

BILAN DU RESEAU PATHOLOGIE DES MOLLUSQUES

REPAMO

1996

Direction des Ressources Vivantes
Département Ressources Aquacoles



Résumé :

La réglementation zoosanitaire vise à protéger les cheptels en limitant les risques de développement et de propagation des maladies infectieuses. La traduction en droit français des Directives Européennes 91/67/CE et 95/70/CE confère au Réseau de Pathologie des Mollusques de l'IFREMER (REPAMO) la charge de contrôler la santé des invertébrés marins d'intérêt commercial sur le territoire national.

Les objectifs de ce réseau sont les suivants :

- la réalisation des analyses permettant de classer les zones pour les maladies obligatoirement déclarables,
- la surveillance de base pour l'ensemble du cheptel français,
- l'étude des causes de mortalité anormale,
- le contrôle des produits échangés entre les pays de l'Union Européenne et la France et les pays tiers vers la France.

Ce document dresse le bilan de l'activité du REPAMO pour l'année 1996.

Abstract :**Mots-clés :**

mollusques bivalves, pathologie, réseau, zoosanitaire

Keywords**Commentaires :**

BILAN DU RESEAU PATHOLOGIE DES MOLLUSQUES

REPAMO

1996

Direction des Ressources Vivantes
Département Ressources Aquacoles

Sommaire :

1. Rappel des objectifs du réseau
2. Principaux résultats des analyses effectuées
 - 2.1. Analyses répondant à la Directive 91/67
 - 2.2. Suivi de base minimal
 - 2.3. Etude des cas de mortalité anormale
 - 2.4. Contrôle des échanges avec les pays de l'Union Européenne
 - 2.5. Contrôle des échanges avec les pays tiers
3. Actions de soutien aux programmes de recherche
4. Conclusion et perspectives
5. Note liminaire

1. Rappel des objectifs du réseau :

Le réseau de surveillance zoosanitaire de l'IFREMER, REPAMO, répond principalement aux Directives 91/67/CE et 95/70/CE et aux décrets d'application relatifs aux conditions de police sanitaire régissant la mise sur le marché d'animaux et de produits d'aquaculture. Les objectifs de ce réseau sont les suivants :

- la réalisation des analyses permettant de classer les zones pour les maladies obligatoirement déclarables,
- la surveillance de base pour l'ensemble du cheptel français,
- l'étude des causes de mortalité anormale,
- le contrôle des produits échangés entre les pays de l'Union Européenne et la France et les pays tiers vers la France.

Le REPAMO apporte en outre un soutien aux programmes de recherche de l'IFREMER.

2. Principaux résultats des analyses effectuées :

Le nombre d'échantillons analysés au cours de l'année 1996 est consigné dans le tableau 1. L'effort d'analyse du réseau en 1996 est supérieur à celui de 1995 puisque le nombre d'individus analysés est passé de 7668 à 10 184 individus (toutes techniques confondues). Cette augmentation pourrait être attribuée, dans une première approche, au nombre d'analyses effectuées par PCR.

Tableau 1 : effort d'analyse pour l'année 1996 pour les différentes zones française.

Zones	1/2/3/4 Méditerranée	5/6/7 Atlantique Sud Loire	8/9/10 Atlantique Nord Loire	Total
nombre d'individus analysés par frottis	1344	414	1904	3662
nombre d'individus analysés en histologie	460	662	1641	2763
nombre d'individus analysés par mise en culture en thioglycolate	0	44	0	44
nombre d'individus analysés en PCR	500	1121	2094	3715
Total	2304	2241	5639	10 184

