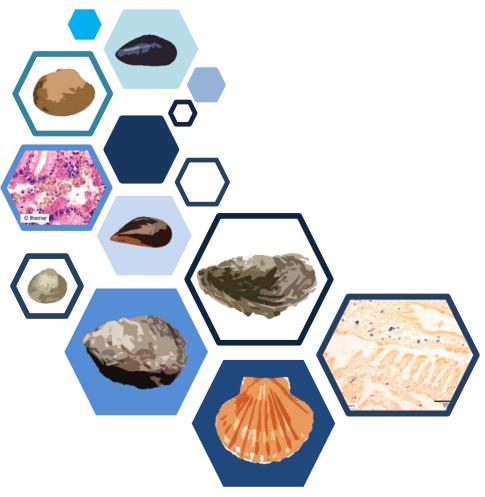
Unité Santé, Génétique et Microbiologie des Mollusques Unité Physiologie Fonctionnelle des Organismes Marins Unité Littoral

Coralie Lupo, Elodie Fleury, Julien Normand, Axel Osta Amigo, Stéphane Robert, Lydie Canier, Cyrille François, Céline Garcia, Isabelle Arzul, Christian Béchemin, Bruno Chollet, Christine Dubreuil, Mathilde Noyer, Bhagat Lal Dutta, Nicole Faury, Yoann Godfrin, Cyrielle Lecadet, Benjamin Morga, Marie-Agnès Travers, Delphine Tourbiez, Françoise Vérin, Rémy Cordier, Wilfried Louis, Charlotte Mary, Julia Pénot, Julien Chevé, Aurore Le Jolivet, Dominique Le Gal, Luc Lebrun, Jean-François Bouget, Nathalie Cochennec-Laureau, Hubert Palvadeau, James Grizon, Jean-Michel Chabirand, Philippe Geairon, Jean-François Pépin, Jean-Luc Seugnet, Florence D'Amico, Danièle Maurer, Patrik Le Gall, Serge Mortreux, Yoann Baldi, Valérie Orsoni, Marc Bouchoucha, Valérian Le Roy, Marine Salou, Bruno Petton, Sébastien Petton, Isabelle Queau, Stéphane Pouvreau, Gaétane Durand, Alice Lamoureux, Charlotte Provost



Bilan 2016 du dispositif national de surveillance de la santé des mollusques marins



Convention DGAL/IFREMER 16/1212709



Fiche documentaire

Titre et sous-titre du rapport :

Bilan 2016 du dispositif national de surveillance de la santé des mollusques marins

Bilan 2016 du dispositif national de surveillance de la santé des mollusques marins

Bibliographie : Non

Illustration(s) : Oui

Langue du rapport : Français

Diffusion:

Interne: site intranet Dispositif national de surveillance de la santé des mollusques marins http://w3z.ifremer.fr/repamo/Presentation/Rapports-annuels et emails à l'attention de :

- Correspondants REPAMO 2, RESCO 2, MYTILOBS 2 titulaires et suppléants
- Groupe de coordination COSMO
- Responsables des laboratoires concernés LER et LGPMM
- Responsable du département Océanographie et Dynamique des Ecosystèmes
- Responsable du département Ressources Biologiques et Environnement
- Responsable de l'Unité Santé, Génétique et Microbiologie des Mollusques
- Responsable de l'Unité Physiologie Fonctionnelle des Organismes Marins
- Responsable de l'Unité Littoral

Externe (après accord de la DGAL) : rapports papier et site internet du dispositif national de surveillance de la santé des mollusques marins https://wwx.ifremer.fr/sante mollusques/Documentation

- DGAL, DPMA, DDTM
- CNC, CRC, SENC, CN/R/DPMEM
- Laboratoires agréés
- Centres techniques (CREAA, SMEL, SMIDAP, CEPRALMAR)

Auteur(s) principal (aux):	Organisme / laboratoire
Coralie Lupo, Elodie Fleury, Julien Normand, Axel Osta Amigo, Stéphane	Ifremer/RBE/SG2M/LGPMM (La Tremblade)
Robert, Lydie Canier, Cyrille François, Céline Garcia	
Collaborateur(s):	Organisme / laboratoire
Christine Dubreuil, Mathilde Noyer, Bruno Chollet, Marie-Agnès Travers,	Ifremer/RBE/SG2M/LGPMM (La Tremblade)
Benjamin Morga, Isabelle Arzul, Delphine Tourbiez, Nicole Faury, Yoann	
Godfrin, Cyrielle Lecadet, Bhagat Lal Dutta, Christian Béchemin	
Rémy Cordier, Françoise Vérin	Ifremer/ODE/UL/LERBL (Boulogne sur Mer)
Wilfried Louis, Charlotte Mary	Ifremer/ODE/UL/LERN (Port-en-Bessin)
Julien Chevé, Aurore Le Jolivet, Julia Penot	Ifremer/ODE/UL/LERBN (Dinard)
Dominique Le Gal, Luc Lebrun	Ifremer/ODE/UL/LERFBO(Concarneau, Brest)
Jean-François Bouget, Nathalie Cochennec-Laureau	Ifremer/ODE/UL/LERMPL (La Trinité)
Hubert Palvadeau	Ifremer/ODE/UL/LSPC (Bouin)
James Grizon, Jean-Michel Chabirand	Ifremer/ODE/UL/LERPC (L'Houmeau)
Philippe Geairon, Jean-François Pépin, Jean-Luc Seugnet	Ifremer/ODE/UL/LERPC (La Tremblade)
Isabelle Auby, Florence D'Amico, Danièle Maurer	Ifremer/ODE/UL/LERAR (Arcachon)
Patrik Le Gall, Serge Mortreux	Ifremer/ODE/UL/LERLR (Sète)
Yoann Baldi, Valérie Orsoni, Marc Bouchoucha	Ifremer/ODE/UL/LERPAC (Toulon, Bastia)
Valérian Le Roy, Bruno Petton, Sébastien Petton, Stéphane Pouvreau,	Ifremer/RBE/PFOM/LPI (Brest, Argenton)
Isabelle Queau, Marine Salou	
Gaétane Durand, Alice Lamoureux, Charlotte Provost	Ifremer/ODE/DYNECO/VIGIES (Nantes)

