connu de fortes mortalités signalées.

- Bretagne Nord

En avril, deux cas ont été signalés sur des huîtres creuses adultes, à Bréhat et à Penzé. En août une commission de visite a constaté des mortalités de naissain de l'ordre de 20 à 30% sur le secteur de la baie de Morlaix, en élevage à plat. Les analyses n'ont pas mis en évidence d'agent infectieux susceptible d'expliquer ces mortalités, pas de virus de type herpès notamment, comme le rappelle les résultats ci-dessous. Un lot de naissain de Carantec a été analysé pour mortalités anormales ; les analyses en PCR pour la recherche d'ADN de type herpès sont négatives. En août aussi ont démarré des mortalités d'ormeaux. Le détail de ce cas de mortalités anormales est expliqué ci-dessous, dans le paragraphe correspondant.

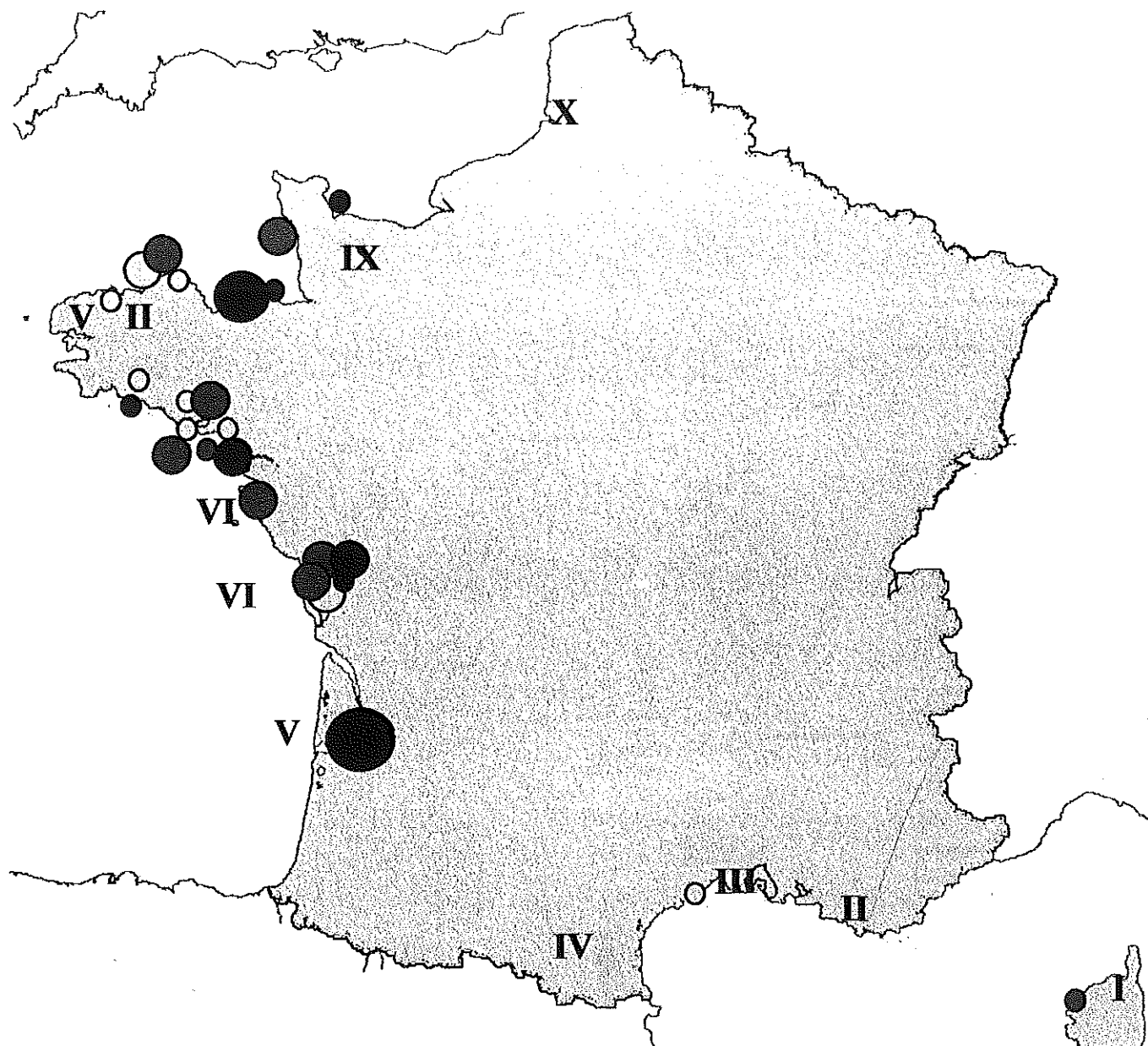
- Bretagne Sud

Des mortalités d'huîtres de 18 mois à Bascatique en rivière d'Auray (30-50%), d'huîtres de trois ans en bassins et de naissain dans le golfe du Morbihan (30% pour les adultes, 19-39% pour le naissain, origine zootechnique probable pour le naissain), de naissain au sol à Locmariaquer en rivière d'Auray (80%), de naissain à Arradon (18-35%) ont été signalées par des professionnels fin mai.

Des analyses ont été effectuées et n'ont pas révélé d'agent infectieux pouvant être responsable des mortalités observées.

Des mortalités de coques en fond de baie de Concarneau, de vernis dans l'archipel des Glénans et de la pointe de Moustierlin, de palourdes grises chez les expéditeurs ont été observées fin avril et en mai 1998. Des facteurs environnementaux et physiologiques sont surtout suspectés.

ANNEXE 10 : Déclaration de cas de mortalités anormales en 1998



Légendes

- difficultés de recrutement de *Crassostrea gigas*
- 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 : ○ >10 cas : ○

Début juillet, à Bascatique, en rivière d'Auray, des mortalités de naissain sur tubes, d'origine différentes, sont signalées. Les analyses, récapitulées ci-dessous, ne montrent rien d'anormal. Des mortalités de Vernis sont signalées dans l'archipel des Glénans encore en juillet, les mortalités étaient anciennes, et il n'a pas été effectué de prélèvements. A la mi-juillet le suivi de la Baie de Quiberon révèle la présence de taches jaunes sur la glande digestive du naissain, sans lien avec d'éventuelles mortalités.

Sur d'autres lots en baie de Quiberon des mortalités ont pu atteindre 40% au mois d'août sur certains quadrats suivis.

Des mortalités de coques ont été signalées en août en baie de Pen-Bé; la chaleur, la présence simultanée d'un bloom de phytoplancton, auraient pu créer une hypoxie entraînant des mortalités allant jusqu'à 59%. Les analyses en pathologie ont montré des animaux pluriinfestés, avec des niveaux d'infestation parasitaire pouvant entraîner l'affaiblissement des individus. Ces mortalités coïncident aussi avec un temps orageux.

En Septembre des mortalités de naissain de coques ont été remarqués en Vilaine. Après transfert au Croisic les mortalités auraient atteints 40% au semis.

- **Vendée**

En Baie de Bourgneuff, 5 % de mortalité ont été signalées par des professionnels sur des juvéniles d'huîtres creuses. Un épisode de mortalité a été signalé et contrôlé dans une éclosérie-nurserie sur une ponte en phase de prégrossissement, atteignant dans certains cas 80% de perte.

- **Charente maritime**

En Juillet des mortalités anormales ont été signalées dans la fosse de Loix sur l'Île de Ré, sur du naissain de un an sur tubes de différentes origines chez plusieurs professionnels. Les Affaires Maritimes de la Rochelle ont organisé une commission de visite qui a confirmé des taux de mortalité élevés, mais seulement chez quelques professionnels, entre 40 et 80% sur le naissain, et pas chez les adultes. Les analyses de pathologie n'ont rien révélé d'inquiétant.

Les mortalités cumulées sur les adultes *C. gigas* de Perquis et Ronce au cours de l'été atteignaient au maximum de 30%. Il en est de même pour le naissain de Fouras.

Sur la plage de Ronce Les Bains, dans le cadre d'un suivi, des remontées et des mortalités importantes de coques *C. edule* ont été observées, suite aux premières fortes chaleurs de la mi-août, sur un sédiment noirâtre.

