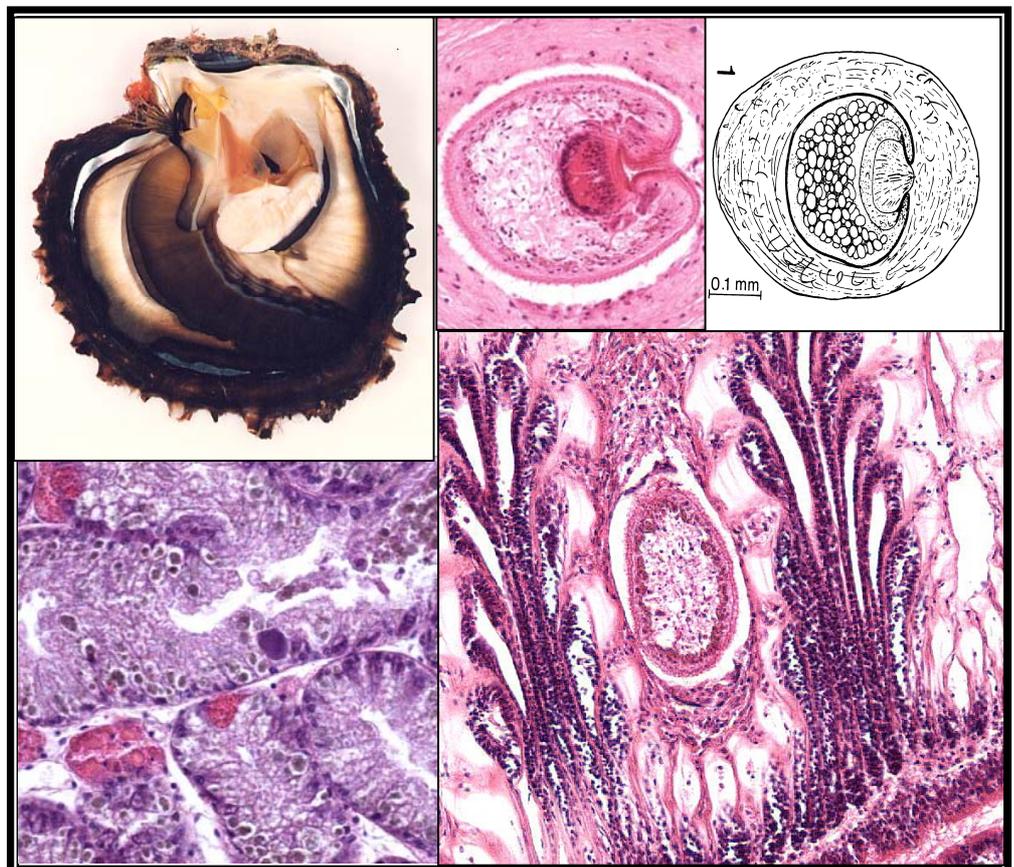


## Bilan 2005-2006 du Réseau de Veille Zoosanitaire des huîtres perlières *Pinctada margaritifera* en Polynésie Française



**Bilan 2005-2006 du Réseau de Veille Zoosanitaire  
des huîtres perlières, *Pinctada margaritifera*  
en Polynésie française**

**(Convention n°6.0084 du 8 mars 2006)**

Nathalie Cochennec-Laureau (Ifremer)

Angélique Fougereuse (PRL)

Antoine Pellan (PRL)

Peva Levy (Ifremer)

## Résumé

En 2005 et 2006, un total de 1333 analyses réparties en 1109 huîtres perlières, *P. margaritifera*, 93 pipi, *P. maculata*, 27 chama, *Chamidae* sp, 46 kapi kapi, *Saccostrea cucullata* et 58 *Isognomon* sp. ont été effectuées dans le cadre du REseau de PATHologie des huîtres perlières (REPANUI). Les analyses histologiques ont révélé comme les années précédentes la présence de sporozoaires de type **grégarine**, des parasites de type **Rickettsien**, des kystes de **cestodes** (*Tylocephalum* sp.). Une infection par des vers **trématodes** a été détectée chez *S. cucullata*.

**Depuis la mise en place de cette surveillance active en 2003, aucun agent pathogène à déclaration obligatoire de la liste de l'Office International des Epizooties (OIE) n'a été diagnostiqué, confirmant le bon état sanitaire des mollusques bivalves analysés en Polynésie française.** En outre, aucun épisode de mortalité ni de morbidité anormale n'a été relaté depuis le début de la mise en place de ce réseau.

L'effort analytique consenti depuis 2003 a permis de déterminer les taux de prévalence, d'infection, la répartition géographique et temporelle des principaux organismes décrits chez *P. margaritifera* (protozoaires et métazoaires). Toutes ces analyses ont permis de développer une base de données informatiques et une «bibliothèque» de lames histologiques de référence des tissus sains et parasités des mollusques bivalves en Polynésie française. Ces données permettront de mobiliser le plus rapidement possible toutes les informations nécessaires pouvant aider à la gestion de situations de crise liées à des mortalités anormales et/ou à la détection de nouveaux agents pathogènes.

## Sommaire

### Résumé

<b>1. INTRODUCTION</b>	<b>4</b>
<b>2. MATERIEL ET METHODES</b>	<b>5</b>
<b>2.1. Dispositif de veille zoonositaire</b>	<b>5</b>
<b>2.2. Choix des zones de prélèvements</b>	<b>5</b>
2.2.1. Les zones	5
2.2.2. Les points de prélèvement	5
<b>2.3. Echantillonnage</b>	<b>5</b>
2.3.1 L'unité d'échantillonnage	5
2.3.2. Les périodes et fréquence des prélèvements	6
<b>2.4. Réalisation des prélèvements</b>	<b>6</b>
<b>3. RESULTATS DES ANALYSES HISTOLOGIQUES EFFECTUEES</b>	<b>7</b>
<b>3.1. Analyses des huîtres perlières, <i>Pinctada margaritifera</i>, effectuées en 2005 et 2006</b>	<b>7</b>
3.1.1. Parasites de type Grégarine	7
3.1.2. Organismes de type Rickettsien	11
3.1.3. Zones d'enkystement	13
<b>3.2. Bilan des analyses effectuées chez les huîtres perlières depuis la mise en place du réseau</b>	<b>15</b>
<b>3.3. Analyses des autres mollusques effectuées en 2005 et 2006</b>	<b>15</b>
3.3.1. Parasites de type Grégarine	16
3.3.2. Organismes de type Rickettsien	17
3.3.3. Zones d'enkystement	19
3.3.4. Vers trématodes	19
<b>3.4. Bilan des analyses effectuées sur les autres mollusques depuis le début du réseau de veille</b>	<b>20</b>
<b>4. DISCUSSION ET CONCLUSION</b>	<b>22</b>
<b>5. BIBLIOGRAPHIE CITÉE</b>	<b>25</b>
<b>ANNEXE 1 : ACTIVITE PERLICOLE</b>	<b>27</b>
<b>ANNEXE 2 : AUTRES MOLLUSQUES</b>	<b>27</b>
<b>ANNEXE 3 : CALENDRIER DES PRELEVEMENTS 2005-2006</b>	<b>29</b>
<b>ANNEXE 4 : PREPARATIONS HISTOLOGIQUES</b>	<b>33</b>
<b>ANNEXE 5 : MALADIE A DECLARATION OBLIGATOIRE (OIE) DANS LA ZONE PACIFIQUE POUR LES MOLLUSQUES</b>	<b>36</b>

## 1. Introduction

Sur la base des recommandations du manuel pour le diagnostic des maladies des animaux aquatiques (OIE), et à l'instar du Réseau de Pathologie des Mollusques (REPAMO) qui existe en métropole, une réflexion sur la faisabilité d'un réseau de surveillance des maladies des huîtres perlières, *Pinctada margaritifera*, a été initiée depuis 1999 entre le Service de la Perliculture (PRL) et l'Ifremer (Thébault, 1999). Cette réflexion a fait suite aux épisodes de mortalité survenus en Polynésie dans les années 85 qui avaient soulevé la question de la vulnérabilité de la filière. Très peu de données sont effectivement disponibles pour établir la situation zoosanitaire des mollusques en Polynésie, et plus particulièrement celle concernant l'état de santé des huîtres perlières destinées à la perliculture.

Pour répondre à cette situation, un réseau nommé REPANUI (REseau de PATHologie NUI pour « grand » en Polynésien) a été mis en place depuis 2003 (Conventions Ifremer-PRL n° 3.0232 et 4.0393). Les objectifs de ce réseau sont **d'améliorer les connaissances des maladies qui pourraient affecter les huîtres en Polynésie, d'identifier les agents pathogènes exotiques, prévenir leur introduction et leur dissémination par la mise en place de stratégies de gestion de risque, et d'étudier l'évolution spatio-temporelle des organismes déjà présents.**

Ce réseau est cadré par des conventions annuelles signées entre le Service de la Perliculture (PRL) et l'Ifremer. Les études zoosanitaires sont basées sur des observations macroscopiques effectuées lors des prélèvements et des analyses histologiques de lames de tissus d'huîtres perlières et d'autres mollusques pour déterminer la présence ou non d'organismes et/ou d'agents pathogènes. Il s'appuie techniquement sur une plate-forme technologique (Ifremer-PRL-SPE : convention en cours) située au Laboratoire Ifremer du Centre du Pacifique à Vairao. Le PRL met à disposition de cette plate-forme le matériel et les automates (à déshydratation, à inclusion, à coloration, au montage des lamelles) nécessaires à la réalisation des étapes de préparation des lames histologiques. Et, depuis juillet 2005 un technicien du PRL (basé à l'Ifremer) s'occupe de la préparation des missions d'échantillonnage et de la réalisation des lames histologiques.

Ce rapport présente les résultats d'analyses effectuées en 2005 et 2006 et un bilan des 4 années de mise en place du réseau.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Dispositif de veille zoosanitaire

Le dispositif de veille est celui présenté dans les rapports précédents (Conventions Ifremer-PRL n°3.0232 et 4.0393). Le nombre de sites ainsi que le nombre de points de prélèvements par site, la taille de l'échantillonnage et les périodes et la fréquence de suivi n'ont pas été modifiés. En revanche, le site de Makemo a été remplacé par celui de Ahe pour les prélèvements de 2006. Ce changement a été effectué pour que l'effort analytique soit davantage en adéquation avec l'importance de l'activité perlicole du site de prélèvement (Annexe 1).

### 2.2. Choix des zones de prélèvements

#### *2.2.1. Les zones*

Cinq sites de prélèvements sont donc désormais retenus : Tahaa, Fakarava, Takaroa, Ahe et les Iles Gambier. Le choix de ces sites pourra être réévalué si nécessaire.

Il ne paraît pas nécessaire aujourd'hui en l'absence de **maladie déclarée** de suivre la totalité des sites perlicoles (îles hautes et/ou atolls).

#### *2.2.2. Les points de prélèvement*

Deux points de prélèvement sont définis par zone de suivi.

Trois facteurs ont été retenus :

- La pratique d'élevage, en particulier lorsque ces élevages sont réalisés à haute densité,
- la proximité d'une zone urbaine avec les risques de pollutions anthropiques du milieu d'élevage et d'affaiblissement des huîtres perlières,
- la courantologie qui peut entraîner une augmentation de la dissémination des agents pathogènes en cas de courants forts, à proximité d'un hoa, par exemple.

### 2.3. Echantillonnage

#### *2.3.1 L'unité d'échantillonnage*

- **30 huîtres perlières / point de prélèvements**

Les huîtres, en âge d'être greffées, présentant des anomalies macroscopiques ou un taux de morbidité anormale seront prises en priorité afin d'optimiser la recherche d'organismes pathogènes ou opportunistes. A défaut, les huîtres seront prises au hasard sur une filière. L'information sur l'historique du prélèvement (transfert récent, mortalité ou morbidité, présence de lésions macroscopiques...) sera conservée.

- **mollusques bivalves sauvages**

Si possible, une dizaine d'autres bivalves sera prélevée dans le voisinage immédiat des huîtres perlières (pipi, *P. maculata*, kapi kapi, *Saccostrea cucullata*, arche, *Arcidae* sp., chama, *Chamidae* sp., bénitier, *Tridacna* sp.....)(Annexe 2). En effet, les taux de prévalence ou d'infestation d'un agent pathogène peuvent être différents d'une espèce à une autre et leur diagnostic peut de ce fait être facilité. Ainsi, les genres de mollusques *Chamidae*, *Tridacna* et *Arcidae* sont plus sensibles aux infections par *Perkinsus* sp. et peuvent tolérer, sans mortalité, des taux de prévalence élevés (OIE, International Aquatic Animal Health, 2000). Ces mollusques représentent donc de bons indicateurs de la présence de *Perkinsus* sp.

Le nombre d'individus prélevés devra toutefois être réévalué si un agent pathogène est diagnostiqué et si l'on cherche à définir le niveau de base de l'infection.

### *2.3.2. Les périodes et fréquence des prélèvements*

Chaque point de suivi donne lieu à 2 séries de prélèvements dans l'année : un prélèvement en février-mars, un prélèvement en septembre-octobre.

Cela revient à un total d'environ 120 individus par an et par site de prélèvement (c'est-à-dire par île ou atoll). A titre d'exemple, la directive 95/70/CE du 22 décembre 1995 de la CEE qui définit l'étude des cas de mortalité préconise que la taille de l'échantillon doit être comprise entre 30 à plusieurs centaines d'individus répartis en plusieurs points du secteur représentant l'événement mortalité.

Un échantillonnage basé sur l'analyse de 30 individus permet la détection d'un taux de prévalence de 10%, celui de 60 individus permet la détection d'une prévalence de 5% et celui de 150 individus permet de détecter une prévalence de 2% au risque  $\alpha$  de 95% (OIE).

Le nombre d'analyses effectuées par an, dans le cadre de REPANUI, s'inscrit dans ce schéma et permet donc une surveillance efficace de l'apparition d'agents infectieux. Les procédures d'urgence à mettre en place en cas d'épisodes de mortalité anormale, définies dans le précédent rapport de la Convention de Veille n° 3.0232, devraient également permettre de limiter les risques sanitaires (Annexe 3).

## 2.4. Réalisation des prélèvements

Les agents du Service de la Perliculture, en mission dans les atolls, prélèvent 30 huîtres perlières et d'autres bivalves présents dans la même zone d'élevage. Il peut s'agir de pipi, kapi kapi, d'arche, de Chama ou de pahua (bénitier) (Annexe 2).