Titre du contrat de recherche : REPAMO 2, RESCO 2, MYTILOBS 2, OPTIMOM

N° d'action Ifremer : A070102, A070115, A070116, A070117

Organisme commanditaire :

Mission institutionnelle d'Ifremer à la demande de la Direction Générale de l'Alimentation (DGAL)

Organisme(s) réalisateur(s) :

Ifremer, Laboratoire de Génétique et Pathologie des Mollusques Marins (RBE/SG2M), avenue Mus de Loup, 17390 La Tremblade Laboratoire Environnement Ressource des Pertuis Charentais (ODE/UL), avenue Mus de Loup, 17390 La Tremblade Laboratoire de Physiologie des Invertébrés, ZI de la Pointe du Diable, CS 10070, 29280 Plouzané

Responsables scientifiques: C.Canier, E.Fleury, C.François, C.Lupo, J.Normand, A.Osta Amigo, S.Robert

Résumé :

Depuis 1992, une surveillance de la santé des mollusques marins du littoral français est assurée par le réseau de Pathologie des Mollusques (Repamo). Ses activités s'inscrivent dans le cadre de la Directive Européenne 2006/88/CE. Depuis son évaluation par la plateforme nationale d'épidémiosurveillance en santé animale en 2012, l'objectif de surveillance est la détection précoce des infections dues à des organismes pathogènes exotiques et émergents affectant les mollusques marins sauvages et d'élevage.

L'année 2016 est la deuxième année de transition pour laquelle une évolution des modalités de surveillance de la santé des mollusques marins animées par l'Ifremer a été amorcée. Un dispositif hybride de surveillance a été mis en place en 2015, s'appuyant sur l'existant et intégrant des débuts d'évolution.

La surveillance événementielle a constitué l'activité principale du dispositif en 2016 et s'est appuyée sur des réseaux existants :

(1) la surveillance des mortalités observées sur des animaux sentinelles déployés sur les sites ateliers des réseaux Ifremer RESCO 2 (12 sites) pour l'huître creuse Crassostrea gigas et MYTILOBS 2 (9 sites) pour la moule bleue Mytilus edulis. Pour l'huître creuse Crassostrea gigas, la mortalité cumulée moyenne était de 68% (écart-type 8%) pour le naissain standardisé Ifremer (NSI), de 17% (écart-type 19%) pour les huîtres de 18 mois et de 11% (écart-type 11%) pour les huîtres de 30 mois. Les mortalités ont été observées principalement entre la fin du mois de mai et la fin du mois de juin. Lors de ces épisodes de mortalité, des prélèvements d'animaux ont été réalisés en vue d'analyses diagnostiques : dix prélèvements pour le NSI et un pour les huîtres de 18 mois. Aucun agent réglementé n'a été détecté dans les échantillons d'huîtres creuses prélevés et analysés. Le virus OsHV-1 a été détecté dans les neuf échantillons analysés de NSI. La bactérie Vibrio aestuarianus n'a été détectée dans aucun des neuf échantillons analysés de NSI. Pour la moule bleue Mytilus sp., des mortalités cumulées variant de 21% sur le site du Vivier à 85% sur le site des Filières du Pertuis Breton ont été estimées. Les mortalités ont été observées à la période hivernale 2015-2016 et au printemps 2016. Lors de ces épisodes de mortalités, cinq prélèvements d'animaux ont été réalisés en vue d'analyses diagnostiques. Ces prélèvements ont eu lieu dans le Pertuis Breton (sites des Filières, Roulière et Aiguillon), la Baie de Bourgneuf (site de Maison Blanche) et la côte ouest du Cotentin (site d'Agon). Aucun agent réglementé n'a été détecté dans les échantillons de moules prélevés et analysés. Des bactéries du groupe Splendidus ont été détectées dans les cinq échantillons de moules analysés.