2.1. Analyses répondant à la Directive 91/67 :

Ces analyses portent sur la recherche des parasites *Bonamia* et *Marteilia* chez l'huître plate, *Ostrea edulis*, d'élevage ou de gisements naturels. Les résultats de ces analyses sont donnés par le tableau 2. Au total 2958 huîtres plates ont été examinées dans les zones 2 à 9 (aucune analyse n'ayant été effectuée dans les zones 1 et 10). Tout comme les années précédentes, les

parasites *Bonamia* et *Marteilia* n'ont pas été retrouvés chez les individus provenant du gisement naturel situé au large de Grandville (zone 9). Sur les autres zones, les pourcentages de réponses positives sont variables, mais confirment les résultats des années précédentes. La zone 4 (bassin d'Arcachon) qui n'avait pu être échantillonnée en 1995 montre la présence du parasite *Marteilia* sur un banc naturel. Le résultat de la recherche de *Bonamia* dans la zone 2 qui est de 0/87 individus examinés en 1996 doit être rapproché du résultat pour 1995 qui était 1/90.

Ces résultats confirment globalement ceux acquis au cours des années précédentes ainsi que la proposition de classification en zone non agréée de toutes les zones françaises à l'exception de la zone 10 et de l'enclave constituée du gisement de Grandville.

Tableau 2 : résultats de la recherche des parasites, *Bonamia ostreae* et *Marteilia refringens* sur l'huître plate, *Ostrea edulis*, dans les différentes zones française en 1996.

Zones	nombre d'individus analysés	<i>Bonamia ostreae</i>	<i>Marteilia refringens</i>
1	pas d'analyse	-	-
2	87	0/87	0/30
3	1016	62/1016	-
4	149	0/149	0/60
5	40	0/40	10/40
6	553	110/308	20/245
7	66	7/66	11/66
8	915	67/915	0/612
9	132	0/132	0/132
10	pas d'analyse	-	-

2.2. Suivi de base minimal :

Ce suivi s'attache aux autres espèces, d'élevage ou de gisements naturels, et permet d'avoir une référence de l'état zoosantaire des mollusques bivalves présents sur le littoral français, année après année. En outre, ce suivi répond en partie à la Directive 95/70/CE établissant les mesures communautaire minimales de contrôle de certaines maladies des mollusques bivalves.

Les analyses ont porté sur les moules, *Mytilus galloprovincialis* et *M. edulis*, (368 individus analysés provenant des zones 3, 6, 7 et 8) chez lesquelles on retiendra la présence fréquente de *Mytilicola* ainsi que de *Marteilia* sp. (zones 3 et 8).

Les palourdes analysées, *Tapes decussatus*, *T. philippinarum* et *T. rhomboides* (209 individus analysés, provenant des zones 4, 5, 6, 7 et 8) ont révélé divers agents pathogènes (métazoaires, rickettsies) parmi lesquels il faut noter la présence de *Perkinsus atlanticus* avec parfois des fréquences notables (13/44 pour la zone 6). Des nécroses branchiales étaient associées à la présence de bactéries.

Tableau 3 : principaux résultats des analyses réalisées dans le cadre du suivi de base des autres espèces de mollusques bivalves pour les différentes zone françaises en 1996.