Après ouverture des mollusques, le prélèvement des tissus et leur fixation s'effectuent directement sur site. Les tissus sont immergés dans le liquide fixateur de Davidson, à raison de 10 volumes de fixateur pour un volume de tissu. Après 24 heures d'immersion, le liquide de Davidson est remplacé par de l'alcool à 70° jusqu'à envoi et réception des échantillons au laboratoire Ifremer à Vairao. Les étapes supplémentaires d'enregistrement du lot, de préparation des échantillons (mise en cassette des individus prélevés, déshydratation et imprégnation des tissus en paraffine), préparation des lames histologiques pour l'analyse sont réalisées au laboratoire Ifremer de Vairao (Annexe 4) .

### 3. Résultats des analyses histologiques effectuées

#### 3.1. Analyses des huîtres perlières, *Pinctada margaritifera*, effectuées en 2005 et 2006

20 lots et 19 lots ont été respectivement prélevés et analysés en 2005 et 2006. Cela représente un total de 1333 analyses réparties en 1109 huîtres perlières, *P. margaritifera*, 93 pipi, *P. maculata*, 27 chama, *Chamidae* sp, 46 kapi kapi, *Saccostrea cucullata* et 58 *Isognomon* sp..

**Aucune déclaration d'épisodes de mortalité ou de morbidité anormale n'a été enregistrée au Service de la Perliculture justifiant d'une analyse pathologique supplémentaire.**

##### 3.1.1. Parasites de type Grégarine

Ces parasites se présentent sous la forme de cellules allongées d'environ 15 à 30µm (figure 1). Bien que le cycle des sporozoaires de type grégarine soit plus complexe, seule cette forme parasitaire unicellulaire a été jusqu'à présent observée dans les tissus des huîtres infectées. Elles sont retrouvées principalement dans l'appareil digestif des huîtres et leur localisation peut s'étendre de l'épithélium du rectum jusqu'aux portions hautes de l'intestin et quelques parasites ont été trouvés dans les palpes labiaux (figure 2).

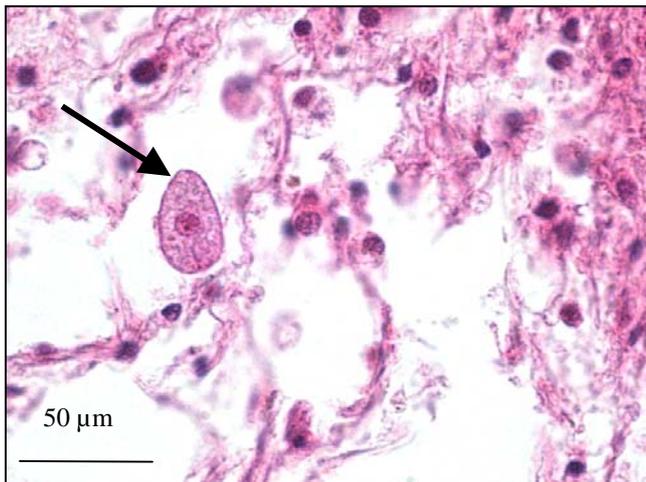


Figure 1 : coupe histologique de grégarine libre dans le tissu conjonctif d'une huître perlière (flèche)(X1000)

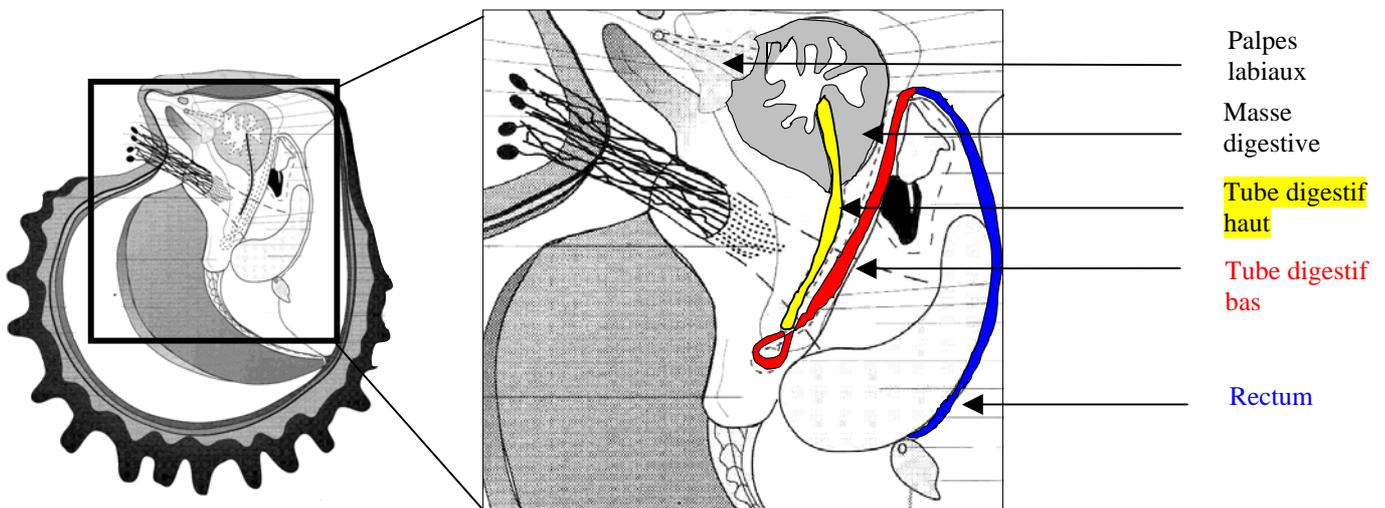
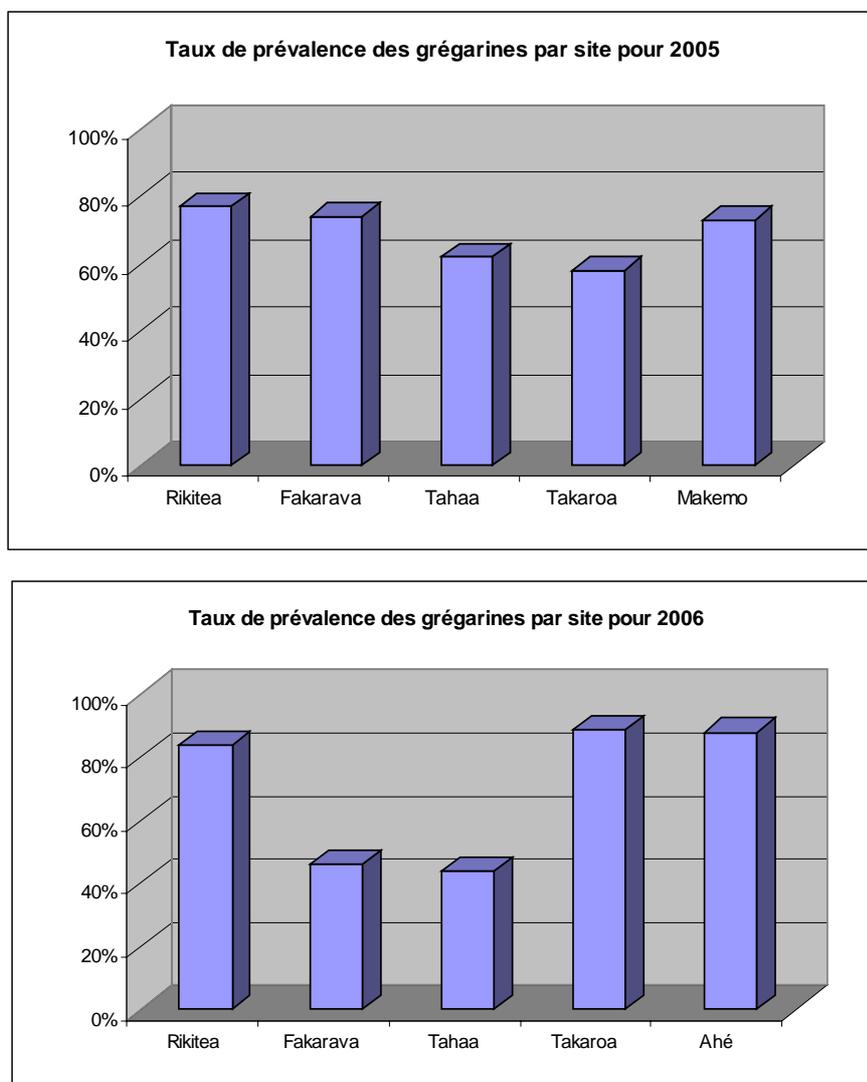


Figure 2 : schéma détaillant l'appareil digestif de *P. margaritifera*

La présence des sporozoaires de type grégarine a été observée dans **tous les prélèvements quel que soit le site de prélèvement, Rikitea, Fakarava, Tahaa, Takaroa, Makemo et Ahe, et la classe d'âge des huîtres analysées, de 2 à 5 ans.** Les taux de prévalence (% d'animaux infestés) sont compris entre 58 et 76,7% en 2005 et 43,5 et 88,2% en 2006 (figures 3).



Figures 3 : Pourcentages de parasites de type grégarine observés dans les huîtres perlières en 2005 et 2006

Afin de compléter la comparaison de la prévalence par site, nous avons effectué pour 2006 une analyse des taux d'infection par individu. Cette analyse permet de connaître plus précisément l'étendue de l'infection en la classant en quatre classes d'infestation : (0) absence de parasites, (+) de 1 à 10 grégarines observées dans tous les tissus de l'huître, (++) plus de 10 grégarines observées dans un même organe, (+++) plus de 10 grégarines réparties dans différents organes (tube digestif haut et bas, tissu conjonctif) associées à une désorganisation des tissus infestés et quelque fois à une inflammation (figure 4).

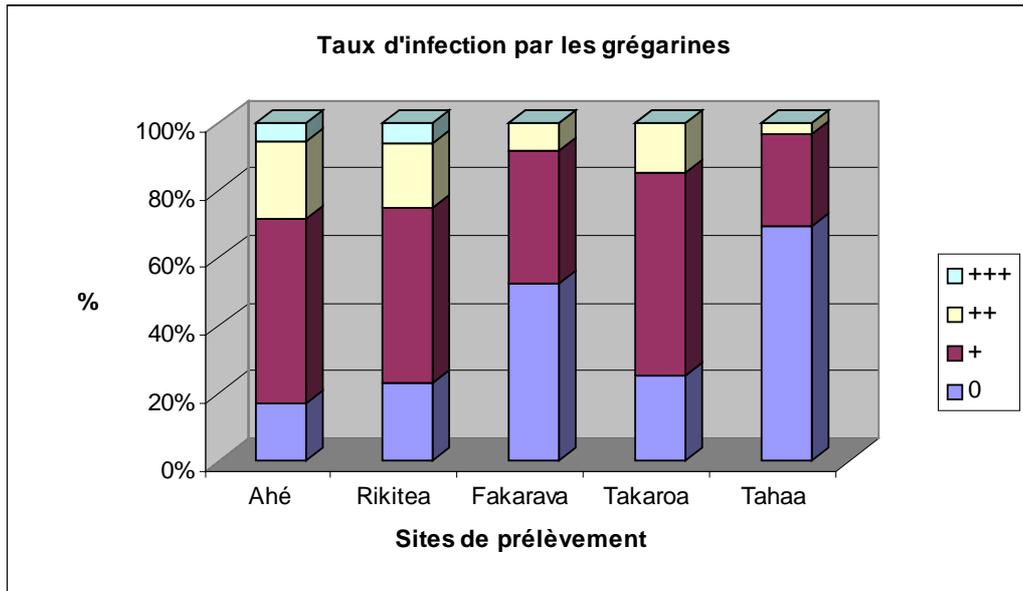
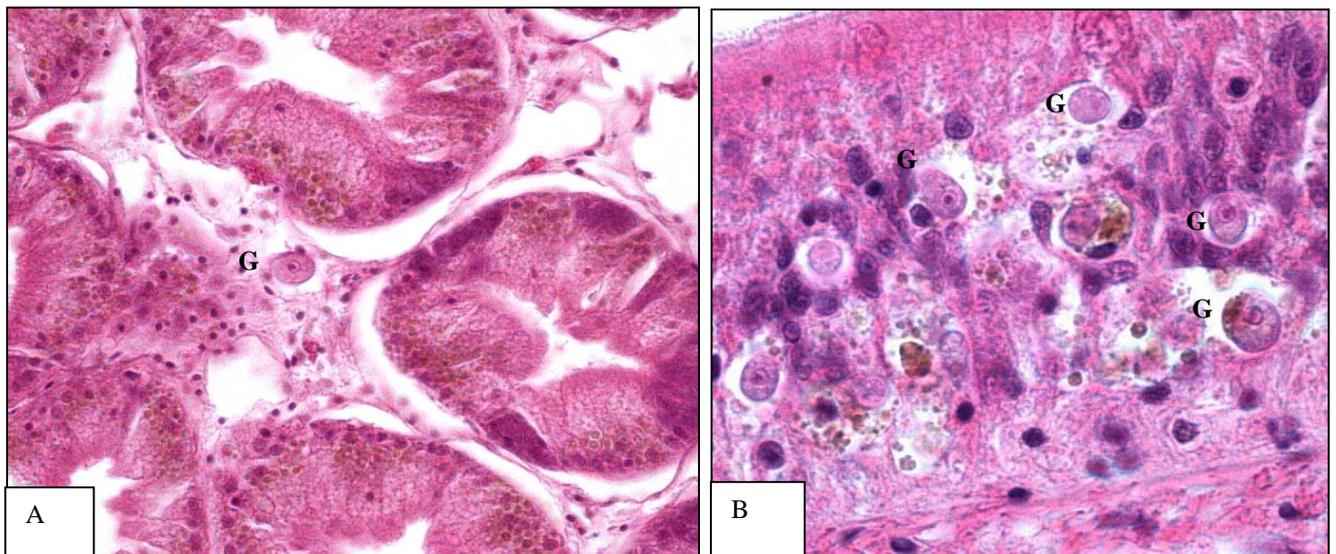


Figure 4 : Classes d'infection par les grégarines observées pour chacun des sites en 2006