(2) la surveillance s'appuyant sur les déclarations de mortalités de mollusques par les conchyliculteurs et pêcheurs à pied professionnels auprès des Directions départementales des territoires et de la mer (DDTM). Cette modalité, appelée REPAMO 2, s'applique aux huîtres creuses et aux moules bleues lorsqu'il n'existe pas de site atelier RESCO 2 ou MYTILOBS 2 dans la zone où des mortalités sont déclarées par les conchyliculteurs ou pêcheurs à pied. Dans le cadre de REPAMO 2 17 interventions ont été réalisées, dont 10 pour les moules bleues Mytilus sp., quatre pour les huîtres creuses Crassostrea gigas, une pour les moules Mytilus galloprovincialis en Méditerrannée, une pour les coques Cerastoderma edule et une pour les pétoncles noirs Mimachlamys varia. La recherche d'agents infectieux dans ces espèces de mollusques prélevés lors de hausse de mortalité a permis de mettre en évidence le parasite réglementé Marteillia refringens dans le lot de moules méditerranéennes, ainsi que le virus OsHV-1 dans trois lots de naissains d'huîtres creuses, la bactérie Vibrio aestuarianus dans un lot de moules bleues, et des bactéries du groupe Splendidus dans tous les lots analysés à l'exception du lot de coques.

L'année 2016 a également permis de poursuivre un exercice de surveillance programmée, ciblée et fondée sur les risques d'introduction et d'installation d'un organisme pathogène exotique sur un site atelier. Elle a concerné *Mikrocytos mackini*, parasite de l'huître creuse *Crassostrea gigas*, sur un site atelier de la Charente-Maritime, suivi par le réseau RESCO 2. Le parasite *Mikrocytos mackini* n'a pas été détecté. En revanche, un parasite du genre *Marteilia* a été détecté dans ¾ des prélèvements d'huîtres réalisés.

En 2016, la démarche relative aux développements méthodologiques en lien avec la surveillance événementielle des mortalités de mollusques marins a été poursuivie. Une modalité de signalement des mortalités de coquillages par SMS, complétée par la recherche prospective de regroupements spatio-temporels de signalements de mortalités d'huîtres creuses a été expérimentée en Normandie, en collaboration avec tous les acteurs locaux de la santé des mollusques marins. Cette modalité de signalement est plus réactive que la déclaration de mortalité auprès de la DDTM existante, en particulier pour les moules.

Dans le contexte des missions du LNR pour les maladies des mollusques marins, une démarche visant à développer une approche diagnostique en bactériologie par MALDI-TOF a été initiée afin de détecter des bactéries marines d'intérêt en pathologie des mollusques marins.

Mots clés : réseau, surveillance, pathologie, mollusques, coquillages, santé, mortalité, maladie

Liste des abréviations

DDTM Direction départementale des territoires et de la mer

DGAL Direction générale de l'alimentation LNR Laboratoire national de référence

MYTILOBS Observatoire mytilicole

OIE Organisation mondiale de la santé animale

Plateforme ESA Plateforme d'épidémiosurveillance en santé animale

RESCO Observatoire conchylicole

REPAMO Réseau de pathologie des mollusques

Table des matières

 Objectifs et organisation du dispositif national de surve des mollusques marins 	
1.1. Rappel des objectifs et missions du dispositif	
1.2. Stratégies de surveillance	
1.3. Structure du dispositif de surveillance	
1.3.1. Etapes et caractéristiques standardisées entre les trois réseaux	
1.3.2. Le réseau RESCO 2	
1.3.3. Le réseau MYTILOBS 2	
1.3.4. Le réseau REPAMO 2	
1.4. Fonctionnement du dispositif de surveillance	
1.5. Analyse et interprétation des données de surveillance	
1.6. Diffusion de l'information	
1.6.1. Information liée au fonctionnement du dispositif de surveillance	
1.6.2. Systeme d'aierte en cas de nausse de mortante	
2. Résultats de la surveillance planifiée des mortalités e huîtres creuses réalisée par le réseau RESCO 2	
2.1. Surveillance planifiée des mortalités d'huîtres creuses	
2.1.1. Mortalités observées	
2.1.2. Détection d'organismes pathogènes	
2.2. Exercice de démonstration de surveillance programmée de Mikrocytos mackir	ni 32
3. Résultats de la surveillance planifiée des mortalités de le réseau MYTILOBS 2	
3.1. Mortalités observées	
3.2. Détection d'organismes pathogènes	35
4. Résultats de la surveillance événementielle des mo coquillages réalisée par le réseau REPAMO 2	rtalités des autres
4.1. Surveillance événementielle des mortalités de moules	
4.1.1. Mortalités observées	
4.2. Surveillance événementielle des mortalités d'huîtres creuses	
4.2.1. Mortalités observées	
4.3. Surveillance événementielle des mortalités de coques	
4.3.2. Détection d'organismes pathogènes	
4.4. Surveillance événementielle des mortalités de pétoncles noirs	
4.4.1. Mortalités observées	
4.4.2. Détection d'organismes pathogènes	

6. Etudes d'optimisation des modalités de surveillance de la santé des
mollusques marins50
6.1. Etude de faisabilité de la recherche prospective de regroupements spatiotemporels d'événements de mortalités de coquillages : expérimentation en routine sur un site atelier, la Normandie
6.2. Participation à l'élaboration d'un protocole standardisé d'investigation en cas de regroupement d'événements de mortalités de coquillages avéré63
6.3. Transfert de la méthode développée au moyen de formations et d'un service d'assistance téléphonique 64
6.4. Optimisation du diagnostic en bactériologie
7. Perspectives 2017
Annexe 2 : Agents Ifremer impliqués dans le dispositif de surveillance de la santé des mollusques marins70
Annexe 2 : Agents Ifremer impliqués dans le dispositif de surveillance de la santé des
Annexe 2 : Agents Ifremer impliqués dans le dispositif de surveillance de la santé des mollusques marins
Annexe 2 : Agents Ifremer impliqués dans le dispositif de surveillance de la santé des mollusques marins