- **Arcachon**

Aucune mortalité sur parcs n'a été signalée sur les adultes comme sur le naissain de *C. gigas* au cours de l'été 1998. Par contre la baisse de recrutement a été spectaculaire et fait l'objet d'un paragraphe spécifique ci-dessus. Deux phénomènes de mortalités d'huîtres adultes en bassins d'expéditions ont été signalées, la première en Avril et l'autre en Mai, touchant de nombreux établissements. L'origine de ces mortalités a été attribuée aux conditions météorologiques d'Avril, avec une pluviométrie très forte, associée à l'augmentation de température de l'eau. Les taux d'infestation à *Polydora* auraient été importants cette année sur les huîtres creuses d'Arcachon, consécutifs à un hiver particulièrement doux, mais n'auraient pas eu d'incidence sur les mortalités.

- **Méditerranée**

Sur l'étang de Thau, les 25 et 26 Mai de très rares cas de mortalités de naissain ont été observées, qui n'ont pas excédées 10% .

En Corse sur l'étang de Diana des mortalités de naissain sur tubes ont été signalées en juin, de l'ordre de 30 à 70%. Les mortalités se sont stoppées en juillet, et aucun pathogène grave n'a été mis en évidence. Ces mortalités étaient localisées et limitées. Aucune mortalité sur parcs n'a été signalée sur les adultes comme sur le naissain de *C. gigas* au cours de l'été 1998.

2.3.3.2. baisse de recrutement sur Arcachon

Depuis le printemps 1982, date de l'interdiction des peintures antisalissures, le captage sur arcachon était soit moyen, avec quelques centaines de naissains par tuile, soit pléthorique, comme en 1994, 1995, 1996 et 1997 avec des fixations de plusieurs milliers de naissain par collecteur. (C. Pellier, 1998). Trois pontes successives n'ont permis en 1998 que la fixation d'une centaine de larves au maximum par tuiles.

La première ponte de début juillet, la plus importante, a connu une chute de température de 22-23° à 20°, et l'évolution des larves sera presque nulle jusqu'au stade de la fixation. La ponte de fin juillet aura a peu près rencontré les mêmes conditions : la chute de température, en ralentissant la croissance des larves les expose à une moindre survie par dispersion ou prédation. La troisième ponte, début août, sera plus faible que les précédentes, mais les conditions de température seront optimales, au-dessus de 22°C. Pourtant cette ponte ne sera pas suivie d'une fixation proportionnelle : le facteur température ne peut plus être impliqué à lui seul.

Différentes hypothèses ont été considérées :

- Le rejet de TBT a été écarté, compte tenu des différentes données d'analyses et d'observation du laboratoire IFREMER d'Arcachon (C. Pellier, 1998). D'autres facteurs anthropiques de nuisance peuvent cependant, exister.
- Des facteurs environnementaux défavorables :
 - La température optimale se situe entre 23 et 25°C.
 - La salinité qui doit être de l'ordre de 25 à 30‰, or au cours de l'été 1998 celle-ci a varié de 28.2 à 34.4‰.
 - La nourriture doit être suffisante : le nanoplancton doit être suffisamment abondant.
 - La prédation
 - La dispersion : l'échec de la troisième ponte peut être aussi liée à la dispersion, les secteurs concernés se situent en effet vers l'embouchure du bassin.
- Une origine infectieuse : des mortalités massives de larves de *Crassostrea gigas* ont pu être imputées à un virus de type herpès, en France, depuis plusieurs années, mais en milieu confiné.
- Un suivi des larves a été mis en place en 1999 afin de mieux comprendre ces événements.

2.3.3.3. mortalités d'ormeaux *Haliotis tuberculata*

Des mortalités massives en France d'ormeaux *Haliotis tuberculata* ont été notées au cours de l'hiver exceptionnellement froid de 1962-1963. Depuis 3 ans l'ormeau est exploité par quelques pêcheurs-plongeurs professionnels (41 licences) qui sont soumis à des quotas. En automne 1997 des cas de mortalités importantes ont été signalées en Bretagne Sud et de façon ponctuelle en Bretagne Nord, sans être officiellement confirmées et sans prélèvements effectués. (J. Mazurié *et al*, b, 1999)

Sur un secteur compris entre le Trieux et Saint Malo, et d'emblée de façon générale, dès le début du mois d'août 1998, des ormeaux ont été observés avec des anomalies de comportement, des troubles de taxie notamment (à l'envers ou se détachant facilement), ainsi que des coquilles vides. A la fin août, ces mortalités auraient atteints 75 à 90% de la population, à toutes les tailles, sur des ormeaux sauvages mais aussi sur ormeaux d'élevage d'origine irlandaise. Les mortalités ont été confirmées par des plongeurs IFREMER début octobre 1998. Les autres secteurs bretons n'auraient pas été touchés par ces mortalités (J. Mazurié *et al*, 1999). Il faut souligner que l'estimation des mortalités en milieu ouvert sur des animaux sauvages sur des observations ponctuelles est, par définition, biaisée et peu précise. Le transfert d'ormeaux *Haliotis tuberculata* vivants pour réimmersion récoltés sur le littoral de l'Ille et Vilaine et des Côtes d'Armor a été interdit par l'arrêté préfectoral n°271/98 du 12 novembre 1998. Différentes hypothèses ont alors été émises sur l'origine de ces mortalités :

- Une origine infectieuse : des maladies graves existent sur d'autres espèces d'ormeaux issus de pays tiers, mais il n'existe quasiment aucune étude de pathologie sur l'ormeau *Haliotis tuberculata*. La détection d'une maladie exotique ou émergente sur des animaux qui n'avaient jamais été étudiés jusque là a posé

de nombreuses difficultés, malgré la prise en compte d'un lot malade et d'un lot témoin. Les résultats des analyses de pathologie sont indiqués ci-dessous. Il n'a pas été possible d'identifier de pathogène ressemblant à *Perkinsus olseni*, agent de maladie à déclaration obligatoire de l'ormeau. L'isolement d'une souche de *Vibrio* en cours de caractérisation, permettra peut être de progresser sur une possible origine infectieuse.

- Une origine environnementale

Aucune pollution n'a été détectée de façon concomitante avec les mortalités. Des analyses biochimiques sur des enzymes de détoxification, réalisées sur 2 échantillons, l'un atteint et l'autre témoin, de 5 individus n'ont pas montré de différences significatives, ce qui ne confirme pas l'hypothèse toxicologique.

L'hypothèse d'intoxication par du phytoplancton n'a pas été retenue, compte tenu des résultats de surveillance. Une intoxication par une mauvaise qualité des algues servant d'alimentation aux ormeaux n'a pas été retenue. (J.Mazurié *et al*, 1999). La prédation ne semblait pas être anormalement importante sur ce secteur.

- Une origine physiologique

L'hypothèse suivante a été émise : à la suite des températures clémentes de l'hiver 97-98, il aurait pu y avoir deux cycles consécutifs de reproduction, au lieu d'un seul, ce qui aurait anormalement affaibli les ormeaux. Cette hypothèse serait cohérente avec la répartition spatiale des mortalités observées, compte tenu des températures marines sur la bande côtière au cours de 1997 et 1998. (J.Mazurié *et al*, 1999)

2.3.3.4. 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	sites	mois	Type d'élevage	Nb individus analysés	Résultats
3	Etang de Thau	juillet	suspendu	• 38/histo (2 lots)	• RAS
5	Cap Ferret (mauvaise performances de croissances sans mortalités associées)	décembre	Elevage en poches	• 30/histo • 30/macrosco pie	• 2/30 Ciliés • 1/30 <i>Myicola</i> • 1/30 Rickettsies • 28/30 chambrage à <i>Polydora</i>
6	• Château d'Oléron • Oléron	• Mars • mai	• dégorgeoir • claire	• 13/histo • 28/histo	• 1/13 Rickettsies • 3/28 <i>Mytilicola</i> • 1/28 <i>Marteilia</i> * • 1/28 Ciliés
8	• Baie de Quiberon • Cotes d'Armor • Penzé	• Janvier • Avril • Avril	• Elevage au sol • Poches • Poches	• 10/histo • 20/histo (2lots) • 15/histo(2	• 1/10 inflammation tissulaire. • 2/10 inflammation tissulaire • 2/10 ciliés • 1/7 <i>Mytilicola</i>