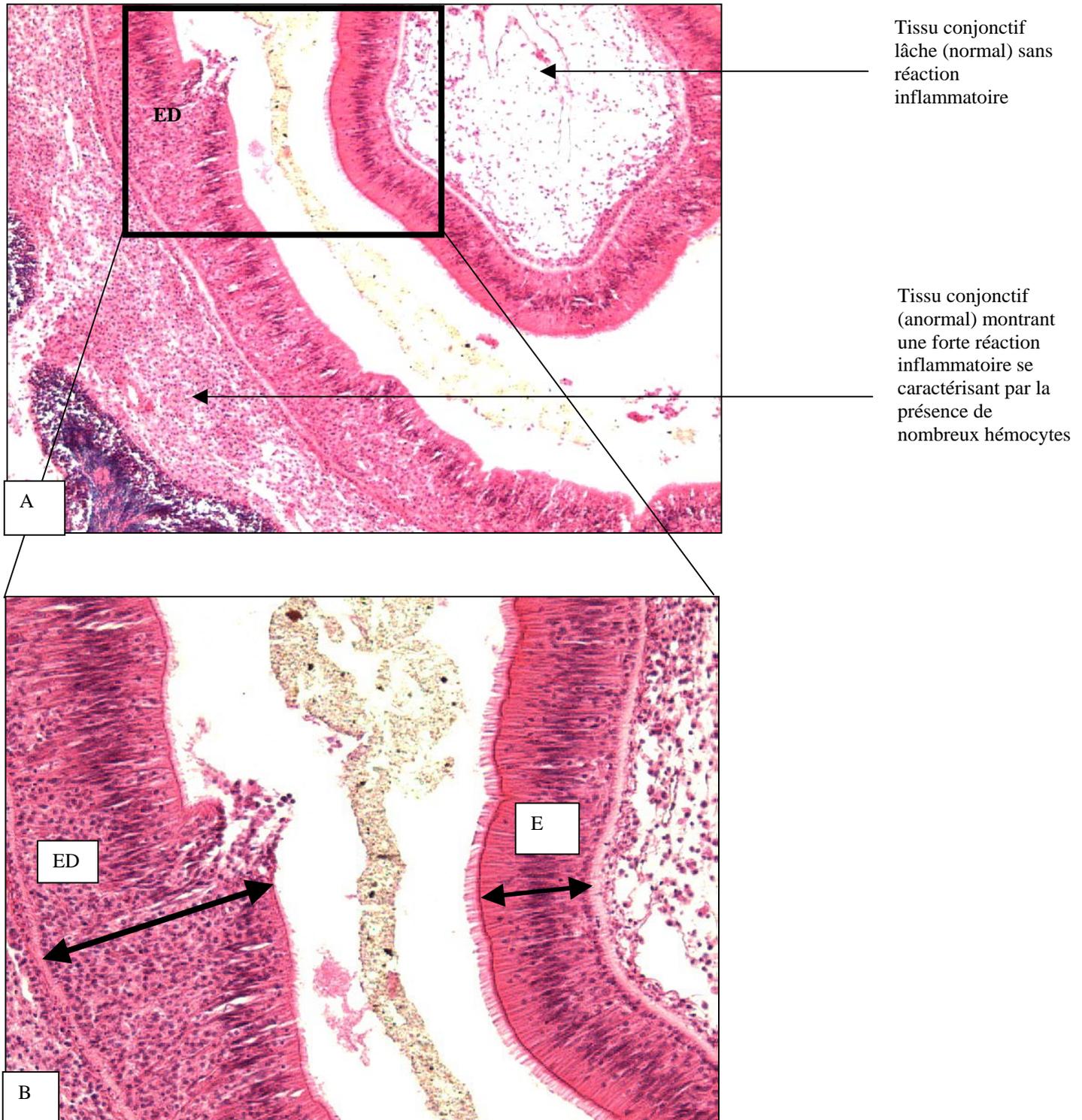
L'analyse statistique de cette répartition par classe (test du Chi 2) montre que les sites de Rikitea, Takaroa et Ahe présentent les plus forts taux d'infection. Aucune mortalité anormale n'a toutefois été constatée pour ces lots.

La majorité des huîtres présentent des taux d'infection relativement faible (+ et ++) avec peu ou pas de réaction inflammatoire de l'hôte en réponse à la présence des parasites. Les grégarines sont observées soit libres dans le tissu conjonctif de la masse digestive (figure 5A) soit libres dans les épithéliums digestifs de l'intestin (figure 5B).



Figures 5 : Parasites de type grégarine (G) dans les huîtres perlières. A : parasite libre dans le tissu conjonctif de la masse digestive (X400). B : Epithélium désorganisé associé à la présence de nombreux parasites (x600).

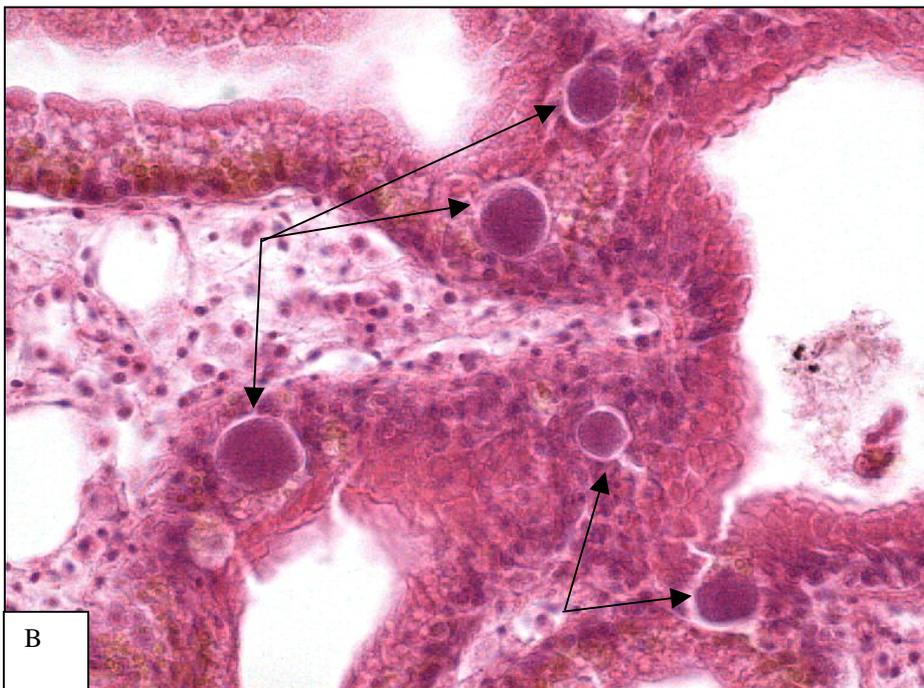
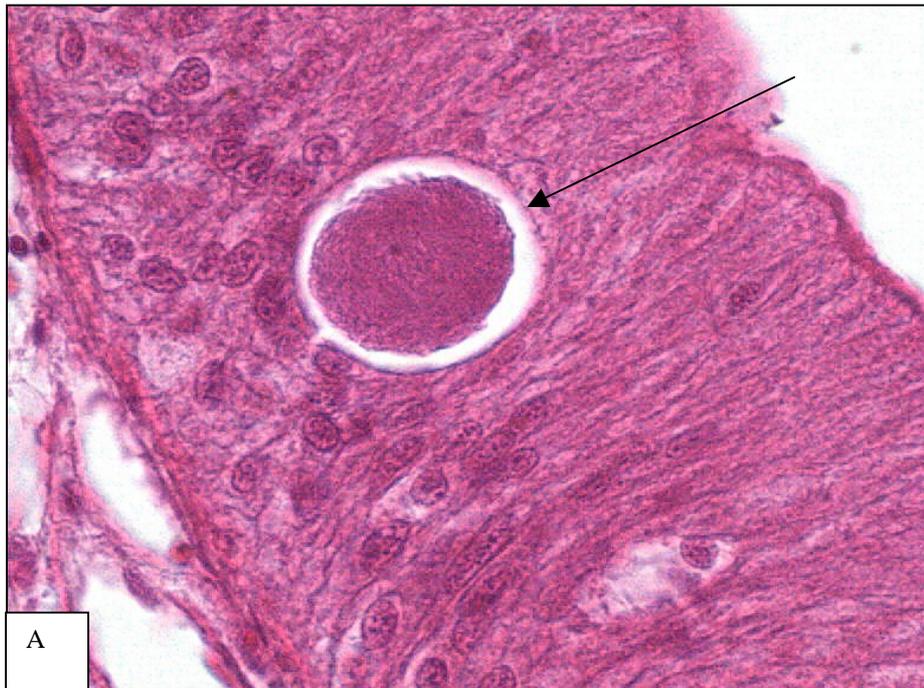
Dans les cas d'infestation plus importante (+++), une désorganisation partielle des épithéliums peut être observée. Elle peut s'accompagner d'une réaction inflammatoire importante de l'hôte se caractérisant par un afflux d'hémocytes dans la zone contiguë de l'épithélium infesté (figures 6).



Figures 6 : Réactions consécutives à une infestation importante par des grégarines dans l'épithélium digestif. A : réaction inflammatoire du tissu conjonctif contigu à l'épithélium infesté ED (x 25). B : épithélium désorganisé (flèches) (ED) présentant un épaissement important par rapport à un épithélium normal (E) suite à la présence de nombreux parasites (x100).

### 3.1.2. Organismes de type Rickettsien

Ces parasites se présentent sous la forme de « cyste » contenant des micro-colonies bactériennes (figure 7A). Ce sont des bactéries Gram (-) à développement intracellulaire obligatoire. Ces organismes sont présents dans les épithéliums du tube digestif et des tubules digestifs (figure 7B). Les taux d'infection sont faibles (peu de parasites par huître examinée) et la présence de ces organismes n'a pas été associée à une réponse inflammatoire de l'huître infectée.



Figures 7 : organismes de type rickettsien (flèches). A : au niveau de l'épithélium d'un conduit digestif (x600). B : au niveau de l'épithélium des tubules digestifs (x200).

**Ces organismes apparentés à des types rickettsien ont été diagnostiqués dans les huîtres originaires de tous les sites en 2005 et 2006** (figure 8). Les taux de prévalence sont en 2005 respectivement pour Rikitea, Fakarava, Tahaa, Takaroa et Makemo de 9%, 4%, 23%, 7% et 14%. En 2006, ces taux sont respectivement pour Rikitea, Fakarava, Tahaa, Takaroa et Ahé de 9,4%, 1,7%, 11%, 5% et 5%. Les taux de prévalence restent bas pour l'ensemble des sites.

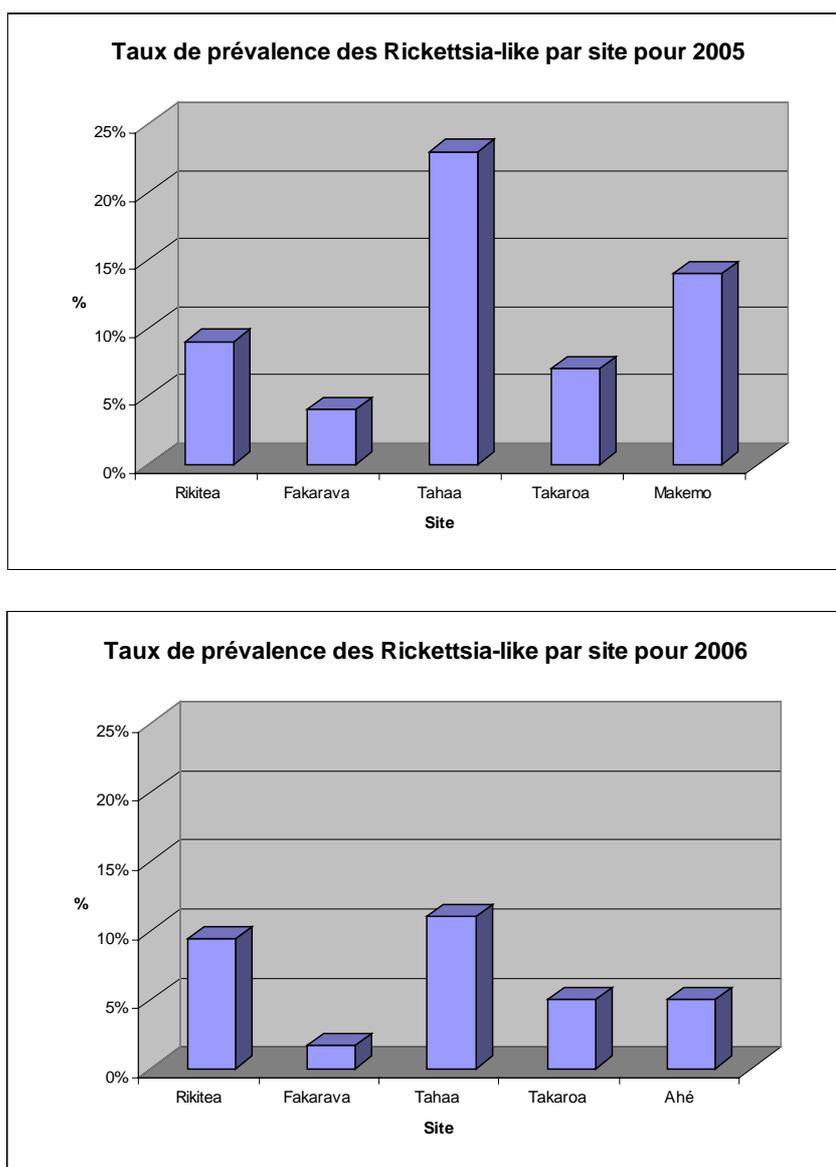
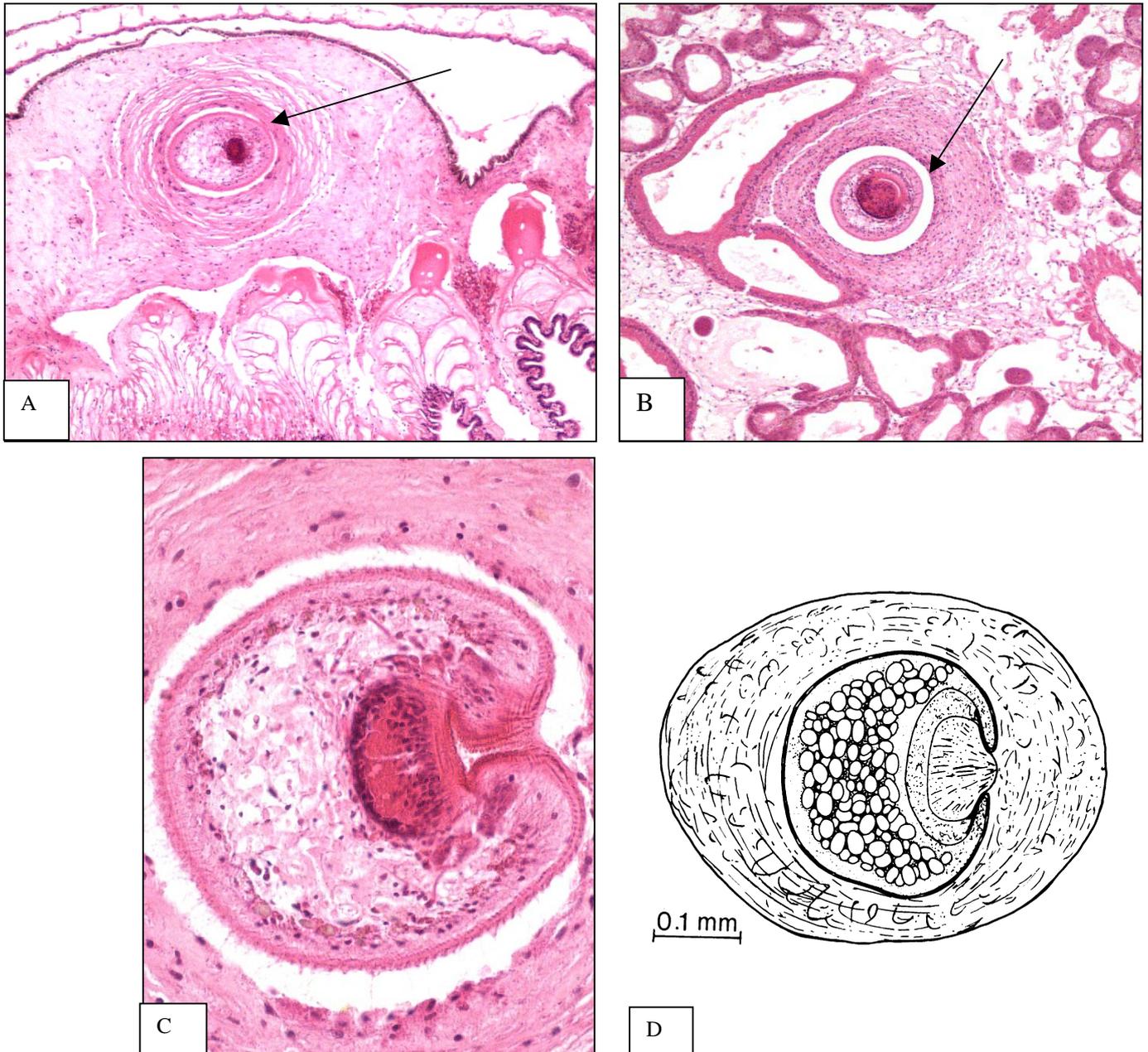