1. Objectifs et organisation du dispositif national de surveillance de la santé des mollusques marins

1.1. Rappel des objectifs et missions du dispositif

Depuis 1992, une surveillance de la santé des mollusques marins du littoral français, qu'ils soient en gisements naturels ou en élevage, est assurée par le réseau de Pathologie des Mollusques (Repamo) pour le compte de l'autorité compétente (ministère chargé de l'agriculture). Ses activités font partie des missions institutionnelles de l'Ifremer, en particulier celles d'appui à la puissance publique, et répondent aux obligations de la réglementation française (Code rural et de la pêche maritime), européenne (Directive 2006/88/CE) et internationale (Code Sanitaire pour les Animaux Aquatiques de l'Organisation mondiale de la santé animale, OIE).

Suite à l'évaluation du réseau Repamo par la Plateforme nationale d'épidémiosurveillance en santé animale (ESA) en 2012, le dispositif de surveillance de la santé des mollusques marins a initié un recentrage de ses objectifs sur la **détection précoce des infections dues à des organismes pathogènes exotiques et émergents affectant les mollusques marins sauvages et d'élevage**. Cette surveillance mise en œuvre par Ifremer et ses partenaires a pour finalité première de **détecter un signal**, déclencheur d'une action publique réalisée par la Direction générale de l'alimentation (DGAL) et les Directions départementales des territoires et de la mer (DDTM) avec l'adoption de mesures de lutte appropriées et proportionnées.

1.2. Stratégies de surveillance

En 2013, la DGAL a créé un comité de pilotage réunissant tous les acteurs de la surveillance ainsi qu'un groupe de travail (GT « Mollusques ») dédiés à cette évolution, auxquels l'Ifremer participe. L'Ifremer intervient dans ces deux entités et apporte en particulier son expertise dans la définition des orientations stratégiques de la surveillance des maladies des mollusques ainsi que dans l'élaboration de protocoles concernant les modalités de surveillance. En s'appuyant sur les outils réglementaires disponibles, le GT « Mollusques » a proposé deux approches méthodologiques de surveillance complémentaires, fondées sur les risques :

(I) Surveillance événementielle des mortalités de mollusques marins :

Il s'agit d'une surveillance passive réalisée en continu, généraliste et réactive, s'appuyant sur la déclaration obligatoire des épisodes de mortalité de mollusques par les conchyliculteurs/pêcheurs. La précocité de la détection des agents infectieux est capitale pour la maîtrise de la maladie associée. Il est donc indispensable d'obtenir une sensibilité et une réactivité élevées de la surveillance événementielle aux différentes étapes clés. La surveillance événementielle (étude des cas de hausse de mortalité) chez toutes les espèces de mollusques répond aux exigences de la Directive 2006/88/CE, du décret n°2008-1141 [NOR: AGRG0823467D] et de l'arrêté du 04 novembre 2008 [NOR: AGRG0825593A].

(II) Surveillance programmée et fondée sur une évaluation des risques d'introduction et/ou d'installation d'organismes pathogènes exotiques ou émergents :

Elle repose sur la recherche active de données par des actions programmées à l'avance et s'appuie sur le suivi et l'enregistrement réguliers d'indicateurs zootechniques, sanitaires ou environnementaux.

L'objectif de ces approches est de maximiser les chances de détection d'un organisme pathogène exotique ou émergent et de raisonner les ressources humaines et financières allouées à la surveillance de la santé des mollusques marins. La surveillance ciblée sur les infections réglementées chez toutes les espèces de mollusques répond aux exigences de la Directive 2006/88/CE, du décret n°2008-1141 [NOR : AGRG0823467D] et de l'arrêté du 29 juillet 2013 [NOR : AGRG1320208A]. La surveillance fondée sur une analyse des risques répond aux exigences de la Directive 2006/88/CE. Les listes d'infections réglementées sont disponibles dans l'annexe 1.

L'année 2015 a marqué le début d'une période de transition pour laquelle les échanges avec la DGAL ont permis un début d'évolution des modalités de surveillance de la santé des mollusques marins. A

terme, cette évolution visera à intégrer et appliquer en routine l'ensemble des approches méthodologiques proposées par le GT « Mollusques ».

Depuis 2015, la proposition de surveillance de la santé des mollusques marins animée par l'Ifremer comporte quatre axes, organisés en deux objectifs.

Le premier objectif est de détecter précocement les infections dues à des organismes pathogènes émergents affectant les mollusques marins sauvages et d'élevage.

Pour cela, trois axes sont mis en place:

- 1. la surveillance planifiée des mortalités de l'huître creuse *Crassostrea gigas* s'appuyant sur le réseau RESCO existant (réseau RESCO 2);
- 2. la surveillance planifiée des mortalités de la moule bleue *Mytilus edulis* s'appuyant sur le réseau MYTILOBS existant (réseau MYTILOBS 2).