	<ul style="list-style-type: none"> Rivière d'Étel Saint Philibert 	<ul style="list-style-type: none"> Août avril 	<ul style="list-style-type: none"> Poches Bassin 	lots) <ul style="list-style-type: none"> 10/histo 15/histo(2 lots) 	<ul style="list-style-type: none"> 1/7 Ciliés 1/8 <i>Mytilicola</i> 2/10 <i>Hexamita</i> 3/7 érosion diverticules digestifs 3/8 Chlamydiés
--	---	---	--	---	---

commentaires

Aucun des agents observés ne peut être imputé dans les mortalités observées. Les taux de prévalence et d'infestation sont d'ailleurs très faibles. Les inflammations tissulaires, l'érosion des diverticules digestifs peuvent être considérés comme une réponse à une agression, quelle soit environnementale ou infectieuse, mais qui sont assez fréquemment observés. *Mytilicola* est un copépode parasite du tube digestif, mais qui ne peut avoir une action qu'avec un fort niveau d'infestation, ce qui n'est pas le cas ici. *Myicola* est aussi un copépode, fréquent dans les branchies. L'animal présentant du *Marteilia* était probablement une huître plate, qui avait mal été identifiée. Le lot venait en effet de l'Ile d'Aix, où il existe un recrutement sauvage d'huîtres plates qui peuvent éventuellement être confondues avec des huîtres creuses. *Hexamita* est un protozoaire considéré comme un opportuniste (Bower *et al*, 1994).

- 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
1	<ul style="list-style-type: none"> Etang de Diane 	juin	suspendu	<ul style="list-style-type: none"> 30/histo 	<ul style="list-style-type: none"> 1/30 Ciliés
6	<ul style="list-style-type: none"> Ile de Ré (fosse de Loix) 	juillet	tubes	<ul style="list-style-type: none"> 30/histo 60/PCR 	<ul style="list-style-type: none"> 2/30 <i>Mytilicola</i> 1/30 haplo 1/30 tricho (ciliés) 1/30 ciliés 0/6 pools ADN de type herpès
8	<ul style="list-style-type: none"> Baie de Quiberon Golfe du Morbihan 	<ul style="list-style-type: none"> Janvier Mai 	<ul style="list-style-type: none"> sol (jeunes) tuiles poches poches 	<ul style="list-style-type: none"> 10/histo 20/macroskopie 10/histo hémalun 3/histo feulgen 30/PCR 10/histo hémalun 30/PCR 10/histo hémalun 	<ul style="list-style-type: none"> 2/10 inflammation tissulaire 2/20 <i>Mytilicola sp</i> 1/10 <i>Mytilicola</i> 3/3 anomalies nucléaires 0/6 ADN de type herpès 2/10 <i>Mytilicola</i> 0/6 ADN de type herpès 1/10 <i>Mytilicola</i>

	<ul style="list-style-type: none"> • Morlaix • Rivière d'Auray 	<ul style="list-style-type: none"> • Août • Mai • Juillet 	<ul style="list-style-type: none"> • sol • sol • poche (jeunes) • tube • tube 	<ul style="list-style-type: none"> • 30/PCR • 10/histo hémalun • 30/PCR • 10/histo hémalun • 30/PCR • 10/histo hémalun • 30/PCR • 10/histo hémalun • 30/PCR • 10/histo hémalun • 30/PCR 	<ul style="list-style-type: none"> • 0/6 ADN de type herpès • 2/10 <i>Mytilicola</i> • 0/6 ADN de type herpès • 2/10 <i>Mytilicola</i> • 2/10 <i>Hexamita</i> • 0/6 ADN de type herpès • 2/10 <i>Mytilicola</i> • 0/6 ADN de type herpès • 2/10 inflammation tissulaire • 2/10 ciliés • 0/6 ADN de type herpès • 1/10 <i>Mytilicola sp.</i> • 1/10 <i>Myicola sp</i> • 0/6 ADN de type herpès
--	--	--	--	--	---

Commentaires :

- sur la détection d'ADN viral : aucune des mortalités observées n'a 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.
- Le cas d'haplosporidie est à rapporter à ce qui a été évoqué au cours du suivi de base, l'observation d'haplosporidies sp chez gigas n'est pas associé, jusqu'à présent, à des épisodes de mortalité. Le taux de prévalence observé est aussi toujours très faible.

- huîtres creuses larves du milieu naturel

Zones	sites	mois	prélèvement	filtre	Résultats
5	Arcachon	14/08	surface	60µm, PCR : OHV3- OHV4,OHV114	négatifs
5	Arcachon	24/08	surface	130µm, PCR : OHV3- OHV4,OHV114	négatifs

Commentaires :

Ces résultats seraient à confirmer par d'autres analyses, en effet la technique de PCR pour les larves n'a été testé auparavant que sur des larves d'écloserie (T. Renault, comm. pers). Les larves du milieu naturel sont mélangés avec du plancton de même taille ce qui pourrait provoquer une diminution de la sensibilité de la technique.

2.3.3.5. Ormeaux

sites	mois	Type d'élevage	Nb individus analysés	Résultats
Bassin de la Rance	Août	gisement	• 18/histo • 1/bactério	• 13 avec hépatopancréas +/- détruit • isolement <i>Vibrio</i>
Bassin de la Rance	Août	élevage	• 18/histo • 1/bactério	• 12 RAS • isolement <i>Vibrio</i>
Saint Malo	Août	gisement	• 24/histo	• 1/24 métazoaire indéterminé
Saint Malo	Septembre	gisement	• 10/histo	• 1/10 métazoaire indéterminé.
Erquy (lot témoin)	Septembre	gisement	• 10/histo	• 10 RAS

Les résultats seront à confirmer par le suivi réalisé en 1999, notamment pour la recherche de *Perkinsus olseni*. *Vibrio alginolyticus*, qui n'est peut être pas de la même espèce de celui qui a été observé sur ces lots, a été impliqué dans des cas de mortalité anormale en écloserie, sur l'espèce *Haliotis rufescens*, mais pas en milieu ouvert, sur des adultes. Les métazoaires ne peuvent être identifiés par histologie, mais ceux ci sont rarement impliqués dans les mortalités, le niveau d'infestation et la prévalence observés ici étaient faibles.

2.3.3.6. autres espèces

- *Ostrea edulis* sur naissain

Zones	sites	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
6	Marennes	juillet	naissain	10/PCR	Absence de détection d'ADN viral de type herpès
7	Bouin	juillet	naissain	30/PCR	Absence de détection d'ADN viral de type herpès

Il faut rappeler que du virus de type herpès a déjà été détecté sur du naissain d'huîtres plates (Comps et Cochenec, 1993).

Il n'a pas été possible d'en détecter ici.

- *Mytilus edulis*

Zones	sites	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
8	• Baie de la Fresnaye	• Octobre	• Jeunes (élevage sur bouchots)	• 20/histo	<ul style="list-style-type: none"> • 1/20 inflammation tissulaire • 1/20 hyperplasie hémocytaire atypique • 1/20 métazoaire non déterminé • 8/20 mytilicola sp
		• Novembre	• Jeunes (élevage sur bouchots)	• 30/macrosopie	• 2/30 crabe pinnothère
	• Vilaine (dégrappage)		• Jeunes (élevage sur bouchots)	• 30/histo	<ul style="list-style-type: none"> • 3/30 mytilicola sp • 1/30 ciliés • 1/30 crabe pinnothère
		• Jeunes (élevage sur bouchots)	• 30/macrosopie	• 3/30 métacercaires	• 2/30 mytilicola

Aucun des pathogènes observés, sauf le cas d'hyperplasie hémocytaire atypique ne peut expliquer une mortalité de moules.

Le taux de prévalence de cette maladie est comparable à ceux observés en l'absence de mortalités. Il n'est donc pas possible d'affirmer qu'un pathogène soit à l'origine de ces mortalités.