Figure 8 : pourcentages d'organismes de type rickettsien observés, par site, en 2005 et 2006

### 3.1.3. Zones d'enkystement

Les différentes analyses montrent des zones d'enkystement de métazoaires associées à des réponses inflammatoires de l'hôte souvent importantes. Elles sont localisées dans différents organes des huîtres analysées : filaments branchiaux (figure 9A), tissu conjonctif de la masse digestive (figure 9B)... etc. Ces zones d'enkystement sont majoritairement dues à la présence dans les tissus de cestodes du genre *Tylocephalum* sp. (figure 9 C et D).



Figures 9 : Différentes formes d'enkystement (flèches). A : dans les filaments branchiaux (x250) ; B : dans le tissu conjonctif de la masse digestive (x400) ; C et D : coupe (x600) et schéma du cestode *Tylocephalum* sp.

Les taux de prévalence sont faibles, compris entre 4% et 23% en 2005 et 6% et 13% en 2006, quelque soit le site de prélèvement, toute classe d'âge confondue (figure 10).

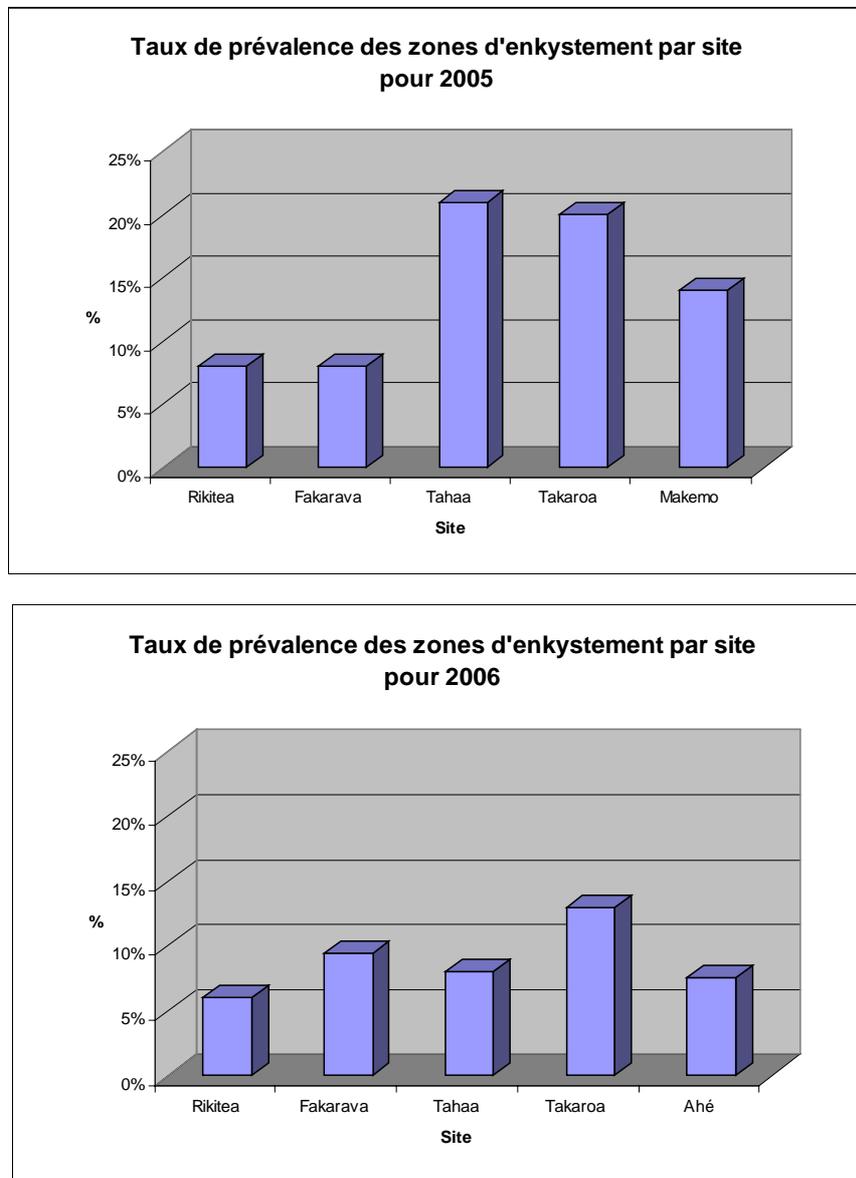


Figure 10 : taux de prévalence des zones d'enkystement en fonction des sites en 2005 et 2006

### 3.2. Bilan des analyses effectuées chez les huîtres perlières depuis la mise en place du réseau

2052 huîtres perlières ont été prélevées et analysées depuis la mise en place du réseau. La comparaison des analyses effectuées en 2003, 2004, 2005 et 2006 fait apparaître une augmentation significative du taux de prévalence des grégarines à partir de 2004. Les pourcentages sont respectivement de 30%, 79%, 69% et 73%. En revanche, aucune différence significative n'est observée pour les analyses des années 2004, 2005 et 2006 (figure 11). Malgré les taux d'infection relativement importants, la présence de ces parasites n'a toutefois pas été associée à des déclarations de mortalité ou de morbidité anormale au cours de ces années.

Les taux de prévalence des organismes de type rickettsien restent bas, inférieurs à 10% en moyenne, quelle que soit l'année étudiée. De même, les taux de prévalence des zones d'enkystement de métazoaires sont aussi faibles, inférieurs à 15%.

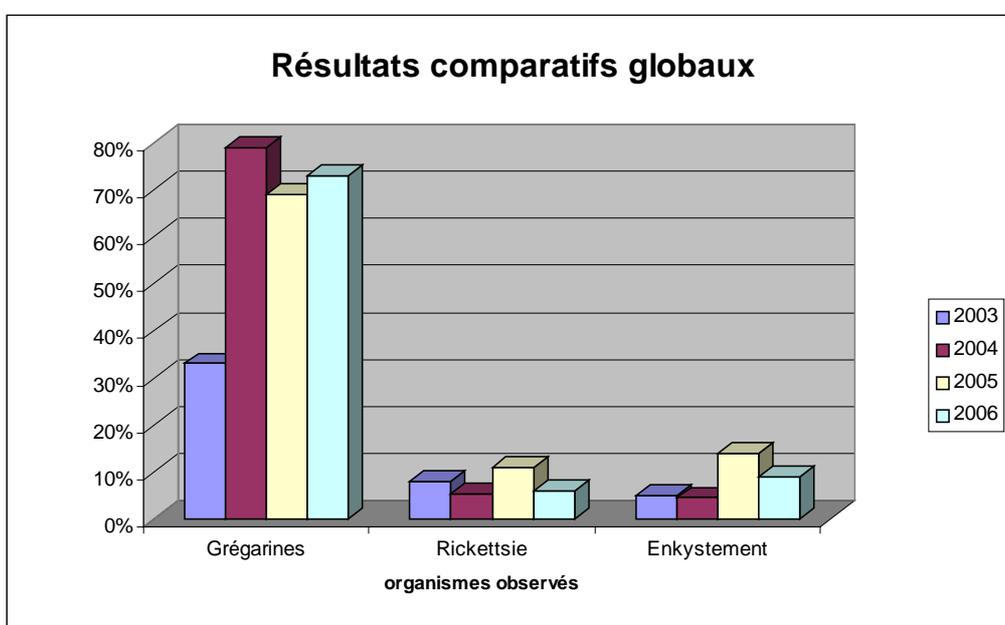


Figure 11 : comparaison des taux de prévalence globaux depuis la mise en place du réseau

### 3.3. Analyses des autres mollusques effectuées en 2005 et 2006

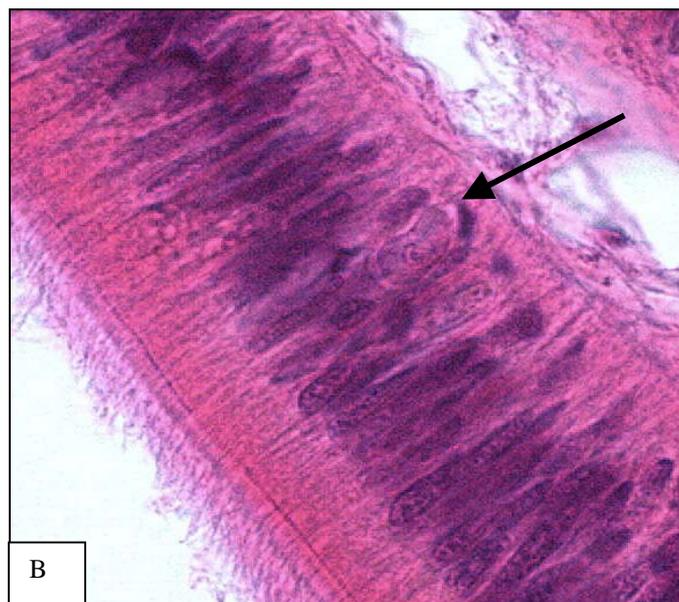
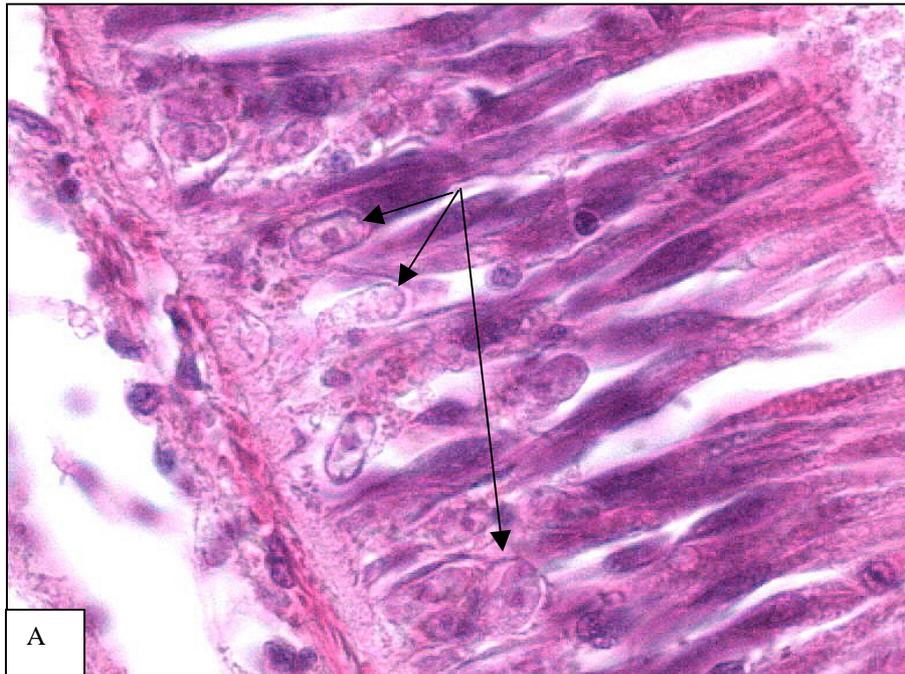
93 pipi, *P. maculata*, 27 chama, *Chamidae* sp., 46 kapi kapi, *S. cucullata* et 58 *Isognomon* sp. ont été prélevés et analysés au total entre 2005 et 2006.