Ces deux réseaux s'appuient sur un suivi régulier de la mortalité d'individus sentinelles déployés sur des sites ateliers.

3. la surveillance événementielle des mortalités des autres espèces de mollusques marins s'appuyant sur le réseau Repamo existant (réseau REPAMO 2).

Ce réseau s'appuie sur la déclaration de mortalités des conchyliculteurs ou des pêcheurs professionnels aux services déconcentrés de l'Etat, les DDTM.

Le second objectif est de détecter précocement les infections dues à des organismes pathogènes exotiques affectant les mollusques marins sauvages et d'élevage. Dans le cadre du GT « Mollusques », l'Ifremer a développé en 2014 une méthodologie d'évaluation spatiale et temporelle des risques d'introduction et d'installation d'un organisme pathogène exotique pour aider à cibler les sites privilégiés pour une surveillance programmée. En l'absence d'une hiérarchisation des maladies exotiques et présentes des mollusques marins disponible en 2014, cette méthodologie a été appliquée à l'agent *Mikrocytos mackini*, parasite protozoaire exotique réglementé au niveau européen et affectant l'huître creuse, *Crassostrea gigas*. Le site atelier choisi était la Charente-Maritime, du fait de la disponibilité de l'ensemble des données nécessaires à l'application de la méthode développée. L'un des sites (Loix-en-Ré), identifié comme présentant un risque élevé d'installation de *Mikrocytos mackini*, est l'un des sites suivis par le réseau RESCO 2, et la période à risque identifiée était les mois de mars et avril.

Ainsi, un quatrième axe de surveillance, sous la forme d'un exercice de démonstration, est mis en place depuis 2015:

4. la surveillance planifiée, ciblée et fondée sur le risque d'introduction et d'installation de *Mikrocytos mackini* chez l'huître creuse *Crassostrea gigas* s'appuyant sur le réseau RESCO 2. Cette surveillance consiste en une recherche régulière du parasite chez des huîtres sentinelles déployées sur un site atelier, à risque élevé d'installation du parasite, au cours des mois de mars et avril.

1.3. Structure du dispositif de surveillance

Le dispositif de surveillance de la santé des mollusques marins est organisé autour de trois réseaux, consacrés à des groupes d'espèces de mollusques marins distincts. Une partie des étapes du dispositif est commune et standardisée afin de pouvoir agréger les données recueillies par les trois réseaux. Toutefois, chacun de ces réseaux a une organisation qui lui est propre.

1.3.1. Etapes et caractéristiques standardisées entre les trois réseaux

• Correspondants côtiers

Le dispositif compte des correspondants titulaires et des correspondants suppléants au sein des Laboratoires Environnement Ressource de l'Ifremer, qui représentent le dispositif sur le terrain et localement (Figure 1). La liste des correspondants pour chacun des réseaux est disponible dans l'annexe 2.



Figure 1. Localisation des correspondants côtiers Ifremer du dispositif de surveillance

• Coordination du dispositif

Pour chacun des trois réseaux, un coordonnateur contribue à :

- harmoniser les activités des différents acteurs du réseau ;
- informer et former les acteurs du réseau ;
- centraliser et consolider les données recueillies ;
- participer à l'exploitation des données recueillies ;
- diffuser et valoriser les résultats.

Un groupe de coordination Ifremer de la surveillance de la santé des mollusques marins (COSMO) contribue à :

- harmoniser les activités des différents réseaux :
- élaborer la stratégie de surveillance du dispositif et à la réactualiser en fonction du contexte réglementaire, scientifique et socio-économique ;
- coordonner l'exploitation des données recueillies ;
- diffuser et valoriser les résultats.

Le groupe COSMO regroupe les coordonnateurs de chacun des trois réseaux, la responsable du Laboratoire National de Référence (LNR) pour les maladies des mollusques marins et une épidémiologiste. La composition détaillée du groupe COSMO est disponible dans l'annexe 2.

• Partenaires du dispositif

Les différents partenaires du dispositif de surveillance sont :

- les conchyliculteurs, pêcheurs et expéditeurs ;
- l'autorité compétente (DGAL, bureau de la Santé Animale) et les services déconcentrés (DDTM) ;
- le LGPMM (La Tremblade), dans le cadre de ses missions de LNR pour les maladies des mollusques marins, réalise sous accréditation les analyses en cytologie et histologie, et sous démarche qualité l'ensemble des autres analyses des échantillons de mollusques prélevés par le dispositif de surveillance. Le LGPMM est impliqué dans le développement de nouveaux outils diagnostiques, dans l'acquisition de connaissances sur le pouvoir pathogène de divers organismes pathogènes et l'épidémiologie des maladies infectieuses des mollusques ;

- les réseaux de laboratoires d'analyses diagnostiques agréés pour la réalisation d'analyses (1) pour la recherche du virus OsHV-1 et des bactéries du genre *Vibrio* chez les mollusques marins, et (2) en histo-cytopathologie pour la recherche d'organismes pathogènes réglementés chez tous les mollusques marins. La liste des laboratoires agréés est disponible à l'annexe 3.