- mortalités anormales de *Cerastoderma edule*

Zones	sites	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
6	Banc de Barrat	mars	Adultes/gisement	30/histo	<ul style="list-style-type: none"> • 4/30 meio • 6/30 sporocystes • 2/30 Hima • 1/30 Para • 27/30 Greg • 15/30 Rickettsies • 3/30 métazoaire
8	• Pen Bé	• Août	• Adultes/gisement	• 40/état frais	<ul style="list-style-type: none"> • 30/40 meio • 5/40 labra • 31/40 Hima • 13/40 Tricho • 1/40 Parav • 2/40 Pinnothère • 5/40 Renicola

	• Vilaine	• Septembre	• Naissain/gisement	• 20/histo • 20/état frais	• 14/20 trématodes • 8/20 rickettsies • 10/20 grégarines • 1/20 métazoaire • 20/20 meio • 15/20 parav • 4/20 vers métazoaire
--	-----------	-------------	---------------------	-----------------------------------	--

Les mortalités de coques évoquées dans ce tableau peuvent dans certains cas s'expliquer au moins en partie par les agents pathogènes rencontrés:

- Sur le Banc de Barrat, les sporocystes de Trématodes observés mais non identifiés prenaient un caractère envahissant. Le faible taux de prévalence ne permet pas de conclure sur un rôle éventuel dans les mortalités observées.
- A Pen Bé, les taux de prévalence mais surtout les niveaux d'infestation, avec très souvent de nombreux parasites différents sur un même animal, pouvaient certainement jouer un rôle dans l'affaiblissement ou la mort des individus. Cette mortalité était concomitante avec de fortes chaleurs et des possibilités d'anoxie à certains endroits, ce qui a pu être le facteur déclenchant des mortalités observées sur des individus affaiblis par de nombreux parasites. Les animaux prélevés, étaient des survivants de l'épisode de mortalité de plus de 60%, mais n'ont survécu que de 24 heures aux autres coques, ce qui laisse soupçonner des infestations encore plus fortes avant les mortalités. Là encore un suivi aurait pu apporter des informations complémentaires, mais le nombre de sites à suivre sur le littoral français s'avèrerait trop élevé pour le REPAMO.
- En Vilaine, le gisement a quasiment disparu. Des facteurs environnementaux semblent en être la cause.
- Les vers métazoaires évoqués ici sont des larves de Nématodes qui ont aussi été observés au Croisic. Cette infestation semble sporadique, avec des taux de prévalence limités mais ces larves de longueur importante, de l'ordre du centimètre peuvent prendre un caractère envahissant et altèrent visiblement la vitalité des coques.
- Les mortalités de 1997 au Croisic ont été l'objet d'un rapport (Fleury, P. G. , *et al*, 1998).

- mortalités de *Ruditapes philippinarum* et *decussatus*

Zones	sites	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
6	• Seudre	• Février	• Adultes (gisement)	• 6/histo	• 6/6 branchies nécrosées • 1/6 métacercaires enkystés
	• Banc de Perquis	• Mars	• Adultes (gisement)	• 45/histo	• 18/45 branchies nécrosées • 5/45 Rickettsies • 3/45 métazoaires • 1/45 trématode
	• Banc de Barrat	• Mars	• Adultes (gisement)	• thioglycollate • 50/histo	• RAS • 36/50 branchies détruites • 7/50 rickettsies • 5/50 métazoaire indéterminé
	• Seudre	• mars	• Adultes (gisement)	• thioglycollate	• RAS

				• 12/histo	• 3/12 turbellarié • 4/12 rickettsies
7	• Noirmoutiers, Fort Larron	• Mars	• Adultes (gisement)	• 15/histo	• 1/15 trématodes • 1/15 turbellarié • 1/15 rickettsies
	• Sud Loire-	• Août	• Adultes (gisement)	• 15/histo	• 2/15 métazoaire indéterminé • 8/15 trématode non identifié
				• 15/histo	• 1/15 métazoaire indéterminé • 11/15 trématode non identifié

Aucun des agents susceptibles d'induire des mortalités, comme ceux évoqués dans le suivi de base n'ont été observé sur ces lots présentant des mortalités.

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

Espèce	Zones d'analyse	origine	mois	Age	Nb individus analysés	Résultats
<i>Ruditapes decussatus</i>	4	Tunisie (Sfax)	Novembre	• adultes	• 39/histo • 33/histo	• 3/39 <i>Perkinsus</i> • 2/39 <i>Rickettsies</i> • 19/39 trématodes • 2/39 Ciliés • 1/39 Bactéries • 3/39 grégarines like • 8/33 <i>Perkinsus</i> • 1/33 <i>Rickettsies</i> • 17/33 trématodes • 2/33 Ciliés • 1/33 Bactéries
<i>Ostrea edulis</i>	4	Croatie	Décembre 97	• adultes	• 31/histo • 1 microscopie électronique sur individu avec HHA	• 1/31 Hyperplasie hémocytaire tous organes • 1/31 Cestode branchie • RAS
<i>Venerupis lamellosa</i>	6	Ile Maurice	Mai	• adultes	• 30/histo	• 6/30 <i>rickettsies</i> • 2/30 métazoaires
<i>C. gigas</i>	6	Japon	Mai	• adultes	• 30/histo	• 3/30 <i>Mytilicola</i> • 1/30 <i>Mycicola</i> • 2/30 Ciliés
<i>C. edule</i>	6	Roumanie	Novembre	adultes	• 30/histo	• 30/RAS
<i>M. galloprovincialis</i>	6	Roumanie	Novembre	adultes	• 30/histo	• 30 nécrose GD
<i>C. gigas</i>	6	Roumanie	Novembre	naissain	• 17 PCR	• 0/17 virus type Herpès.
<i>C. gigas</i>	6	Argentine	Mai	adultes	• 76/histo	• 76 RAS
<i>R. philippinarum</i>	8	Irlande	Janvier	adultes	• 91/macro	• RAS (0 anneau brun)
<i>C. gigas</i>	8	Guernesey	Juillet	adultes	• 8/histo	• 0/8 RAS

Aucun des lots ci-dessous n'a été réimmergé, sauf les deux derniers lots, et ceci conformément à la législation interdisant la réimmersion de coquillages issus de pays tiers.

Ces analyses sont souvent faites à la demande des représentants ou de professionnels de ces pays. Ces analyses n'ont pas révélé d'agents de la liste des maladies à déclaration obligatoire. La recherche en microscopie électronique d'un agent responsable de l'hyperplasie hémocytaire d'une huître plate de Croatie n'a rien donné. Ces analyses ne révèlent pourtant certainement pas l'état zoosanitaire de leur pays d'origine.

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

Espèce étudiée	Nb indiv (nb lots)	programme	Laboratoire concerné	Méthode d'analyses	Pathogènes détectés
<i>C. gigas</i>	631	génétique	Sète	histologie	<ul style="list-style-type: none"> • Ciliés • <i>Mytilicola</i>
<i>C. angulata</i>	30	génétique	Tremblade	histologie	<ul style="list-style-type: none"> • 2/30 Métazoaires
<i>O. edulis</i>	477 (16 lots)	génétique	Trinité	frottis	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Bonamia</i> • <i>Haplosporidies</i> (un cas)
<i>O. edulis</i>	338 (9 lots)	génétique	Trinité	frottis	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Bonamia</i> • <i>Haplosporidies</i> (deux cas)

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 : les Haplosporidies qui ont été découvertes ici sur *Ostrea edulis* peuvent être l'objet de recherches ultérieures en taxonomie (Pichot et al, 1979, et Bonami et al, 1985). De même sur *Crassostrea angulata*, la recherche de l'iridovirus peut fournir des renseignements épidémiologiques précieux sur ce virus et sa survie.

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

répartition par espèces :

ESPECE	B O N A M I A	M A T E L I A	H A P R O I S I D E S	P E R C U S I E S	C O R C U S I E S	V I R I P E R I O S I E S	H Y P E R I P E R I O S I E S	V I B R I O S I E S	B A C T E R I E S	R I C K E T 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 N T E L L I B R U N I D E S	A N T E L L I C O L A R I E S	T U R B E L L O C L I N E S	T R I C H O D O R E S	P O L Y D O R E S	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>Ostrea edulis</i>	P	P	P				P							ces tod es						
<i>Mytilus edu</i>		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			
<i>Haliotis tuberculata</i>								P						P						
<i>Pecten maximus</i>									P					P						
<i>Mercenaria mercenaria</i>									P											
<i>Cr. angulata</i>														P						
<i>Venerupis aurea</i>			P											P						
<i>Venerupis lamellosa</i>									P					P						

Légendes :