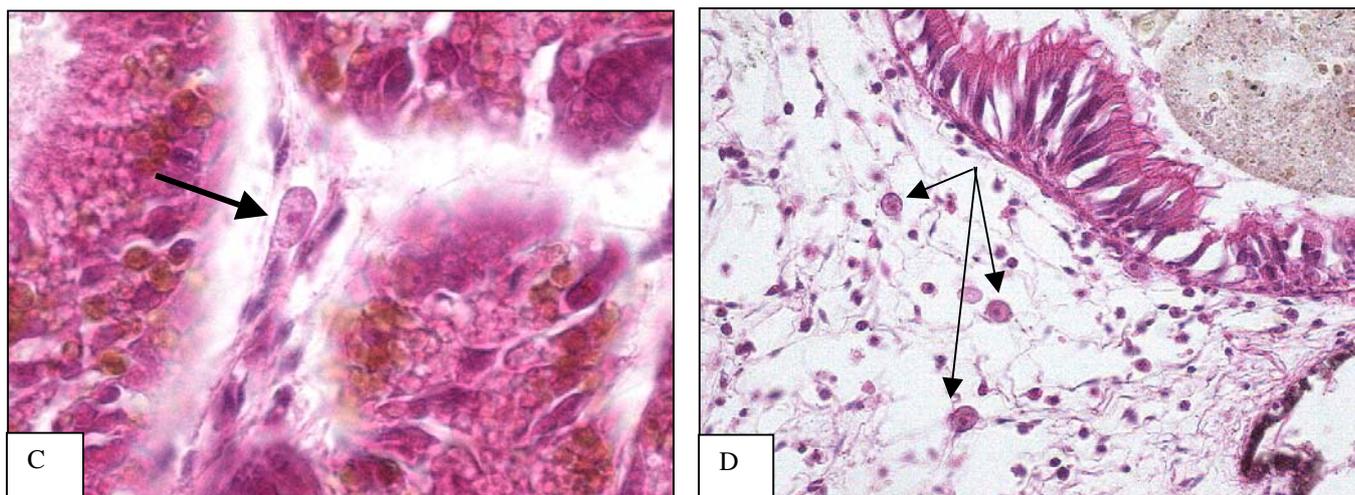
L'ensemble des analyses histologiques effectuées a permis d'identifier chez ces espèces les mêmes organismes que chez les huîtres perlières, des grégarines, des organismes de type rickettsien et des zones d'enkystement de métazoaires. Une infection par des vers trématodes a été observée chez le kapi kapi.

### 3.3.1. Parasites de type Grégarine

La présence de parasites de type grégarine a été mise en évidence chez le pipi, le kapi kapi et *Isognomon* sp. (figures 12). Les taux de prévalence sont respectivement de 78% (70/90), 13% (6/46) et 12,1% (7/58). Les grégarines sont situées dans l'appareil digestif au niveau de l'épithélium haut et/ou bas. Cette localisation est la même que chez les huîtres perlières.

Ces organismes avaient déjà été décrits chez le pipi et la datte de mer, *Lithophaga* sp. en 2003 et 2004.





Figures 12 : organismes de type grégarine (flèches). A : dans l'épithélium du tube digestif haut chez un pipi, *P. maculata* (flèche)(x1000). B : dans l'épithélium du tube digestif haut chez un kapi kapi, *S. cucullata* (x 1000). C : entre les tubules digestifs chez *Isognomon* sp. (x600). D : libres dans le tissu conjonctif de la masse digestive chez *Isognomon* sp. (x400).

### 3.3.2. Organismes de type Rickettsien

Des parasites de type Rickettsien ont été identifiés dans les prélèvements de chama, *Chamidae* sp. (figures 13A, B) et de kapi kapi, *S. cucullata* (figure 13 C, D). Les taux de prévalence sont respectivement de 63% (17/27) et 8,7% (4/46). Il s'agit de la première description de ce type de parasite chez *S. cucullata* en Polynésie.

Ces parasites apparaissent comme des « masses » violettes, qui correspondent à des cystes contenant les colonies bactériennes. Ils sont généralement observés au niveau des filaments branchiaux et des épithéliums digestifs. Leur présence entraîne une déformation des cellules branchiales ou des cellules épithéliales sans qu'une réaction inflammatoire massive consécutive de l'hôte soit notée. Les taux d'infection restent bas puisque seules quelques rickettsies (> 10) sont observées par individu analysé.

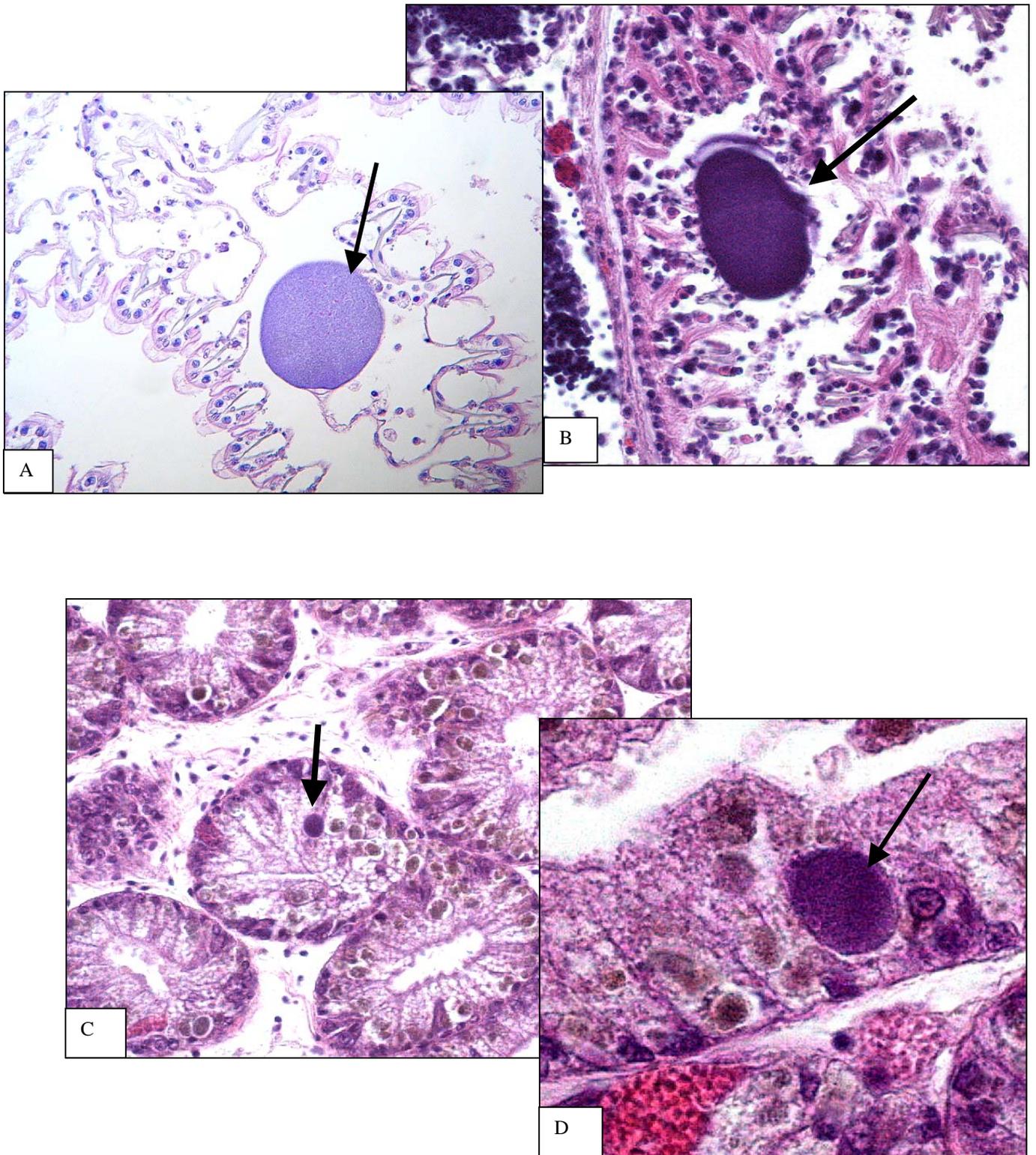


Figure 13 : organismes de type rickettsien (flèches). A, B : chez un chama, *Chamidae* sp. A : filament branchial (x250). B : masse digestive (x400). C, D : dans la masse digestive chez un kapi kapi, *S. cucullata* C : (X400) ; D : (X1000)

### 3.3.3. Zones d'enkystement

Des zones d'enkystement ont également été observées chez les pipi et kapi kapi (figures 14). Elles correspondent aux réactions inflammatoires associées à la présence de métazoaires, vraisemblablement des cestodes du genre *Tylocephalum* sp. (aux vues des images histologiques). Les réactions inflammatoires se caractérisent par la présence de nombreux hémocytes au niveau de l'infection et par la présence de « gangues » fibreuses entourant le cestode (flèche). Les taux de prévalence sont de 17,2% (16/93) et 17,4% (8/46) respectivement pour *P. maculata* et *S. cucullata*.

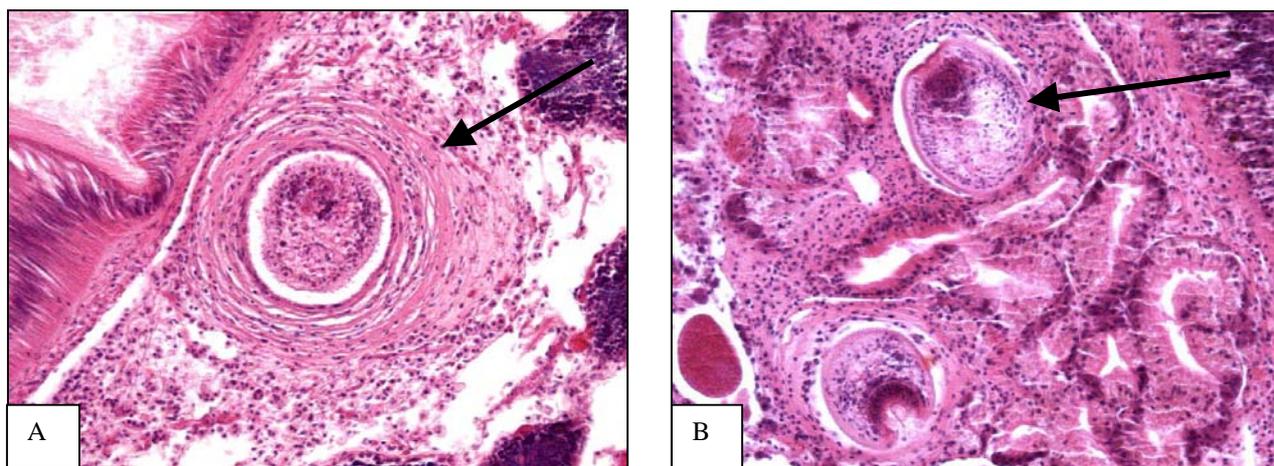


Figure 14 : zones d'enkystement (flèches). A : chez *P. maculata* (X25) ; B : chez *S. cucullata* (x25).

### 3.3.4. Vers trématodes

Une infection par des larves de vers trématodes a été observée dans les tissus gonadiques chez 1,7% (1/46) kapi kapi en 2006 (figures 15). Il s'agit de la première infection observée chez cette espèce. Le diagnostic se caractérise par l'observation de coupes transversales de larves de trématodes à l'intérieur de redia (sorte de gangue). Ces larves ont une taille comprise entre 0,05 et 0,1 mm.

Des larves de trématodes du genre *Bucephalus* spp. ont déjà été rapportées chez *Tridacna maxima* en Polynésie.

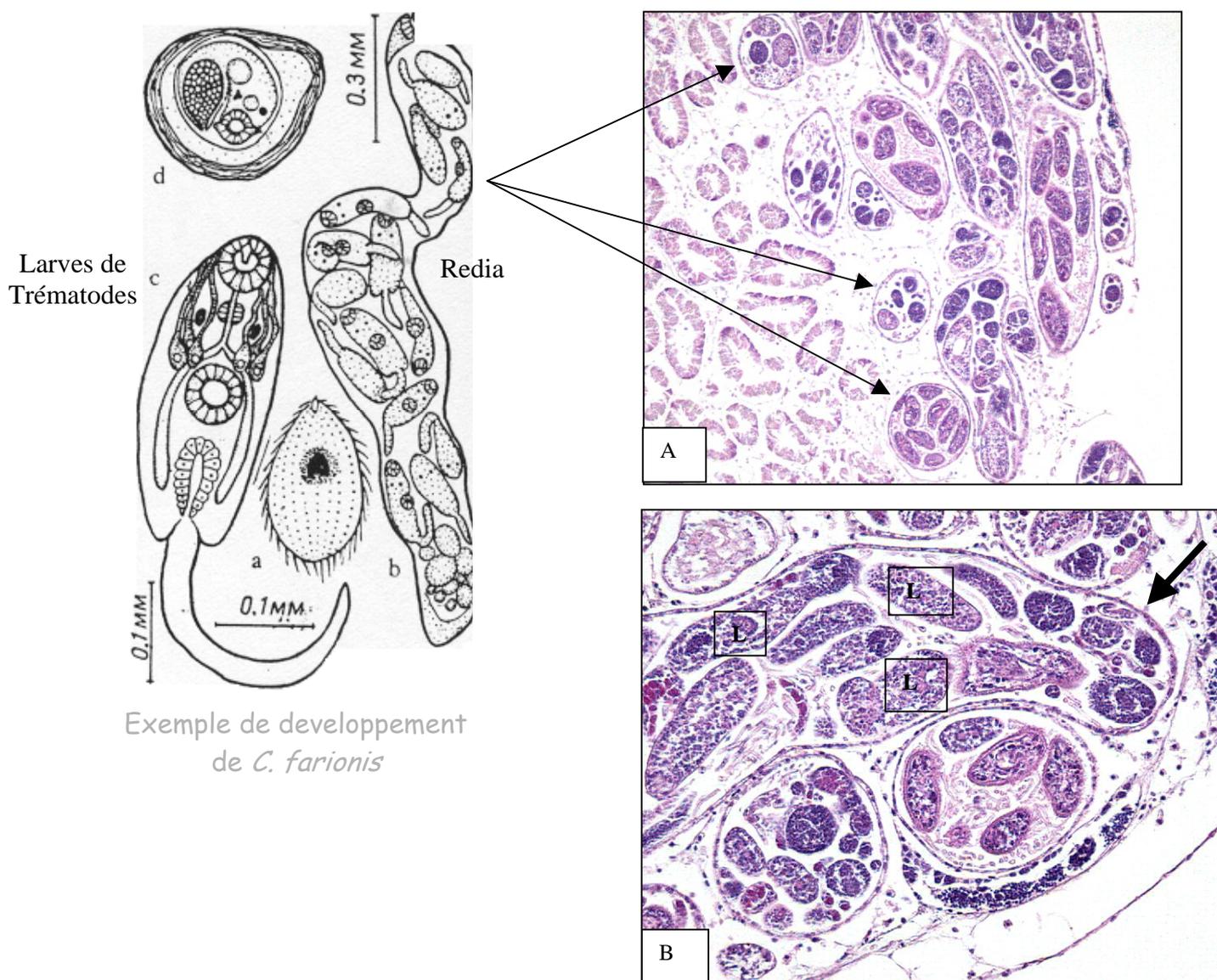


Figure 15 : redia contenant des larves de trématodes dans les tissus gonadiques de Kapi kapi (flèches) A (x25).  
B : redia (flèche) contenant des larves (L) (X100).