Espèce	zone	nombre d'individus analysés	technique d'analyse	résultat
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	3	118	appositions et histologie	<i>Marteilia</i> (5/118) <i>Mytilicola</i> (2/26)
<i>Tapes decussatus</i>	4	30	histologie	-
<i>Tellina</i> sp.	3	30	histologie	-
<i>Mytilus edulis</i>	7	30	histologie	<i>Mytilicola</i> (3/30) ciliés (4/30) grégarines (3/30)
<i>Mytilus edulis</i>	6	30	histologie	<i>Mytilicola</i> (7/30) ciliés (4/30) rickettsies (1/30) foyers bactériens dans les branchies (1/30)
<i>Tapes decussatus</i> <i>T. philipinarum</i>	7	60	histologie	rickettsies (6/60), foyers bactériens dans les branchies (16/60), métazoaires (5/60)
<i>Tapes decussatus</i> <i>T. philipinarum</i>	6	44	culture en thioglycolate	<i>Perkinsus atlanticus</i> (13/44)
<i>Tapes decussatus</i> <i>T. philipinarum</i>	5	28	histologie	<i>Perkinsus atlanticus</i> (8/28), rickettsies (5/28), métazoaires (1/28)
<i>Cerastoderma edule</i>	6	30	histologie	grégarines (22/30), métazoaires (15/30), rickettsies (7/30)
<i>Mytilus edulis</i>	8	190	appositions	<i>Marteilia</i> (25/190), <i>Mytilicola</i> (48/190), pinnothères (19/190), trématodes (4/190), métazoaires (2/190)
<i>Tapes philipinarum</i> <i>T. rhomboides</i>	8	47	histologie	<i>Perkinsus atlanticus</i> (5/47), rickettsies (23/47), anneau brun (1/47), <i>Nematopsis</i> (10/15 T. rhomb.) Trématodes (1/47) Haplosporidie (2/47) métazoaires (2/47) ciliés (1/47)
<i>Cerastoderma edule</i>	9	10	histologie	<i>Nematopsis</i> (5/10) Trématodes (3/10) pinnothères (5/10), ciliés (1/10), coccidies (1/10)
<i>Pecten maximus</i>	9	30	histologie	rickettsies (23/30), <i>Nematopsis</i> (2/30) métazoaires (2/30)

Un lot de coquille St Jacques, provenant d'un gisement de la zone 9, a révélé la présence de rickettsies chez 23 des 30 individus analysés.

Le détail des résultats de ces analyses est consigné dans le tableau 3.

2.3. Etude des cas de mortalité anormale :

L'étude des cas de mortalité anormale concerne essentiellement l'huître creuse, *Crassostrea gigas*. Toutefois, deux épisodes ne concernant pas cette espèce ont été signalés en 1996 et ont fait l'objet d'analyses. Deux lots d'huîtres plates, *Ostrea edulis*, (27 individus), originaires de l'étang de Thau (gisement) et mis en élevage sur ce site ont été examinés suite à des mortalités signalées. *Bonamia ostreae* n'a pas été observé (frottis cardiaques). Un lot de palourdes (13 individus) provenant de l'étang de Salses-Leucate a été examiné. 9 individus présentaient du *Perkinsus* et 3 des nécroses bactériennes au niveau des branchies.

La suite de ce chapitre se référera donc exclusivement aux épisodes de mortalité anormale enregistrés au cours de l'année 1996 pour l'huître creuse, *Crassostrea gigas*. Depuis l'introduction en France de cette espèce, en effet, des épisodes de mortalité estivale ont régulièrement été constatés. Depuis 1991, une généralisation de ces épisodes à la plupart des bassins semble se produire, notamment en 1994 et 1995. Cette mortalité estivale touche essentiellement les naissains, en pleine pousse. Sa propagation se traduit sur le terrain par une mortalité en taches.

L'année 1996 a été marquée par la mise au point d'une technique de diagnostic d'infection par herpès virus, basée sur la reconnaissance spécifique d'un fragment d'ADN et son amplification enzymatique (T. Renault). Cette technique est en cours de validation pour les trois cellules de veille sur des situations terrain. En termes d'applicabilité, la technique nécessite le sacrifice des animaux, sa réponse est qualitative, et permet d'analyser un grand nombre d'échantillons. En termes de performances, la technique a une détectabilité de l'ordre de 2500 copies d'ADN viral sur naissain. Une étude préliminaire de reproductibilité de la technique a montré des résultats de 75% de concordance sur 18 pools et 4 manipulateurs.

Le transfert de la technique de diagnostic en PCR aux trois cellules d'analyse du réseau a été réalisé en 1996. L'équipement et la formation des trois cellules ainsi que l'assistance technique ont été assurés par le laboratoire GAP de La Tremblade.

2.3.1. Rappel de la situation sur le terrain :

Dans l'ensemble, les épisodes de mortalité ont été moins importants en 1996, comparés aux données des deux années précédentes.