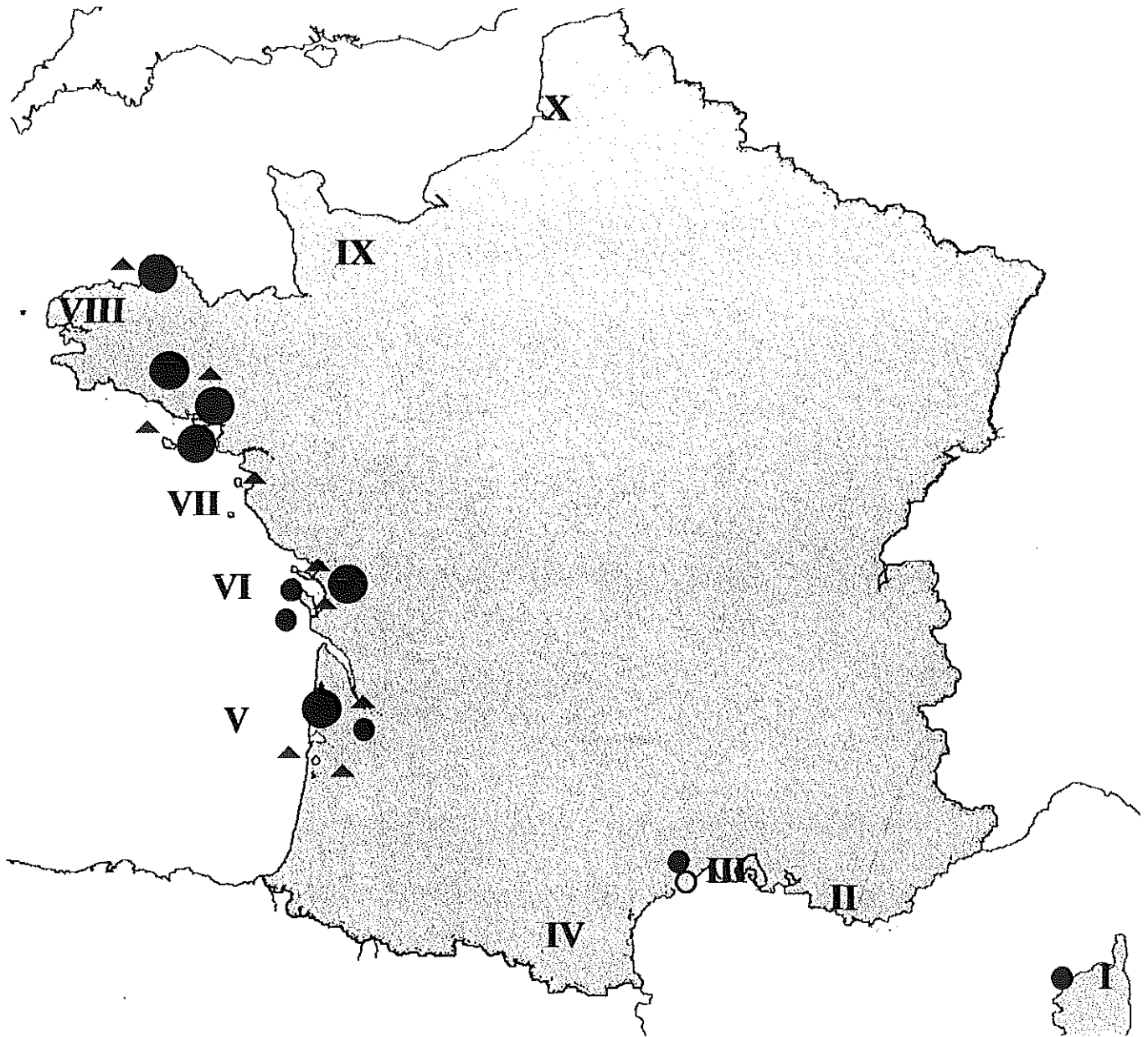
- P : présent sur un des lots au cours du suivi du REPAMO.
- les agents marqués d'un * ne sont pas systématiquement relevés, soit qu'ils soient considérés comme des opportunistes, et non comme des agents pathogènes, soit que la technique d'analyse adaptée ne soit pas effectuée en routine sur certaines 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 symbiontes observés en 1998 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 *Ostrea edulis* en annexe 12.
 - Pour *Mytilus edulis* et *galloprovincialis* en annexe 13.
 - Pour *Cerastoderma edule* en annexe 14.
 - Pour *Ruditapes decussatus* et *philippinarum* en annexe 15.
 - Pour *Haliotis tuberculata* en annexe 16.
 - Pour *Pecten maximus* en annexe 17.

ANNEXE 11 : Répartition géographique des agents observés sur *C. gigas* en 1998



Légendes

- | | |
|------------------------|---------------------|
| ● Haplosporidies | ● <i>Polydora</i> |
| ● virus de type herpès | ● <i>Mytilicola</i> |
| ○ <i>Marteilia</i> | ● hexamita |
| ● Rickettsies | ● taches jaunes |
| ● Ciliés | |

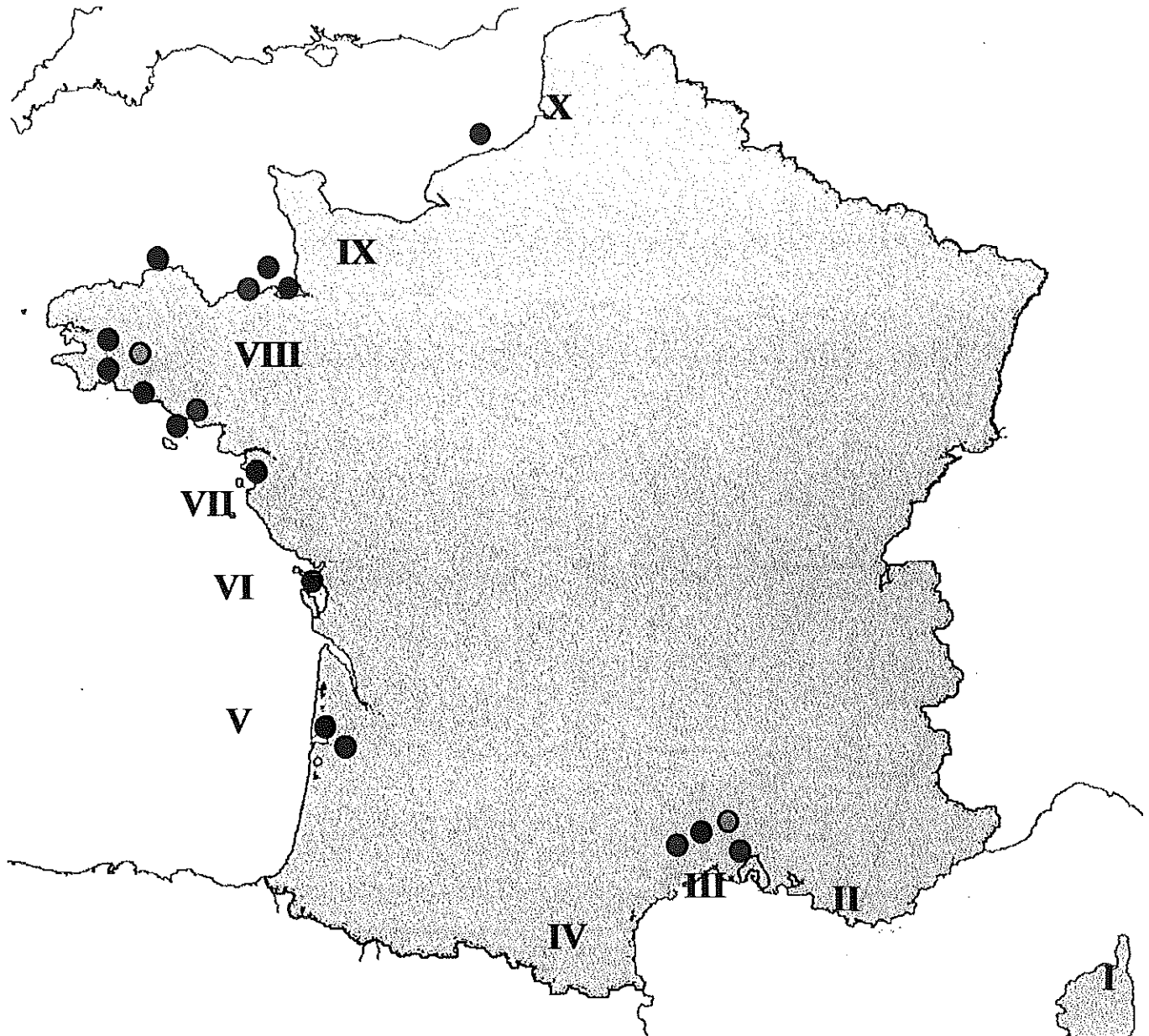
Taux de prévalence non estimé △

Taux de prévalence sur le lot 1-5% : ○

5-30% : ○

> 30% : ○

ANNEXE 12 : Répartition géographique des agents observés autres que *Bonamia* et *Marteilia* sur *Ostrea edulis* en 1998