### 3.4. Bilan des analyses effectuées sur les autres mollusques depuis le début du réseau de veille

282 autres mollusques ont été analysés au total au cours des années 2003, 2004, 2005 et 2006. Cela correspond à 133 pipi, 34 chama, 57 kapi kapi, 3 « dattes de mer » et 58 *Isognomon* sp..

Les infections retrouvées chez ces mollusques sont les mêmes que sur les huîtres perlières, exception faite de l'infection par les vers trématodes (figure 16).

Des grégarines ont été diagnostiquées chez le pipi, *P. maculata*, le kapi kapi, *S. cucullata*, la « datte de mer » *Litophaga* sp. et *Isognomon* sp.. Seul le chama, *Chamidae* sp. ne présente pas d'infection par les grégarines (0/34).

Les organismes de type Rickettsien ont été observés chez les deux espèces de mollusques, *Chamidae* sp. et *P. maculata* à des taux de prévalence respectivement de 64,7% (22/34) et 7% (4/57).

Des zones d'enkystement sont présentes chez *P. maculata* et *S. cucullata*, respectivement à des taux de prévalence relativement bas de 12,8% (17/133) et 15,8% (9/57).

Seule l'espèce *S. cucullata* a présenté une infection par les vers trématodes.

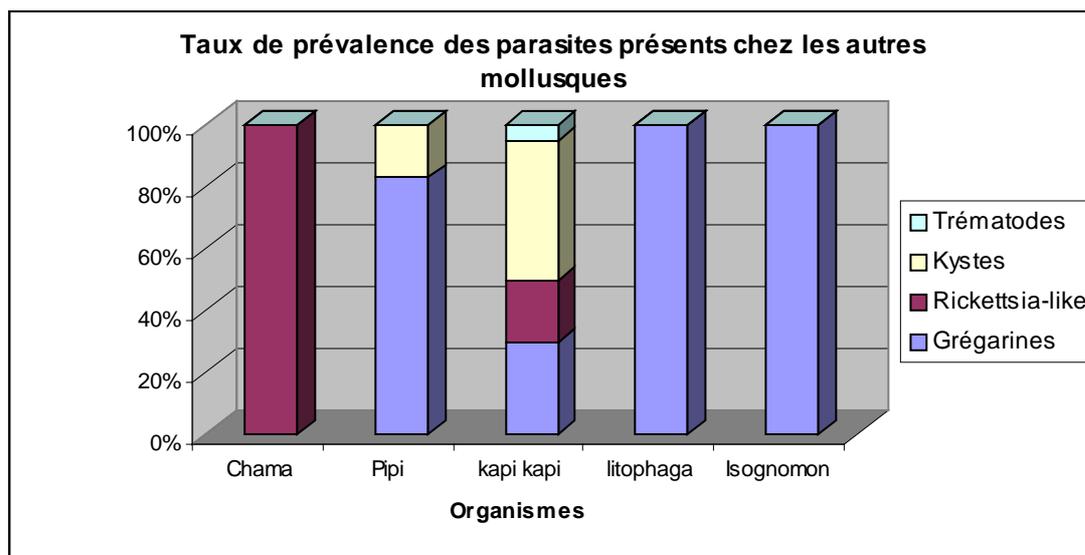


Figure 16: Comparaison des taux de prévalence des différents organismes observés chez les espèces de mollusques analysées : *Chamidae* sp. *P. maculata*, *S. cucullata*, *Litophaga* sp. et *Isognomon* sp..

## 4. Discussion et conclusion

Les analyses effectuées en 2005 et 2006 ont porté sur 1109 huîtres perlières, *P. margaritifera*, 27 chama, *Chamidae* sp., 93 pipi, *P. maculata*, 46 kapi kapi, *S. cucullata* et 58 *Isognomon* sp.. Cela représente 324 analyses supplémentaires par rapport à celles effectuées en 2003 et 2004.

Depuis la mise en place de cette surveillance active, **seules des infections par des parasites de type grégarine, des organismes de type rickettsien, des kystes associés à la présence de cestodes (*Tylocephalum* sp.) ont été observées chez les huîtres perlières, *P. margaritifera* et les autres mollusques sympatriques, *Chamidae* sp., *P. maculata*, *S. cucullata*, *Lithophaga* sp. et *Isognomon* sp.. Une seule infection par des vers trématodes a été diagnostiquée chez *S. cucullata*. Ces parasites, quels que soient leurs taux de prévalence et d'infection ne sont pas associés à des épisodes de mortalité ou de morbidité anormales. En outre, **aucune déclaration de mortalité n'a été enregistrée au Service de la Perliculture.****

**Les sporozoaires de type grégarine**, parasites sporozoaires de l'appareil digestif, ont déjà été décrits chez les huîtres perlières, *P. margaritifera*, en Polynésie en 1993 (Chagot *et al.*, 1993). Les données sur les taux de prévalence et d'infection sont cependant parcellaires. Leur présence ne semble pas toutefois modifier l'état physiologique et la croissance des huîtres infestées (Comps *et al.*, 2001).

Depuis, nous avons décrit ces parasites chez de nouvelles espèces, le pipi, *P. maculata*, le kapi kapi, *S. cucullata*, la datte de mer, *Lithophaga* sp. et *Isognomon* sp.. Ces infections sont ubiquitaires puisque de nombreux parasites ont déjà été rapportés chez plusieurs espèces de mollusques dans différents pays : les coques en Espagne, *Cerastoderma edule*, l'ormeau en Californie, *Haliotis corrugata*, les clams en Argentine, *Mesodesma mactroides*, les huîtres creuses aux Etats Unis et au Canada, *Crassostrea gigas* (MacCallum *et al.*, 2001 ; Elston *et al.*, 1998 ; Cremonte and Figueras, 2004 ; Del Carmen *et al.*, 2002 ; Carballal *et al.*, 2001).

Les taux de prévalence moyens observés depuis le début de la mise en place du réseau sont relativement élevés chez *P. margaritifera* et *P. maculata* et peuvent atteindre 89%. En Espagne, chez le clam, *M. mactroides*, les taux de prévalence sont importants et sont compris entre 64% et 100% sans qu'aucun épisode de mortalité soit associé (Cremonte and Figueras, 2004). Chez les juvéniles de *C. gigas*, dans l'état de Washington, les infections sont décrites comme étant systémiques (Elston *et al.*, 1998). Ces résultats corroborent ceux que nous avons observés et montrent que des lots pouvant pourtant présenter des taux de prévalence élevés ne présentent aucune mortalité.

Concernant **les infections rickettsiennes**, les taux de prévalence sont faibles dans tous les prélèvements d'huîtres perlières, *P. margaritifera* (< à 10%). Ces taux n'ont pas évolué depuis la mise en place du réseau en 2003 et aucune évolution géographique ou temporelle n'a été observée.

Parmi les autres mollusques infestés, kapi kapi, *S. cucullata* et chama, *Chamidae* sp., les taux de prévalence peuvent atteindre 64,7% chez les Chama. Ces taux sont semblables à ceux obtenus chez des bénitiers sauvages, *T. maxima* de Polynésie.

Les organismes de type rickettsien ont été déjà décrits chez de nombreuses espèces de mollusques (Renault et Cochenec, 1994 ; Goggin and Lester, 1990 ; Norton *et al.*, 1993 ; MacCallum *et al.*, 2001 ; Del Carmen *et al.*, 2002 ; Carballal *et al.*, 2001). Chez certains hôtes, notamment *Haliotis* spp., *P. fucata* et *P. maxima*, ils ont été associés à des mortalités parfois massives (Friedman *et al.*, 2002 ; Wu *et al.*, 2003). Les taux de prévalence et d'infection ainsi que leurs évolutions spatiales et temporelles restent donc à surveiller.

**Des zones d'enkystement** de métazoaires ont été observées dans tous les prélèvements de *P. margaritifera* et chez *P. maculata* et *S. cucullata*. Ces zones correspondent à des réactions inflammatoires qui se caractérisent par un enkystement par l'hôte du métazoaire. Ces métazoaires sont majoritairement des cestodes du genre *Tylocephalum* sp. déjà décrit par Seurat *et al.* en 1906.

La présence de ces cestodes ne semble pas inquiétante dans la mesure où les taux de prévalence et d'infection restent bas et qu'ils n'entraînent pas de mortalité. Toutefois, les réactions inflammatoires consécutives sont importantes et pourraient entraîner en cas d'infection massive des désordres tissulaires qui pourraient fragiliser les huîtres au moment de la greffe. Une autre espèce de vers, des trématodes *Bucephalus margaritae* ont été décrits chez *P. martensii* (Ozaki and Ishibashi, 1934). Ces auteurs avaient suggéré que leur présence pouvait être à l'origine des rejets de nucléus au moment des opérations de greffe. Les nombreuses analyses histologiques que nous avons effectuées, par ailleurs, pour étudier les phénomènes de rejets et de mortalité post-greffe ne nous permettent pas aujourd'hui de soutenir cette hypothèse. Enfin, le seul cas d'infection par des vers trématodes a été diagnostiqué chez le kapi kapi, *S. cucullata*. Il nous est difficile de préciser l'espèce car nous n'avons pas pu décrire les larves par une étude macroscopique des états frais des tissus infectés.

Ce suivi est loin d'être exhaustif puisqu'il n'est effectué que sur 2 îles et 3 atolls perlicoles sur les 30 autorisés. Il permet, toutefois, d'ores et déjà d'établir le niveau de base de prévalence et d'infection des principaux organismes présents ainsi que leurs évolutions géographique et temporelle. Ces résultats sont essentiels car dans la majorité des cas de mortalités inexplicables et anormales, il est toujours difficile d'associer la présence d'un organisme aux mortalités observées faute de données préliminaires.

L'effort analytique a été conséquent depuis la mise en place du réseau comme le montre la figure 17. Les analyses sont passées de 439 en 2003 à 672 en 2006.

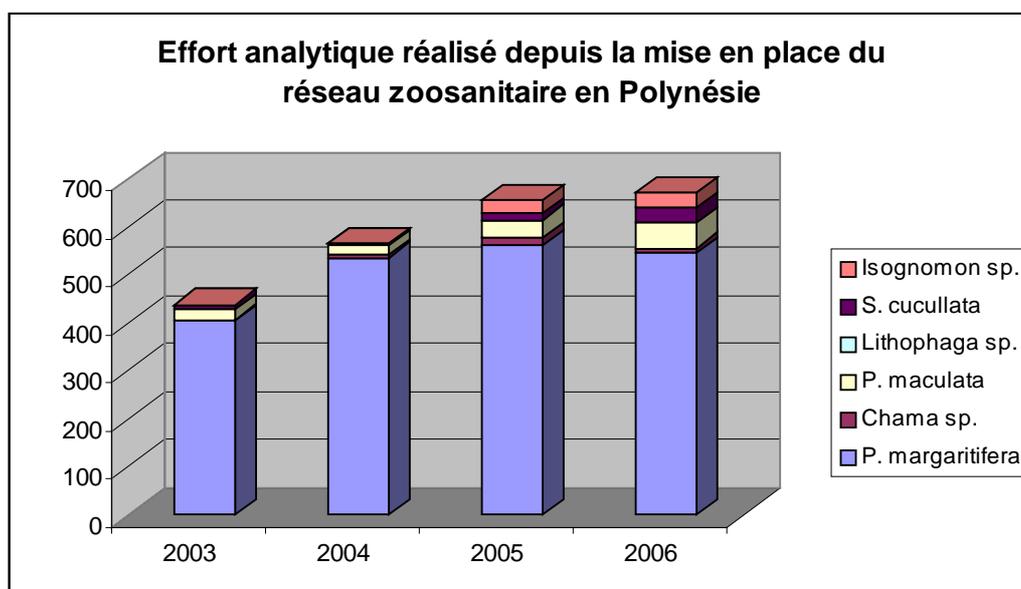


Figure 17 : Effort analytique effectué depuis la mise en place du réseau de veille zoosanitaire en Polynésie française.

**Cet effort analytique était nécessaire pour déterminer la situation zoosanitaire en Polynésie française. Il peut désormais être stabilisé car pour la 4ème année consécutive, aucun agent pathogène à déclaration obligatoire à l'Office International des Epizooties (OIE) n'a été observé (Annexe 4).**

La première phase de la mise en place de ce réseau (2003-2006) a permis de définir le dispositif de veille incluant le choix des sites de prélèvements, la taille et la fréquence de l'échantillonnage, le rôle des acteurs potentiels, les formations théorique et pratique du personnel du PRL aux diagnostics des principaux agents pathogènes des mollusques et à l'histologie. De plus une réflexion sur la gestion des cas de mortalité anormale ou de maladie émergente a été proposée. Cette réflexion devra toutefois être consolidée et validée par le Service de la Perliculture et le Ministère.

La seconde phase de validation de ce réseau sera le transfert de la gestion totale du réseau au Service de la Perliculture fin 2007. Ce transfert a d'ailleurs déjà débuté puisque que l'ensemble des prélèvements dans les îles est effectué par des agents du PRL et que la préparation des missions d'échantillonnage et la réalisation des lames histologiques sont désormais réalisées depuis juillet 2005 par un technicien du PRL à l'Ifremer. Par ailleurs, le diagnostic des lames histologiques est effectué depuis 2005 par le Dr Angélique Fougerouse (PRL). Cette expertise a été acquise suite à la formation qu'elle a reçue depuis 2003 par l'Ifremer (LBQP). Cette formation lui a permis d'acquérir une parfaite connaissance histologique et cytologique des tissus des huîtres perlières et des autres mollusques (*Chamidae* sp., *P. maculata*, *S. cucullata*, etc....) et d'identifier les principaux organismes présents. L'ensemble des analyses effectuées depuis la mise en place du réseau a d'ailleurs permis d'établir une « lamotheque » de référence des tissus sains et parasités des huîtres perlières et autres mollusques en Polynésie française. Une base de données est d'ailleurs en cours de constitution.