En méditerranée, des mortalités anormales d'huîtres creuses, *Crassostrea gigas*, ont été observées sur l'étang de Thau durant les mois de mai et juin 1996. Bien que touchant principalement du naissain mis dans l'étang entre avril et juin (en pignes ou cordées), des cas

de mortalités ont été également observés chez des huîtres jeunes mises en élevage sur ce site en février-mars 1996 et sur du naissain originaire d'écloserie.

Dans le bassin d'Arcachon, les taux de mortalité enregistrés (de l'ordre de 20 à 30%) sont considérés comme « normaux » par les professionnels. Des conditions trophiques particulières semblent pouvoir expliquer en partie ces taux de mortalité.

Le bassin de Marennes-Oléron a été touché dès la fin juin. Des mortalités de naissain ont été repérées à la vive eau de début juillet, dans les principaux secteurs de captage (Seudre, Port-des-barques, Fouras), ainsi que dans divers points du bassin (10% des stations échantillonnées pour les évaluations de stocks présentaient des mortalités élevées de naissain, de 50 à 90%). Au cours du mois de juillet, les mortalités observées sur ces secteurs ont été ponctuelles. Les mortalités d'adultes enregistrées sur le banc de Ronce fin juin avaient cessé début juillet. Il est à noter que la mortalité d'adultes sur ce banc n'a jamais été reliée à la présence ou à la détection d'herpès virus¹.

Dans la baie de Bourgneuf, deux secteurs semblaient touchés en juin, les roches de Bouin et Paillard. Les cas de mortalité signalés sur l'ensemble de la zone étaient très ponctuels, touchant parfois du captage local. Quelques cas étaient encore signalés au cours du mois de juillet. Des épisodes de mortalité importants (jusqu'à 70% de mortalité) ont été enregistrés en nurserie en juillet.

En Bretagne, des mortalités ont été signalées sur le naissain, en terrain découvrant, à partir de fin juin 1996 sur quelques secteurs de Bretagne Sud. Ponctuelles dans la plupart des secteurs, elles ont été plus importantes notamment en rivière d'Etel avec 60 à 80% sur du naissain d'écloserie et surtout en rivière d'Auray avec souvent plus de 50% de mortalité sur du captage tubes de Charente Maritime). A partir d'août, des mortalités ont été signalées en Bretagne Nord (Rade de Brest et Baie de Morlaix essentiellement, avec des taux de 30 à 40%). Deux commissions de visite ont eu lieu dans chacun des 2 derniers secteurs cités. Une extension tardive à Paimpol et à Cancale aurait eu lieu en septembre, ponctuellement semble-t-il. En Baie de Quiberon, en eau profonde, deux cas de mortalité importante ont été signalés sur le naissain fin juillet et un cas sur les adultes en octobre.

Très peu de cas de mortalité anormale ont été signalés en Normandie au cours de l'été 1996.

2.3.2. Résultats des analyses effectuées dans le cadre de l'étude des épisodes de mortalité anormale :

Les résultats des analyses effectuées sont présentés dans les tableaux 5, 5, 6 et 7 qui suivent. Ces tableaux présentent les résultats avec une référence à la zone géographique des lots analysés, l'origine du lot (captage ou écloserie), à la classe d'âge éventuellement (naissain, adulte), ainsi qu'au type de technique d'analyse utilisée (histologie, PCR).

¹ Voir : mortalité estivale de l'huître creuse, *Crassostrea gigas*, sur les bancs ostréicoles de Perquis et Ronce (bassin de Marennes-Oléron) - étude des pratiques culturelles et des caractéristiques biologiques et spatiales des élevages. Thèse de docteur vétérinaire, Marie-Isabelle Lodato, Ecole Vétérinaire de Nantes, janvier 1997, 127 p.

Tableau 4 : résultats des analyses réalisées sur les mortalités anormales de *C. gigas* en Méditerranée.