• Analyses diagnostiques de laboratoire réalisées

Les techniques analytiques réalisées par le réseau de laboratoires agréés et le LGPMM dans le cadre de ses missions de LNR pour la détection d'organismes pathogènes chez les mollusques marins sont les suivantes :

- Histo-cytopathologie:

L'observation de lames d'histologie en microscopie photonique permet d'effectuer une recherche large et non spécifique d'organismes pathogènes (parasites protozoaires et métazoaires, foyers bactériens, foyers fongiques, anomalies cellulaires pouvant signaler la présence de virus).

- Recherche de bactéries majoritaires principalement appartenant au genre Vibrio :

La culture et l'isolement de souches bactériennes majoritaires sont réalisés afin de détecter l'émergence éventuelle de nouvelles espèces ou souches bactériennes.

Cette recherche de bactéries a été réalisée par le LGPMM dans le cadre de ses missions de LNR au cours du premier semestre 2016 puis par le réseau de laboratoires agréés à partir du mois d'août 2016 suite au transfert de ces analyses au réseau de laboratoires. La méthode analytique officielle¹ pour la recherche bactéries majoritaires appartenant au genre *Vibrio* est appliquée sur l'ensemble des échantillons prélevés pour mortalité. Elle consiste en la mise en culture d'un broyat de tissus après une série de dilutions en eau de mer artificielle sur un milieu favorisant la croissance des bactéries marines. L'isolement de souches bactériennes majoritaires est réalisé selon les protocoles classiques de bactériologie².

Une fois les bactéries majoritaires isolées, les bactéries de l'espèce *Vibrio aestuarianus* et celles appartenant au groupe *Splendidus* seront préférentiellement recherchées dans un premier temps du fait de leur implication dans des mortalités de mollusques marins. La méthode analytique utilisée pour l'identification de ces bactéries est basée sur une technique de PCR Taqman multiplex qualitative développée par le LGPMM et en cours de publication³. Elle consiste en une amplification par PCRq multiplex d'ADN d'isolats bactériens, à l'aide du couple d'amorces et sonde Taqman SpF/SpR et 16Sprobe pour les bactéries du groupe *Splendidus* et DNAjaesF1/DNAjaesR1/DNAj probe pour *Vibrio aestuarianus*. Tous les isolats bactériens appartenant au groupe *Splendidus* sont détectés de façon spécifique. Il en est de même pour tous les isolats bactériens appartenant à l'espèce *V. aestuarianus*.

Les autres bactéries isolées font l'objet d'un séquençage de différents gènes afin de les identifier.

- Recherche de l'herpès virus OsHV-1 :

Il existe deux méthodes officielles de PCR en temps réel pour la détection d'ADN de l'herpès virus OsHV-1, basées sur des techniques publiées :

- la première méthode⁴ consiste en une amplification en temps réel basée sur la chimie SYBR®Green et l'utilisation du couple d'amorces DP-F/DP-R ciblant le gène de l'ADN polymérase d'OsHV-1.

¹ Garnier et al. (2007). Evidence for the involvement of pathogenic bacteria in summer mortalities of the Pacific oyster *Crassostrea gigas. Microbial Ecology* 53: 187-196

Saulnier et al. (2010.) A large-scale epidemiological study to identify bacteria pathogenic to Pacific oyster *Crassostrea gigas* and correlation between virulence and metalloprotease-like activity. *Microbial ecology* 59: 787-798

³ Saulnier D., Travers M.A., De Decker S. Development of a duplex real-time PCR assay for rapid identification of *Vibrio splendidus*-related and *V. aestuarianus* strains from bacterial colony. *En preparation*.

⁴ Pépin, J.F., Riou, A., Renault, T. (2008). Rapid and sensitive detection of ostreid herpes virus 1 in oyster samples by real-time PCR, *Journal of Virological Methods*, **149**, 269-276

² Stanier R.Y., Doudoroff M., Adelberg A., 1966. Microbiologie générale. Ed Masson, Paris, 638p

- la seconde méthode⁵ est basée sur une amplification en temps réel de type TaqMan® et sur l'utilisation du couple d'amorces OsHV1BF/B4 ciblant un gène d'OsHV-1 codant pour une protéine inhibitrice de l'apoptose (IAP).

L'ensemble des échantillons de mollusques marins prélevés pour mortalité fait l'objet d'une recherche de l'herpès virus OsHV-1 par l'une des deux techniques officielles.

En cas de suspicion d'infections réglementées, plusieurs techniques analytiques sont mises en œuvre par le LNR pour infirmer/confirmer cette suspicion (PCR-RFLP, PCR en temps réel, séquençage, hybridation *in situ*, microscopie électronique à transmission en fonction de l'agent infectieux considéré et des recommandations de l'OIE et de la commission européenne).

Ces analyses de laboratoire sont réalisées à des fins diagnostiques en cas de hausses de mortalité de mollusques marins, observées dans le cadre des trois réseaux. Elles sont également réalisées avant le déploiement des lots de coquillages sentinelles (huîtres, moules) dans les sites ateliers des réseaux RESCO 2 et MYTILOBS 2 dans le cadre d'un dépistage d'éventuels organismes pathogènes. Pour les nouveaux lots sentinelles d'huîtres creuses, il est également réalisé une épreuve thermique de laboratoire au laboratoire de Physiologie des Invertébrés, sur le site expérimental d'Argenton (RBE/PFOM/LPI), associée à des analyses de laboratoire pour rechercher la présence de l'herpès virus OsHV-1, avant et après l'épreuve thermique.