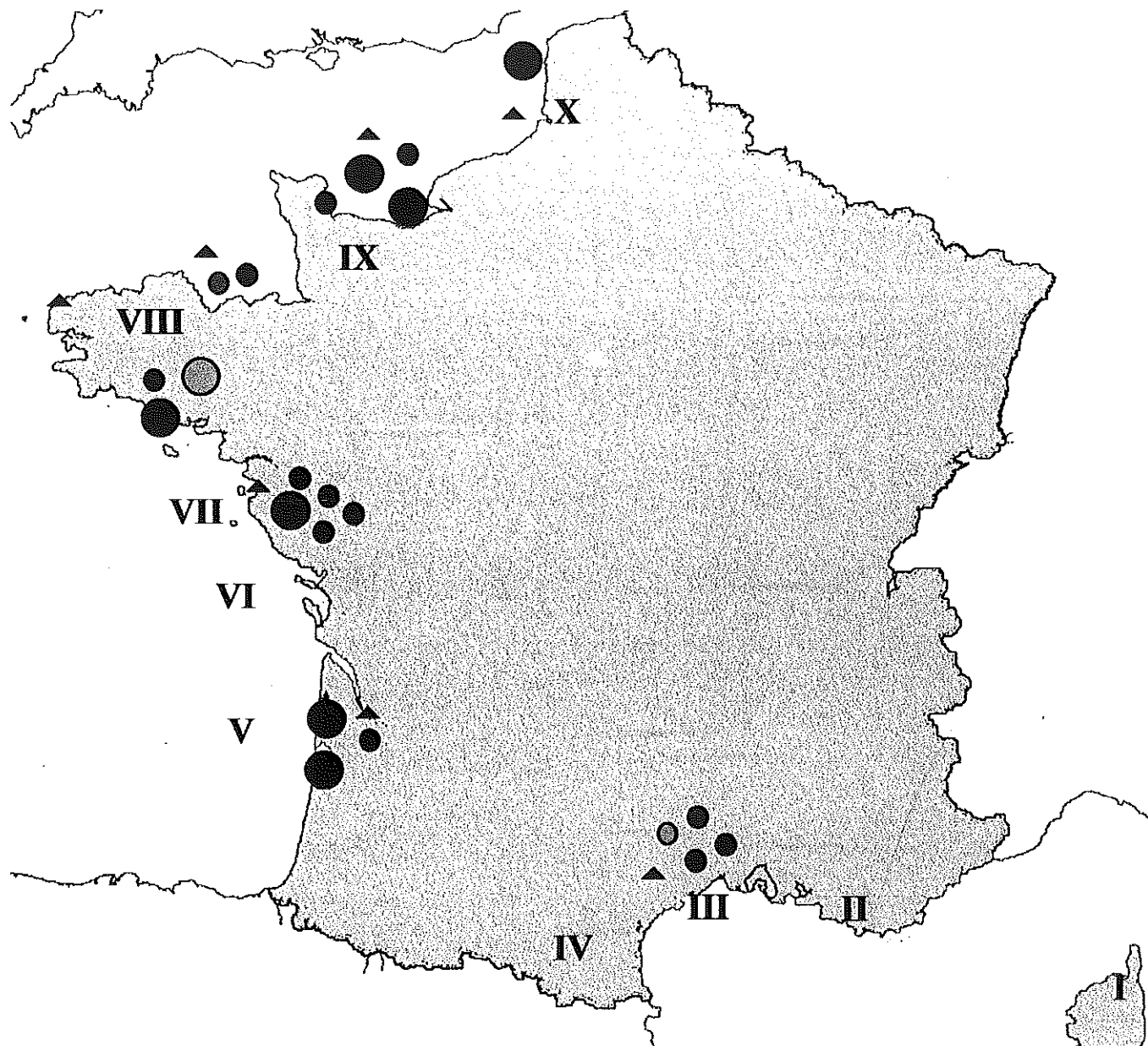
Légendes

- | | |
|-------------------|----------------------------|
| ● Haplosporidies | ● bactéries |
| ● Mytilicola | ● infiltration hémocytaire |
| ● <i>Hexamita</i> | ● trématodes |
| ● Rickettsies | ● métazoaire |
| ● Ciliés | |

Taux de prévalence non estimé △

Taux de prévalence sur le lot 1-5% : ○ 5-30% : ○ > 30% : ○

ANNEXE 13 : Répartition géographique des agents observés sur *Mytilus edulis* et *galloprovincialis* en 1998



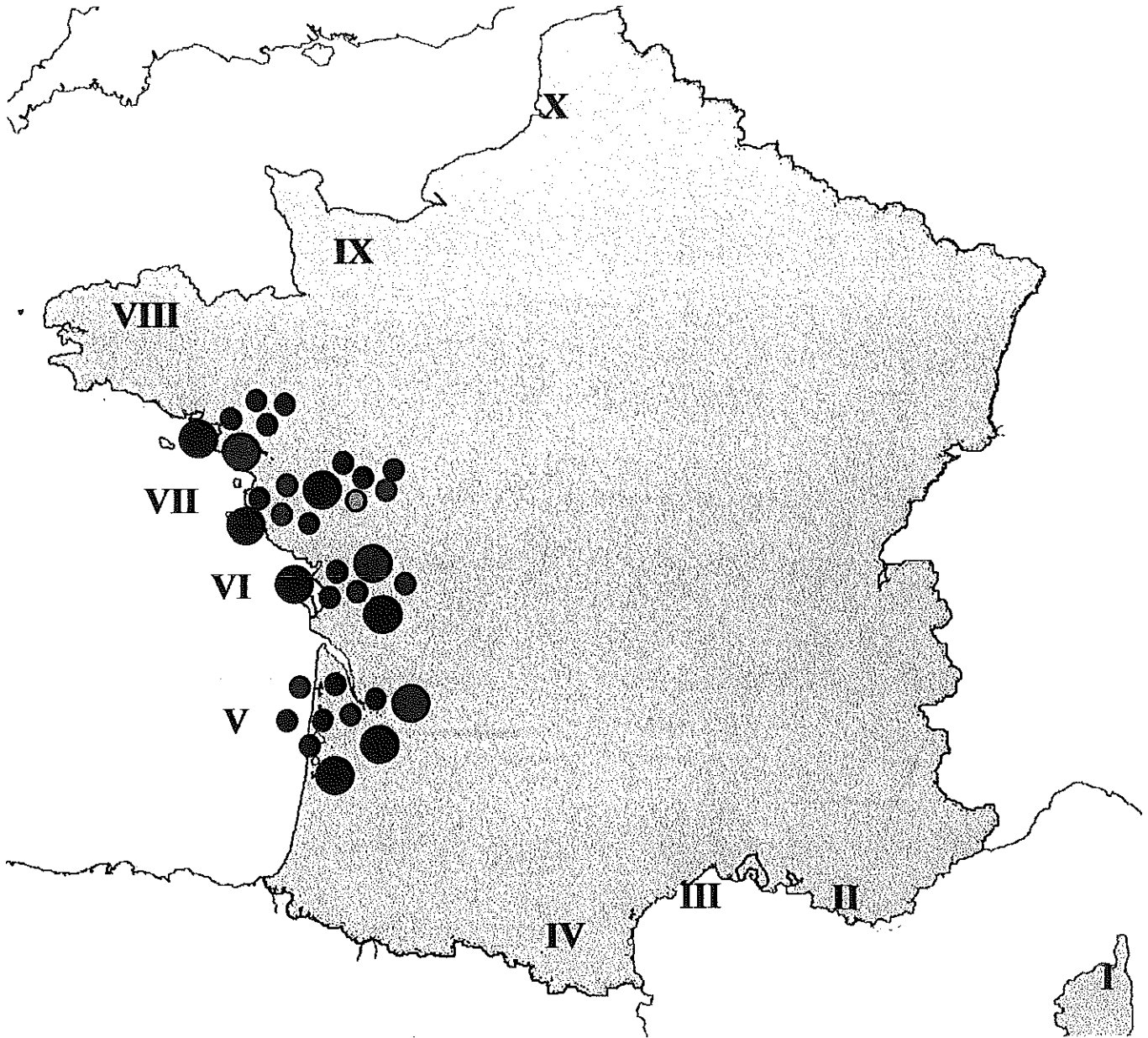
Légendes

- trématodes
- Hyperplasie hémo. aty.
- *Marteilia*
- Rickettsies
- Ciliés
- *Mytilicola*
- grégaires
- métazoaires ind.