Bassins	Naissain (captage 1995 et 1996)	Adultes (captage antérieur)
Zone 3 Rhône- Aude	<i>Ecloserie</i> 81 individus (17 pools pour 2 lots) : 1/2 lot positif en PCR	<i>Ecloserie</i>
	<i>Captage naturel</i> 353 individus (89 pools pour 24 lots) : 10/24 lots positifs en PCR	<i>Captage naturel</i>

Tableau 5 : résultats des analyses réalisées sur des lots d'origine écloserie dans les zones Sud-Loire.

Bassins	Techniques	Résultats Naissains	Résultats Adultes
Zone 7 : Vendée, Baie de Bourgneuf	PCR	230 individus analysés (8 lots) : 30 pools sur 54 ont permis de détecter la présence d'ADN viral.	Pas d'analyse.
Zone 6 : Charente maritime, Marennes Oléron	PCR	215 individus analysés (6 lots) : 10 pools sur 39 ont permis de détecter la présence d'ADN viral.	Pas d'analyse.
	Histologie	67 individus analysés (2 lots) : 8 animaux à suspicion d'infection à virus de type herpès.	28 individus analysés (1 lot) : - 4 animaux avec des ciliés. - 1 animal avec un <i>Mytilicola</i> .

Tableau 6 : résultats des analyses réalisées sur des lots d'origine captage naturel dans les zones Sud-Loire.

Bassins	Techniques	Résultats Naissains	Résultats Adultes
Zone 7 : Vendée, Baie de Bourgneuf	PCR	180 individus analysés (6 lots) : 8 pools sur 45 ont permis de détecter de l'ADN viral.	Pas d'analyse.
Zone 6 : Charente maritime, Marennes Oléron	PCR	271 individus analysés (10 lots) : 32 pools sur 133 ont permis de détecter de l'ADN viral.	225 individus analysés (7 lots) aucune détection d'ADN viral.
	Histologie	40 individus analysés (1 lot) : - 4 animaux moribonds.	90 individus analysés (3 lots) : - 30 animaux moribonds. - 17 animaux avec des images de cercaires dans la glande digestive associées à d'importantes réactions inflammatoires des tissus avoisinants.

Tableau 7 : résultats des analyses réalisées sur les mortalités anormales de *C. gigas* dans les zones Nord-Loire.

Bassins	Naissain (captage 1995 et 1996)	Adultes (captage antérieur)
Zone 8 Bretagne	<i>Ecloserie</i> 118 individus (9 lots) : 22 individus avec anomalies nucléaires (6 lots) confirmation sur 3 lots sur 4 par PCR	
	<i>Naturel</i> 334 individus (19 lots) : 14 individus avec anomalies nucléaires (11 lots) confirmation sur 1 lot sur 8 par PCR et 1 PCR seule négative	<i>Naturel</i> 50 individus (5 lots) : 3 individus avec anomalies nucléaires (2 lots) pas de confirmation par PCR
		<i>origine non précisée</i> 10 individus (1 lot) aucun individu avec anomalies nucléaires
Zone 9 Normandie	Pas d'analyses	

2.4. Contrôle des échanges avec les pays de l'Union Européenne :

Quelques lots de coquillages en provenance des pays membres de l'Union Européenne ont été contrôlés au cours de l'année 1996. Les résultats de ces contrôles sont récapitulés dans le tableau suivant (tableau 8).

Tableau 8 : analyses réalisées dans le cadre d'importations à partir de pays membres de l'Union Européenne.