A la suite de ce transfert, l'Ifremer pourra rester « acteur » de cette surveillance en continuant à mettre à disposition du PRL la plate-forme technologique et en accueillant le personnel du PRL. Une expertise diagnostic pourra être apportée, à la demande du PRL, dans les cas de mortalité ou de morbidité anormales si une action supplémentaire de recherche en pathologie doit être mise en œuvre. Ces actions feront alors l'objet de conventions particulières.

## 5. Bibliographie citée

Carballal MJ, Iglesias D, Santamarina J, Ferro-Soto J, Villalba, A (2001) Parasites and Pathologic Conditions of the Cockle *Cerastoderma edule* Populations of the Coast of Galicia (NW Spain). *J. Inv Pathol.* 78( 2): 87-97.

Chagot D, Fougereuse A, Weppe M, Marquès A and Bouix B (1993) Présence d'une grégarine (Protozoa Sporozoa) parasite de l'huître perlière à lèvres noires *Pinctada margaritifera* (L., 1758) (Mollusca Bivalvia) en Polynésie française. *C.R. Acad. Sci. Pariss III* 316, 239-244.

Comps M, Fougereuse A and Buestel D (1998) A procaryote infecting the black-lipped pearl oyster *Pinctada margaritifera*. *Journal of Invertebrate Pathology* 72, 87-89.

Comps M, Herbaut C and Fougereuse A (1999) Virus-like particles in pearl oyster *Pinctada margaritifera*. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 19, 85-88.

Comps M, Herbaut C, Fougereuse A and Laporte F (2001) Progress in pathological characterization of syndrome 85 in the black-lip pearl oyster *Pinctada margaritifera*. *Aquatic Living Resources* 14, 195-202.

Cremontes F and Figueras A (2004) Parasites as possible cause of mass mortalities of the critically endangered clam *Mesodesma mactroides* on the Atlantic coast of Argentina. *EAFP* 24(3) 166-171

DelCarmen AT, Cacerez-Maritnez J and Avilez JGG (2002) Histopathological evaluation of the yellow abalone *Haliotis fulgens* from Baja California, Mexico. *Journal of Shellfish Research* 21(2) 825-830.

Elston RA, Frelie P, Cheney (1998) Systemic gregarine-like Protozoa in juvenile Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg 1793) *J. Shellfish Research* 17( 4)

Friedman CS, Biggs W, Shields JD and Hedrick RP (2002) Transmission of withering syndrome in black abalone, *Haliotis cracherodii* Leach. *Journal of Shellfish Research* 21(2) : 817-824.

Goggin CL, Lester RJG (1990) Rickettsiales-like infection in the gills of *Tridacna crocea* from the Great Barrier Reef. *Journal of Invertebrate Pathology* . 56 (1) : 135-138.

MacCallum GS, Blackburn J, McGladdery SE, Bower SM, Davidson JT (2001) Disease issues relevant to the culture of shellfish in Atlantic and Pacific Canada. *Shellfish Health - Risks and Management: Proceedings of a Special Session held at Aquaculture Canada 2001, Halifax.* no. 101-3, pp. 5-12.

Office Internationale des Epizooties (2000) International aquatic animal health code. Ed. OIE.

Ozaki and Ishibashi (1934) Notes on the cercaria of the pearl oyster. *Proc. Imp. Acad. Japan*, 10:439-441.

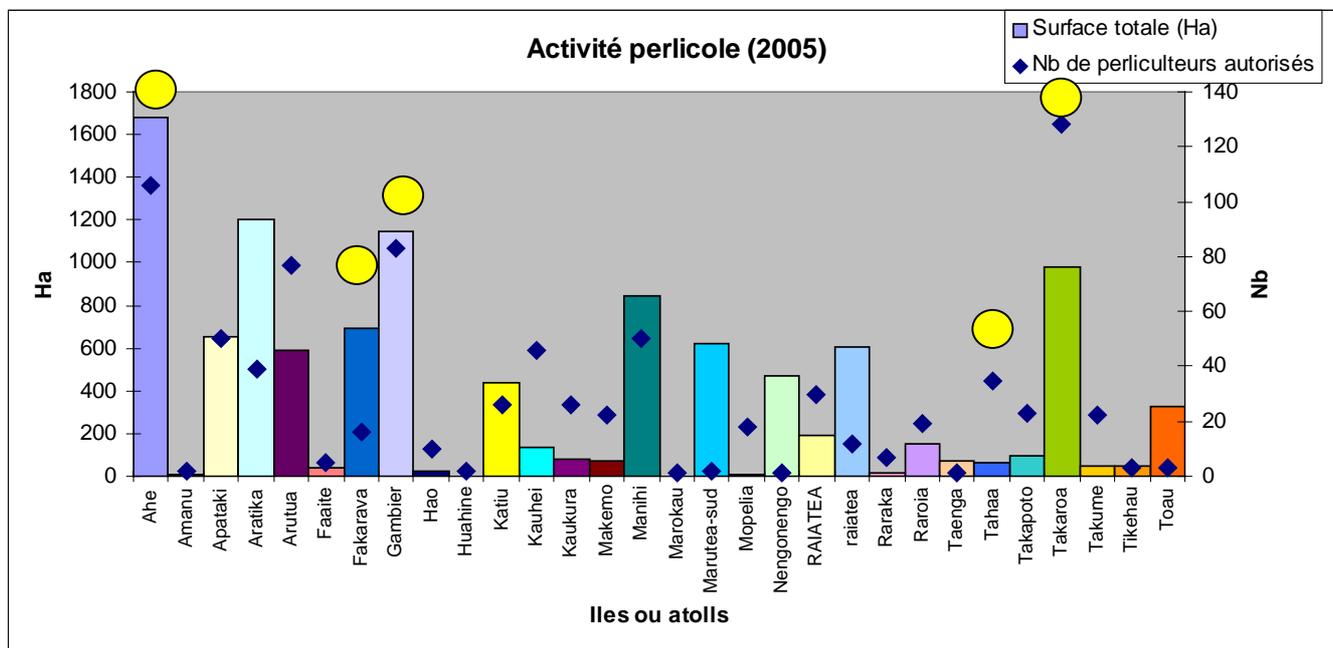
Norton JH, Shepherd MA, Long HM, Prior HC (1993) Parasites of the giant clams (*Tridacnidae*). Biology and Mariculture of Giant Clams. Fitt,-W.K.-ed. CANBERRA,-A.C.T.-Australian Center for International Agriculture Research. 47 : 18-23.

Renault T and Cochenec N (1994) *Rickettsia*-like organism in the cytoplasm of gill epithelial cells of the pacific oyster, *Crassostrea gigas*. J. Inv. Pathol. 64 : 160-162.

Thébault A (1999) Sur la faisabilité d'un réseau de surveillance en pathologie de la nacre *Pinctada margaritifera* en Polynésie française. Rapport Interne Ifremer 34pp.

Wu X, Li D, Pan J and Jiang J (2003) Studies on *rickettsia*-like organism (RLO) disease of tropical marine pearl oyster – Epidemiological investigation of RLO disease in juvenile populations of maricultured *Pinctada maxima*. Acta Oceanologia sinica 22(3) 421-435.

## Annexe 1 : Activité perlicole



Ces données ont été fournies par le Service de la Perliculture en 2005. 30 îles et atolls perlicoles (captage et/ou élevage) ont été recensés. Cela correspond à 865 perliculteurs inscrits pour une surface totale d'activité d'environ 11 303 hectares.

Les points jaunes correspondent aux sites suivis pour le réseau de veille. Le choix de ces sites a été dicté par des critères d'accessibilité, de la disponibilité de perliculteurs relais, de l'importance de l'activité perlicole, de la géomorphologie des sites.

## Annexe 2 : Autres mollusques



*Isognomon pectinata*



chama : *Chama imbricata*



pipi : *Pinctada maculata*



kapi kapi : *Crassostrea cucullata*

### Annexe 3 : Calendrier des prélèvements 2005-2006

JANVIER			FEVRIER			MARS			AVRIL			MAI			JUIN		
S	1		M	1		M	1	GAMBIER	V	1		D	1		M	1	
D	2		M	2		M	2		S	2		L	2		J	2	
L	3		J	3		J	3		D	3		M	3		V	3	
M	4		V	4		V	4		L	4		M	4		S	4	
M	5		S	5		S	5		M	5		J	5		D	5	
J	6		D	6		D	6		M	6		V	6		L	6	
V	7		L	7		L	7		J	7		S	7		M	7	
S	8		M	8		M	8		V	8		D	8		M	8	
D	9		M	9		M	9		S	9		L	9		J	9	
L	10		J	10		J	10	D	10	MAKEMO	M	10		V	10		
M	11		V	11		V	11	L	11		M	11	FAKARAVA	S	11		
M	12		S	12		S	12	M	12		J	12		D	12		
J	13		D	13		D	13	M	13		V	13		L	13		
V	14		L	14		L	14	J	14		S	14		M	14		
S	15		M	15		M	15	V	15		D	15		M	15		
D	16		M	16	TAHAA	M	16	S	16		L	16		J	16		
L	17		J	17		J	17	D	17		M	17	TAKAROA	V	17		
M	18		V	18		V	18	L	18		M	18		S	18		
M	19		S	19		S	19	M	19		J	19		D	19		
J	20		D	20		D	20	M	20		V	20		L	20		
V	21		L	21		L	21	J	21		S	21		M	21		
S	22		M	22		M	22	V	22		D	22		M	22		
D	23		M	23		M	23	S	23		L	23		J	23		
L	24		J	24		J	24	D	24		M	24		V	24		
M	25		V	25		V	25	L	25		M	25		S	25		
M	26		S	26		S	26	M	26		J	26		D	26		
J	27		D	27		D	27	M	27		V	27		L	27		
V	28		L	28		L	28	J	28		S	28		M	28		
S	29					M	29	V	29		D	29		M	29		
D	30					M	30	S	30		L	30		J	30		
L	31					J	31				M	31					

JUILLET		AOÛT		SEPTEMBRE		OCTOBRE		NOVEMBRE		DECEMBRE			
V	1	L	1	J	1	S	1	M	1	J	1		
S	2	M	2	V	2	TAKAROA	D	2	M	2	V	2	
D	3	M	3	S	3		L	3	J	3	S	3	
L	4	J	4	D	4		M	4	V	4	D	4	
M	5	V	5	L	5	TAHAA	M	5	S	5	L	5	
M	6	S	6	M	6		J	6	D	6	M	6	
J	7	D	7	M	7		V	7	L	7	M	7	
V	8	L	8	J	8	FAKARAVA	S	8	M	8	J	8	
S	9	M	9	V	9		D	9	M	9	V	9	
D	10	M	10	S	10		L	10	J	10	S	10	
L	11	J	11	D	11		M	11	GAMBIER	V	11	D	11
M	12	V	12	L	12		M	12	S	12	L	12	
M	13	S	13	M	13	MAKEMO	J	13	D	13	M	13	
J	14	D	14	M	14		V	14	L	14	M	14	
V	15	L	15	J	15		S	15	M	15	J	15	
S	16	M	16	V	16		D	16	M	16	V	16	
D	17	M	17	S	17		L	17	J	17	S	17	
L	18	J	18	D	18		M	18	V	18	D	18	
M	19	V	19	L	19		M	19	S	19	L	19	
M	20	S	20	M	20		J	20	D	20	M	20	
J	21	D	21	M	21		V	21	L	21	M	21	
V	22	L	22	J	22		S	22	M	22	J	22	
S	23	M	23	V	23		D	23	M	23	V	23	
D	24	M	24	S	24		L	24	J	24	S	24	
L	25	J	25	D	25		M	25	V	25	D	25	
M	26	V	26	L	26		M	26	S	26	L	26	
M	27	S	27	M	27		J	27	D	27	M	27	
J	28	D	28	M	28		V	28	L	28	M	28	
V	29	L	29	J	29		S	29	M	29	J	29	
S	30	M	30	V	30		D	30	M	30	V	30	
D	31	M	31				L	31			S	31	

JANVIER		FEVRIER		MARS		AVRIL		MAI		JUIN	
S	31	M	1	M	1	V	1	D	1	M	1
D	1	M	2	M	2	S	2	L	2	J	2
L	2	J	3	J	3	D	3	M	3	V	3
M	3	V	4	V	4	L	4	M	4	S	4
M	4	S	5	S	5	M	5	J	5	D	5
J	5	D	6	D	6	M	6	V	6	L	6
V	6	L	7	L	7	J	7	S	7	M	7
S	7	M	8	M	8	V	8	D	8	M	8
D	8	M	9	M	9	S	9	L	9	J	9
L	9	J	10	J	10	D	10	M	10	V	10
M	10	V	11	V	11	L	11	M	11	S	11
M	11	S	12	S	12	M	12	J	12	D	12
J	12	D	13	D	13	M	13	V	13	L	13
V	13	L	14	L	14	J	14	S	14	M	14
S	14	M	15	M	15	V	15	D	15	M	15
D	15	M	16	M	16	S	16	L	16	J	16
L	16	J	17	J	17	D	17	M	17	V	17
M	17	V	18	V	18	L	18	M	18	S	18
M	18	S	19	S	19	M	19	J	19	D	19
J	19	D	20	D	20	M	20	V	20	L	20
V	20	L	21	L	21	J	21	S	21	M	21
S	21	M	22	M	22	V	22	D	22	M	22
D	22	M	23	M	23	S	23	L	23	J	23
L	23	J	24	J	24	D	24	M	24	V	24
M	24	V	25	V	25	L	25	M	25	S	25
M	25	S	26	S	26	M	26	J	26	D	26
J	26	D	27	D	27	M	27	V	27	L	27
V	27	L	28	L	28	J	28	S	28	M	28
S	28			M	29	V	29	D	29	M	29
D	29			M	30	S	30	L	30	J	30
L	30			J	31			M	31		

JUILLET			AOÛT			SEPTEMBRE			OCTOBRE			NOVEMBRE			DECEMBRE		
V	1		L	1		J	1		S	1		M	1		J	1	
S	2		M	2		V	2		D	2		M	2		V	2	
D	3		M	3		S	3		L	3		J	3		S	3	
L	4		J	4		D	4		M	4		V	4		D	4	
M	5		V	5		L	5		M	5		S	5		L	5	
M	6		S	6		M	6		J	6		D	6		M	6	
J	7		D	7		M	7		V	7		L	7		M	7	
V	8		L	8	Takaroa	J	8		S	8		M	8		J	8	
S	9		M	9		V	9		D	9		M	9		V	9	
D	10		M	10		S	10		L	10		J	10		S	10	
L	11		J	11		D	11		M	11		V	11		D	11	
M	12		V	12		L	12		M	12		S	12		L	12	
M	13		S	13		M	13		J	13		D	13		M	13	
J	14		D	14		M	14		V	14		L	14		M	14	
V	15		L	15		J	15		S	15		M	15		J	15	
S	16		M	16		V	16		D	16		M	16		V	16	
D	17		M	17		S	17		L	17		J	17		S	17	
L	18		J	18		D	18		M	18		V	18		D	18	
M	19		V	19		L	19		M	19		S	19		L	19	
M	20		S	20		M	20		J	20		D	20		M	20	
J	21		D	21		M	21		V	21		L	21		M	21	
V	22		L	22		J	22		S	22		M	22		J	22	
S	23		M	23		V	23		D	23		M	23		V	23	
D	24		M	24	Gambier	S	24		L	24		J	24		S	24	
L	25		J	25		D	25		M	25		V	25		D	25	
M	26		V	26		L	26		M	26		S	26		L	26	
M	27		S	27		M	27		J	27		D	27		M	27	
J	28		D	28		M	28		V	28		L	28		M	28	
V	29		L	29		J	29		S	29		M	29		J	29	
S	30		M	30		V	30		D	30		M	30		V	30	
D	31		M	31					L	31					S	31	

## Annexe 4 : Préparations histologiques

### 1. Prélèvements et fixation des tissus (sur site)

Les agents du Service de la Perliculture, en mission dans les atolls, prélèvent 30 nacres et de 5 à 10 autres bivalves présents. Il peut s'agir de *P. maculata*, *Chamidae* sp. ou de *Lithophaga* sp..