1.3.2. Le réseau RESCO 2

• Localisation des sites ateliers du réseau

Depuis 2015, la surveillance planifiée appliquée sur les huîtres creuses *Crassostrea gigas* s'appuie sur les sites préalablement suivis dans le cadre du réseau RESCO (2009-2014). Plus précisément, les 12 sites étudiés dans le protocole RESCO 2 sont répartis le long des 3 façades littorales françaises, dans les principaux bassins producteurs d'huîtres creuses (Figure 2). Parmi ces sites, seul le site de « Marseillan est » situé dans l'étang de Thau est non découvrant, en accord avec les pratiques culturales locales.



Figure 2. Localisation géographique des sites ateliers du réseau RESCO 2

.

⁵ Martenot, C., Oden, E., Travaillé, E. Houssin, M. (2010). Comparison of two real-time PCR methods for detection of ostreid herpesvirus 1 in the Pacific oyster *Crassostrea gigas. Journal of Virological Methods*, **170** (1-2), 86-89

⁶ Petton, B., Pernet, F., Robert, R., Boudry, P. (2013). Temperature influence on pathogen transmission and subsequent mortalities in juvenile Pacific oysters Crassostrea gigas. *Aquaculture Environment Interactions*, 3(3), 257-273

Pour chacun des sites, un voire deux correspondants sont identifiés (Annexe 2). L'ensemble des correspondants est donc réparti sur 10 implantations différentes. La coordination nationale du réseau RESCO 2 est opérée à partir du laboratoire de Physiologie des Invertébrés (RBE/PFOM/LPI) – Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin (UMR 6539 CNRS-UBO-IRD-Ifremer), localisé à l'Ifremer de Brest.

• Population surveillée par le réseau

La population d'huître creuse surveillée par le réseau RESCO 2 est issue d'un lot de Naissain Standardisé Ifremer (NSI) constituant un matériel biologique produit en condition d'élevage et milieux contrôlés (site expérimental d'Argenton RBE/PFOM/LPI puis sur la Plateforme Régionale d'Innovation de Bouin SG2M-LSPC). Ce type de lot NSI représente un matériel biologique standard et reproductible, dont la variance inter-lot est minimisée grâce à l'utilisation d'un large pool de géniteurs d'origine sauvage et dont les traits d'histoire de vie précédant le déploiement sur site sont parfaitement connus. Sur la base de l'utilisation de ce lot de naissain en année N, les lots sentinelles sont conservés sur chacun des sites en année N+1 et N+2, afin de constituer des suivis de lots sur 3 ans issus d'une même cohorte.

Les lots sentinelles suivis sont donc composés de 3 classes d'âge : 6 mois, 18 mois et 30 mois (Figure 3).

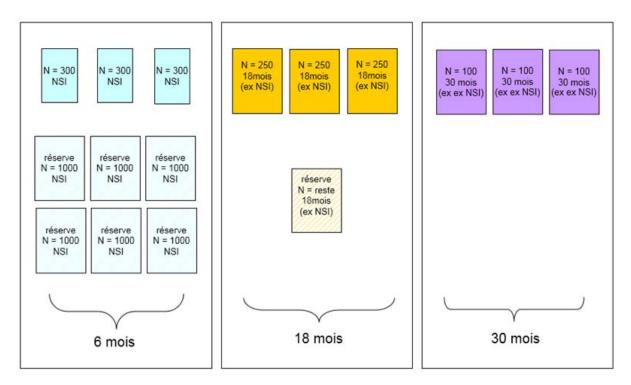


Figure 3. Schéma représentant les lots sentinelles suivis sur l'ensemble des sites RESCO 2 en 2016

La classe d'âge 6 mois se compose de :

- 3 poches contenant 300 individus du lot NSI et de 6 poches « réserve » contenant 1000 individus NSI. Ces poches « réserve » ne font pas l'objet des suivis actifs de 2016, mais serviront à compléter le nombre d'individus NSI restant en fin de campagne pour constituer le lot « 18 mois » de l'année 2017. Ces lots NSI ont été produits au laboratoire de Physiologie des Invertébrés, sur le site expérimental d'Argenton (RBE/PFOM/LPI) puis pré-grossis au Laboratoire Sécurisation des

Production en Conchyliculture à Bouin (RBE/SG2M/LSPC) selon un protocole standardisé⁷. Ce lot a été envoyé simultanément à tous les laboratoires impliqués dans le réseau RESCO 2 par transporteur le 8 mars 2016. Une biométrie initiale (commune à tous les sites) a été réalisée sur 30 individus de ce lot prélevés ce même avant l'envoi jour à l'ensemble des correspondants. Le poids moyen initial de ce lot NSI 2016 était de 0,4 g, comme pour l'année précédente.