Espèce :	origine :	méthode d'analyse :	nombre d'individus analysés :	résultats :
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Espagne	histologie	30	<i>Mytilicola</i> (7/30) <i>Marteilia</i> (1/30)
<i>Ostrea edulis</i>	Portugal	histologie	10	métazoaires (4/10)
<i>Ostrea edulis</i>	Danemark	histologie	23	-

2.5. Contrôle des échanges avec les pays tiers :

En 1996, le contrôle à l'importation de pays tiers concernait essentiellement des lots expérimentaux. Il n'y a pas eu de demande d'analyse pour importation de lots commerciaux. 95 individus originaires de divers pays ont fait l'objet d'une analyse en microscopie photonique. Ces analyses ont concerné cinq espèces différentes : 30 *Crassostrea gigas*, 30 *Crassostrea rhizophorae*, 15 *Crassostrea rivularis*, et 20 *Saccostrea commercialis*.

Crassostrea gigas :

30 individus en provenance de Taïwan ont été analysés sur coupes histologiques. Les 30 animaux analysés ont révélé des inflammations de différents tissus dont la cause reste indéterminée.

Crassostrea rhizophoea :

30 individus en provenance de Nouvelle-Calédonie ont été analysés sur coupes histologiques. Ces analyses ont révélé sur 3 animaux des noyaux hypertrophiés dans les épithéliums des diverticules digestifs.

Crassostrea rivularis :

15 individus issus de la salle de quarantaine de La Tremblade (provenant initialement des Etats Unis d'Amérique) ont été analysés sur coupes histologiques. Ces analyses n'ont révélé aucun agent pathogène observable en microscopie photonique.

Saccostrea commercialis :

20 individus en provenance d'Australie ont été analysés sur coupes histologiques. Ces analyses ont révélé sur un animal des métazoaires au niveau de la glande digestive.

3. Actions de soutien aux programmes de recherche :

En marge des analyses réalisées en réponse aux demandes de l'administration et des professionnels, REPAMO contribue aux programmes suivants : REMORA, programme télécapage, programme huître plate dans l'étang de Thau, programme génétique - conservatoire de souches.

4. Conclusion et perspectives :

L'importance de REPAMO réside principalement dans le fait que ce réseau constitue une véritable courroie de transmission entre la recherche menée par l'IFREMER et la réalité de la filière conchylicole. Outre les réponses apportées à l'administration et aux professionnels, ce réseau permet de mieux cibler les besoins et les priorités d'une recherche finalisée dans le domaine de la pathologie des mollusques bivalves.

En 1996, l'activité du réseau a permis de confirmer le classement zoosanitaire des zones conchylicoles françaises, de contribuer à éclaircir la nature des épisodes de mortalité anormale de *Crassostrea gigas* notamment ceux dus au virus herpès, de pointer chez d'autres espèces de bivalves quelques agents pathogènes potentiellement préoccupants.

La circulation des informations constitue une qualité majeure des réseaux. L'amélioration des flux d'information constituera une des principales perspectives de travail de REPAMO pour l'année 1997 et s'articulera autour de trois points :

- Le transfert de la base de données (A.-G. Martin et F. Delaporte) aux trois cellules de veille devrait avoir lieu dans le cours du premier semestre. Cette base de données permettra d'assurer les flux horizontaux d'information au niveau analytique entre les cellules.
- Une liste électronique (repamo) sera créée au cours du premier semestre 1997, qui devrait assurer l'information (ascendante et descendante) de l'ensemble des acteurs du réseau (laboratoires conchylicoles, cellules de veille et responsables), notamment lors des épisodes de mortalité anormale.
- Enfin, comme en 1996, la diffusion de l'information vers l'extérieur (administration et profession) sera assurée par des bulletins réguliers, rédigés par l'animateur du réseau en collaboration avec les responsables de secteur.

Des essais inter-laboratoires seront mis en place au cours de l'année 1997, dont la première étape est l'harmonisation des protocoles techniques et du cadre d'utilisation des différentes méthodes de diagnostic. Ces essais concerneront dans un premier temps l'histologie.

Enfin, la réflexion entamée dès la fin de l'année 96 sur les stratégies d'échantillonnage adaptées aux besoins du réseau (A. Thébault) sera approfondie en 1997.