Taux de prévalence non estimé △

Taux de prévalence sur le lot 1-10% : ○ 10-30% : ○ > 30% : ○

ANNEXE 14 : Répartition géographique des agents observés sur des gisements naturels de *Cerastoderma edule* en 1998



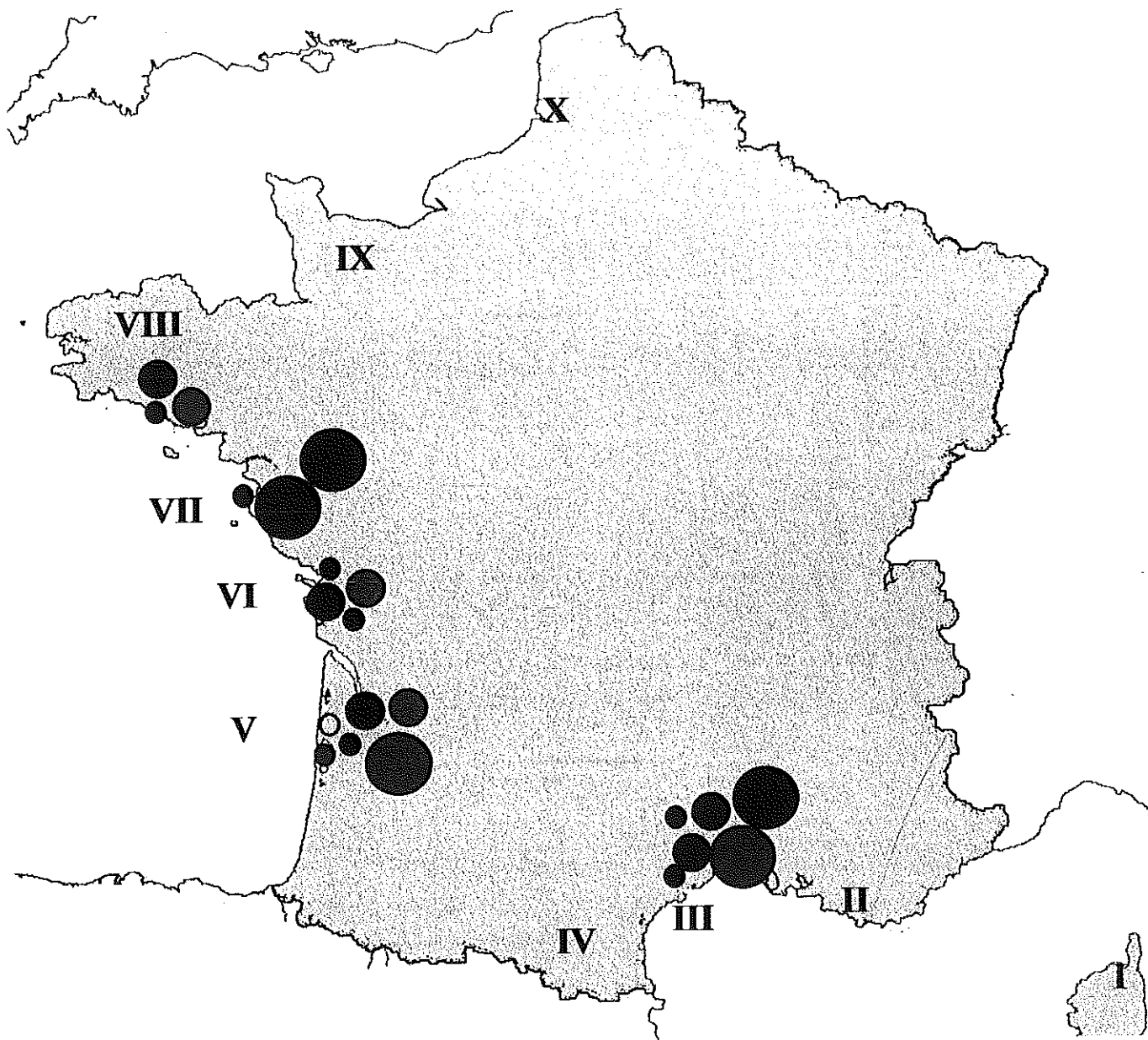
Légendes

- | | |
|--------------------------|----------------------|
| ● Haplosporidies | ● Trématodes (Labra) |
| ● Hyperplasie hémo. aty. | ● <i>Mytilicola</i> |
| ○ Coccidies | ● Grégarines |
| ● Rickettsies | ● Métazoaires ind. |
| ● Ciliés | ● Trichodines |
| ● Trématodes (Meio) | ● Trématodes (Hima) |

Taux de prévalence non estimé △

Taux de prévalence sur le lot 1-10% : ○ 10-30% : ○ > 30% : ○

ANNEXE 15 : Répartition géographique des agents observés sur des gisements naturels de *Ruditapes decussatus* et *philippinarum* en 1998



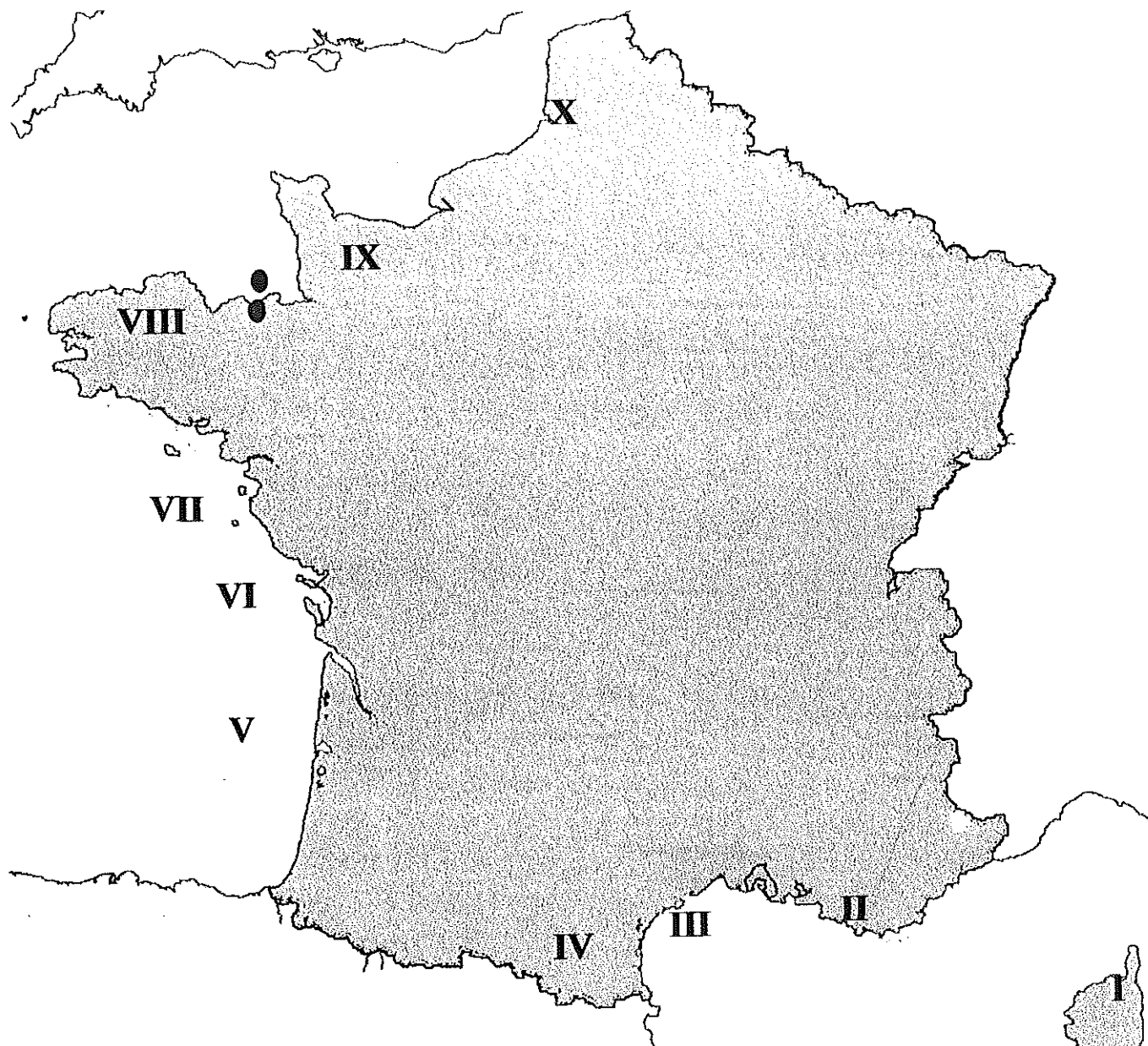
Légendes

- | | |
|-------------------------------|----------------------|
| ● Haplosporidies | ● Trématodes |
| ● <i>Perkinsus atlanticus</i> | ● calcification pied |
| ○ Anneau brun | ● Grégarines |
| ● Rickettsies | ● Métazoaires ind. |
| ● Ciliés | ● Trichodines |
| ● bactéries ind | |