Pour chaque huître, les tissus prélevés concernent le manteau, les branchies, le muscle adducteur et le rectum, la poche perlière et la masse viscérale comprenant la glande digestive, le tube digestif et la gonade. Pour les autres mollusques, tous les tissus sont fixés. Les tissus sont découpés au scalpel et placés dans des cassettes dans un pilulier rempli de liquide fixateur de Davidson.

Chaque animal est identifié par une étiquette apposée sur le pilulier.

#### Fixateur de Davidson

Eau de mer	1200 ml
Alcool à 95%	1200 ml
Formaldéhyde 38%	300 ml
Glycerol	400 ml
Total	3100 ml
Acide acétique glacial 10% extemporanément	

### 2. Mise en attente des tissus (sur site ou à Papeete)

Les échantillons sont ensuite ramenés à Papeete où le fixateur de Davidson est remplacé par de l'alcool à 70 °. Les tissus peuvent rester longtemps dans ce bain qui constitue un bain d'attente.

La suite du traitement des tissus est effectuée à la plate-forme technologique au Centre Ifremer du Pacifique à Vairao.

### 3. Traitement des tissus dans l'automate à inclusion (Ifremer)

Les cassettes sont placées dans l'automate à inclusion où les tissus sont déshydratés dans des bains croissants d'alcool :

alcool 70° :	2 bains de 1 h
alcool 80° :	2 bains de 1 h
alcool 95° :	2 bains de 1 h
alcool 100° :	2 bains de 1 h
xylène :	2 bains de 1 h

Après la série des alcools, les cassettes baignent dans 4 bains de 30 minutes de paraffine liquide : cette étape permet l'imprégnation des tissus, c'est-à-dire que la paraffine va pénétrer dans toutes les cellules des tissus pour remplacer l'eau et occuper tous les espaces vides.

Habituellement, les cassettes sont placées dans l'automate à inclusion l'après-midi, pour que la déshydratation des tissus et leur imprégnation aient lieu dans la nuit.

#### **4. Inclusion des tissus dans la paraffine (Ifremer)**

Le lendemain matin, les cassettes sont sorties de l'automate à inclusion pour être placées dans une étuve à 60 °C, en attendant l'inclusion des tissus dans la paraffine.

Dans la mesure du possible tous les tissus d'un même animal sont inclus dans le même bloc.

#### **5. Coupes histologiques au microtome (Ifremer)**

Pour que les blocs se coupent facilement au microtome, ils sont au préalable refroidis dans le congélateur. Les coupes, effectuées à une épaisseur de 3 µm environ, sont dépliées dans le bain-marie, puis recueillies sur une lame.

#### **6. Coloration des lames histologiques à l'automate (Ifremer)**

Les lames sont mises à sécher au moins 24 heures, avant d'être colorées en hématoxyline-éosine.

Avant toute coloration, les coupes histologiques sont déparaffinées et hydratées. Après coloration, elles sont déshydratées, puis montées dans une résine entre lame et lamelle.

#### **7. Délai entre la fixation des tissus et les observations au microscope**

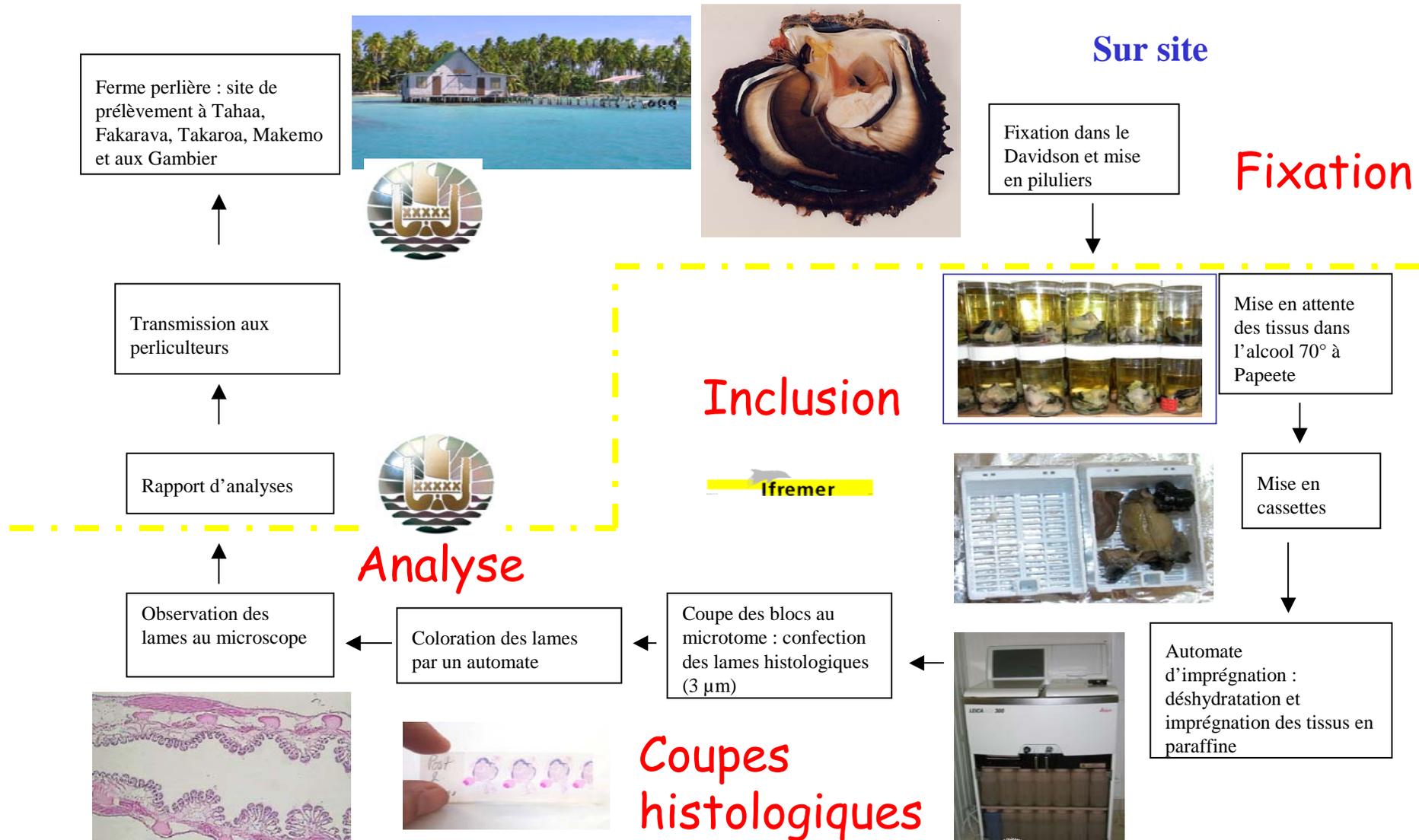
Un délai minimum d'un mois est nécessaire entre la date du prélèvement et l'envoi des résultats d'analyse. Toutefois ce délai pourra être prolongé car les échantillons fixés dans les îles sont acheminés vers Papeete par bateau (pour des raisons de sécurité car le Davidson est composé de différents produits chimiques inflammables).

#### **8. Observation des lames histologiques (PRL)**

L'observation des lames s'effectue au microscope.

#### **9. Rédaction et envoi d'un rapport d'analyses (PRL - Ifremer)**

Ce rapport sera envoyé au perliculteur concerné.



Organisation du réseau de veille zoonitaire : du prélèvement au retour des résultats d'analyse

## Annexe 5 : Maladie à déclaration obligatoire (OIE) dans la zone pacifique pour les mollusques

Exemple de rapport OIE complété tous les trimestres qui atteste de l'absence de maladie à déclaration obligatoire et/ou d'importance (lignes jaunes) chez les huîtres perlières en Polynésie française

### QUARTERLY AQUATIC ANIMAL DISEASE REPORT

Country: French PolynesiaPeriod: April - June 2006

Item	Disease status <sup>a/</sup>			Level of diagnosis	Epidemiological comment numbers
	Month				
DISEASES PREVALENT IN THE REGION	January	February	March		
<b>FINFISH DISEASES</b>					
<b>OIE-listed diseases</b>					
1. Epizootic haematopoietic necrosis	***		***		
2. Infectious haematopoietic necrosis	***	***	***		
3. Spring viraemia of carp	***	***	***		
4. Viral haemorrhagic septicaemia	***	***	***		
5. Infectious pancreatic necrosis	***	***	***		
6. Epizootic ulcerative syndrome (EUS)	***	***	***		
7. Bacterial kidney disease	***	***	***		
8. Red seabream iridoviral disease	***	***	***		
<b>Non OIE-listed diseases relevant to the region</b>					
9. Infection with koi herpesvirus	***	***	***		
10. Viral encephalopathy and retinopathy	+	+	+		
11. Enteric septicaemia of catfish	***	***	***		
12. Epitheliocystis	+	+	+		
13. Grouper iridoviral disease	***	***	***		
<b>MOLLUSC DISEASES</b>					
<b>OIE-listed diseases</b>					
1. Infection with <i>Bonamia exitiosa</i>	0000	0000	0000	II	(1)
2. Infection with <i>Perkinsus olseni</i>	0000	0000	0000	II	(1)
<b>Non OIE-listed diseases relevant to the region</b>					
3. Infection with <i>Marteilia sydneyi</i>	0000	0000	0000	II	(1)
4. Infection with <i>Marteilioides chungmuensis</i>	0000	0000	0000	II	(1)
<b>CRUSTACEAN DISEASES</b>					
<b>OIE-listed diseases</b>					
1. Taura syndrome	***	***	***		
2. White spot disease	***	***	***		
3. Yellowhead disease (YH virus, gill-associated virus)	***	***	***		
4. Spherical baculovirus ( <i>Penaeus monodon</i> -type baculovirus)	***	***	***		
5. Infectious hypodermal and haematopoietic necrosis	***	***	***		
6. Tetrahedral baculovirus ( <i>Baculovirus penaei</i> )	***	***	***		
<b>Non OIE-listed diseases relevant to the region</b>					
7. Necrotising hepatopancreatitis	***	***	***		
8. Baculoviral midgut gland necrosis	***	***	***		
9. White tail disease (MrNV and XSV)	***	***	***		
<b>UNKNOWN DISEASES OF A SERIOUS NATURE</b>					
1. Akoya oyster disease	0000	0000	0000	II	(2)
2. Abalone viral mortality	***	***	***		
<b>ANY OTHER DISEASES OF IMPORTANCE</b>					
1.					

<b>DISEASES PRESUMED EXOTIC TO THE REGION, BUT LISTED BY THE OIE<sup>(c)</sup></b>			
<b>Finfish:</b> Channel catfish virus disease; Infectious salmon anaemia; Piscirickettsiosis; Gyrodactylosis ( <i>Gyrodactylus salaris</i> ); White sturgeon iridoviral disease			
<b>Molluscs:</b> Infection with <i>Bonamia ostreae</i> ; <i>Marteilia refringens</i> ; <i>Mikrocytos mackini</i> ; <i>Perkinsus marinus</i> ; <i>Candidatus Xenohaliotis californiensis</i> ; <i>Haplosporidium costale</i>			
<b>Crustaceans:</b> Crayfish plague ( <i>Aphanomyces astaci</i> )			
a/ Please use the following symbols:			
		+( )	Occurrence limited to certain zones
+	Disease reported or known to be present	***	No information available
+?	Serological evidence and/or isolation of causative agent but no clinical diseases	0000	Never reported
?	Suspected by reporting officer but presence not confirmed	-	Not reported (but disease is known to occur)
		(year)	Year of last occurrence
b/ <i>Perkinsus olseni</i> and <i>P.atlanticus</i> are now considered conspecific. They may have different host species in different regions, and countries are encouraged to provide epidemiological comments where either of these agents occur.			
c/ If there is suspicion or confirmation of any of these diseases, they must be reported immediately, because the region is considered free of these diseases.			

### 1. Epidemiological comments:

(Comments should include: 1) Origin of the disease or pathogen (history of the disease); 2) Species affected; 3) Disease characteristics (unusual clinical signs or lesions); 4) Pathogen (isolated/sero-typed); 5) Mortality rate (high/low; decreasing/increasing); 6) Death toll (economic loss, etc); 7) Size of infected areas or names of infected areas; 8) Preventive/control measures taken; 9) Samples sent to national or international laboratories for confirmation (indicate the names of laboratories); 10) Published paper (articles in journals/website, etc). and 11) Unknown diseases: describe details as much as possible.)

Comment No.	
1	<b>Bonamiosis, Marteliosis and Perkinsiosis diseases</b> : no reported in French Polynesia since the start of active surveillance network in 2003
2	<b>Akoya oyster disease</b> : no reported in French Polynesia since the start of active surveillance network in 2003
3	
4	
5	