Taux de prévalence non estimé △

Taux de prévalence sur le lot 1-10% : ○ 10-30% : ○ > 30% : ○

ANNEXE 16 : Répartition géographique des agents observés sur *Haliotis tuberculata* en 1998



Légendes

● *Vibrio*

● Métazoaire indéterminé

Taux de prévalence non estimé △

Taux de prévalence sur le lot 1-10% : ○

10-30% : ○

> 30% : ○

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 (rapport non disponible), Anne Geneviève Martin *et al* (1999) pour la zone Atlantique Nord.

Les volumes d'analyse se sont encore accrus en 1998, de 12 564 à 19 154 animaux analysés. Ceci est partiellement dû à la simplification du protocole de la technique de PCR pour la détection d'ADN de type herpès. Le réseau d'essai a donné, une fois encore des résultats satisfaisants. Les analyses réalisées n'ont pas mis en évidence de nouvel agent pathogène ou d'agent pathogène exotique.

La diversification des espèces suivie et des techniques d'analyses réalisées est une conséquence prévisible des objectifs initiaux. Ceci ne se fait pas au détriment de la qualité du travail effectué par le réseau mais doit être structuré. La plupart des techniques ne sont pas forcément validées, et ne sont utilisées que dans un objectif de complémentarité à côté des techniques classiques. Certaines, comme la bactériologie, ne peuvent d'ailleurs actuellement n'être effectuées que sur un seul site, La Tremblade.

L'utilisation de la liste REPAMO via intranet IFREMER a été de nouveau particulièrement appréciée, au sein des partenaires IFREMER, afin d'améliorer la qualité et la vitesse de communication, de première importance pour les tâches d'épidémiologie.

De nombreuses procédures devront être davantage précisées, notamment celles qui ne sont pas définies par la législation, afin de permettre une meilleure interprétation des résultats. Cette élaboration exige un certain temps, compte tenu de nombreuses contraintes techniques et des moyens humains non négligeables. On pourrait ainsi parvenir à un meilleur réseau de surveillance national des mollusques, qui, déjà, n'a pas son équivalent dans d'autres pays.

Les procédures qui doivent encore être améliorées sont les suivantes :

- Suivi de l'évolution de *Bonamia ostreae*, *Marteilia refringens*, dans les zones contaminées, et suivi de l'évolution du virus de type herpès. Dans ce dernier cas, le choix de sites sentinelles en Charente Maritime et à Arcachon pourrait donner de précieuses indications. C'est ce qui a été amorcé en 1998 en Charente.
- Suivi de base des gisements et des élevages, notamment pour *C. gigas*. Le choix de dates similaires de prélèvements permettrait une meilleure comparaison entre zones, mais de nombreuses contraintes techniques doivent d'abord être résolues. De même le choix de ces dates devrait répondre à des objectifs d'épidémiologie descriptive. Pour *C. gigas*, le problème des transferts empêche une description correcte des élevages par zones. Une autre approche doit alors être envisagée, qui ne sera plus régionale mais nationale.
- Suivi des mortalités anormales : le déficit de captage sur Arcachon et les mortalités d'ormeaux n'ont pas pu être élucidées. Il faut aussi mesurer que déterminer une origine de mortalité demande des spécialités pluridisciplinaires, ce qui peut être difficile à mettre en place. Les prélèvements ne doivent pas trop tardifs par rapport aux mortalités. En milieu marin, les mortalités sont difficiles à détecter avant des valeurs qui sont souvent très importantes. Enfin, les techniques d'analyse sont encore un facteur limitant pour une réponse à la fois rapide, spécifique et sensible pour détecter une maladie émergente.
- Suivi des importations à destination venant de pays européens ou de pays tiers autorisés : une meilleure connaissance de la circulation des animaux pourra nous permettre d'effectuer des prélèvements sur les lots concernés.

Ces difficultés si elles sont importantes, sont pour la plupart en voie d'amélioration ce qui laisse présager un meilleur suivi possible.

LISTE DES ANNEXES

- **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 1998
- **Annexe numéro 7** : Principaux résultats des analyses de *Marteilia refringens* sur des adultes *Ostrea edulis* en 1998
- **Annexe numéro 8** : Résultats positifs des analyses de recherche d'ADN de type herpès sur du naissain de *Crassostrea gigas* en 1998
- **Annexe numéro 9** : Maladies à déclaration obligatoire d'après données de l'OIE 1998
- **Annexe numéro 10** : Déclaration de cas de mortalités anormales
- **Annexe numéro 11** : Répartition géographique des agents observés sur *C. gigas* en 1998.
- **Annexe numéro 12** : Répartition géographique des agents observés autres que *Bonamia* et *Marteilia* sur *ostrea edulis* en 1998.
- **Annexe numéro 13** : Répartition géographique des agents observés sur *Mytilus edulis* et *M. galloprovincialis* en 1998.
- **Annexe numéro 14** : Répartition géographique des agents observés sur des gisements naturels de *Cerastoderma edule* en 1998.
- **Annexe numéro 15** : Répartition géographique des agents observés sur des gisements naturels de *Ruditapes decussatus* et *R. philippinarum* en 1998.
- **Annexe numéro 16** : Répartition géographique des agents observés sur *Haliotis tuberculata* en 1998.
- **Annexe numéro 17** : Répartition géographique des agents observés sur *Pecten Maximus* en 1998.

*textes nationaux :

- Loi 92-654 du 13 juillet 1992 : relative au contrôle de l'utilisation et de la dissémination des OGM.
- 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 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 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., 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.

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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.

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., Cochennec, N. (1994). Experimental transmission of herpes-like virus to axenic larvae of Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists 142(2), 69-71.

Le Deuff, R. M. (1995). Contribution à l'étude de virus de mollusques marins apparentés aux Iridoviridae et aux Herpèsviridae. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux II, 389, 1-234.

Le Deuff, R.M., Renault, T. , Gerard, A. (1996). Effects of temperature on herpes-like virus detection among hatchery-reared larval Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Disease of Aquatic organisms 24(2), 149-157.

Le Deuff, R.M., Renault, T. (1999). Purification and partial genome characterisation of a herpes-like virus infecting the Japanese oyster, *Crassostrea gigas*. Journal of General Virology, (80), 1317-1322.

Martin , A. G. , Fleury P.G. , Tigé, G. , Hirata, T. , Le Coguc, 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 Coguc, 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 Coguc, 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 Coguc, Y., Bilan du REPAMO Cellule de la Trinité sur Mer en 1998. -sous presse .

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.

Nicolas, J. L., Comps, M., Cochennec, N. (1992) (1992). Herpes-like virus infecting Pacific oyster larvae, *Crassostrea gigas*. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists 12(1), 11-13.

Office International des Epizooties (1997). Manuel de diagnostic des maladies des animaux aquatiques. OIE.1-251.

- 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.
- 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.
- Thébault, A. , Berthe, F. , Michelot, A., Aspects juridiques concernant la surveillance zoosanitaire des coquillages. Rapport IFREMER in press.
- Thébault, A. Bulletins des mortalités estivales de coquillages marins 1998. Rapport IFREMER 1998, 1-4.
- 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.