- 3 poches contenant 250 individus du lot « 18 mois » issus de la conservation des lots NSI de l'année 2015 sur chacun des sites (nommés « ex NSI »), et de poches « réserves » contentant le surplus de ces individus. Ces poches « réserve » ne font pas l'objet des suivis actifs de 2016, mais serviront à compléter le nombre d'individus « 18 mois » restant en fin de campagne pour constituer le lot « 30 mois » de l'année 2017. Des biométries « initiales » pour ce lot « 18 mois » ont donc été effectuées à partir de 15 individus prélevés sur chacun des sites RESCO 2 le 8 mars 2016, date du lancement de la campagne de suivi.
- 3 poches contenant 100 individus du lot « 30 mois » issu de la conservation des lots « 18 mois » de l'année 2015 sur chacun des sites (nommés « ex NSI »). Des biométries « initiales » pour ce lot « 30 mois » ont donc été effectuées à partir de 15 individus prélevés sur chacun des sites RESCO 2 le 8 mars 2016, date du lancement de la campagne de suivi.

Les nouveaux lots NSI introduits pour les suivis 2016 ont fait l'objet de recherche d'organismes pathogènes au moyen d'analyses diagnostiques de laboratoire avant leur déploiement sur sites (*cf.* section dédiée).

• Données collectées par le réseau et modalités de collecte

1) Calendrier et fréquence d'échantillonnage

Pour la surveillance des mortalités d'huîtres, la fréquence des visites de terrain est définie selon un calendrier programmé à l'avance et commun aux différents sites de RESCO 2. Le calendrier tient compte des périodes « à risque » pour les mortalités identifiées lors des années précédentes, notamment vis-à-vis de l'augmentation des températures de l'eau (Figure 4). En pratique, les suivis s'échelonnent de façon bimensuelle du mois d'avril au mois de septembre, et de façon mensuelle du mois d'octobre au mois de février, afin d'assurer les suivi tout au long de l'année. Ainsi, en 2016, la campagne RESCO s'est faite selon 20 sorties simultanées sur l'ensemble des sites.

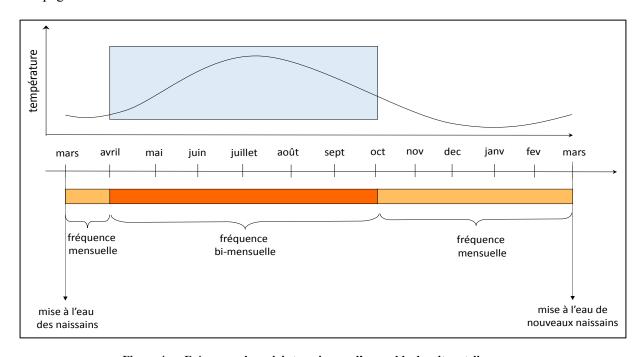


Figure 4. Fréquence des suivis terrains sur l'ensemble des sites ateliers

13

⁷ Petton, B., Boudry, P., Alunno-Bruscia, M., Pernet, F. (2015). Factors influencing disease-induced mortality of Pacific oysters Crassostrea gigas. *Aquaculture Environment Interactions*, 6(3), 205-222

Pour la surveillance du parasite exotique *Mikrocytos mackini*, des visites hebdomadaires du site de Loix-en-Ré, identifié en 2014 comme étant un site à risque vis-à-vis de l'installation de *Mikrocytos mackini* s'il était introduit, ont été réalisées. La période à risque identifiée en 2014 étant de mi-mars à mi-avril, les visites ont été programmées les 14 mars, 22 mars, 5 avril et 11 avril 2016.

Les animaux faisant l'objet du suivi sont les huîtres de 30 mois car les adultes sont particulièrement sensibles à une infestation par ce parasite.

2) Données collectées

• Taux de mortalité

Lors de chaque passage sur site, les poches contenant les différents lots sont vidées précautionneusement dans un panier de comptage grillagé. Les individus sont examinés visuellement puis triés selon leur statut : morts, moribonds ou vivants (Figure 5).

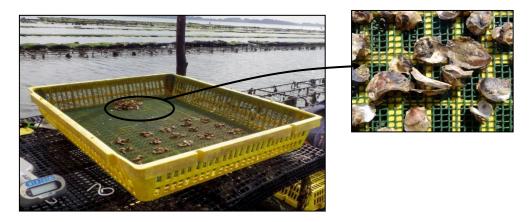


Figure 5. Comptage des individus morts et vivants sur un site-atelier RESCO 2

Les individus moribonds ou morts (correspondant à des animaux baillant ou à des coquilles vides) et les individus vivants sont alors dénombrés sur l'ensemble des 3 poches « comptages » de chacun des lots. Les individus moribonds sont comptabilisés comme des individus morts. Au final, les nombres relevés d'individus morts et d'individus vivants permettent de déterminer, en triplicat pour chaque lot, les taux de mortalité suivants :

- le taux de mortalité instantanée (MI), constaté au temps t :

Mortalité instantanée (t) =
$$\frac{Nombre mortes}{Nombre mortes} + Nombre vivantes$$
 (t) = MI (t)

- le taux de mortalité cumulée (MC) au temps t :

Mortalité cumulée
$$(t) = 1 - [(1 - MC_{(t-1)}) \times (1 - MI_{(t)})] = MC_{(t)}$$

• Données environnementales

La totalité des sites ateliers est instrumentée de façon à suivre l'évolution de certains paramètres du milieu environnant. Ainsi, des données de température, salinité et pression sont acquises par le biais de sondes de mesure haute fréquence de type STPS (NKE Instrumentation) sur l'ensemble des sites. Ces sondes dites « crayon » sont positionnées à l'intérieur même des poches de suivis et effectuent les mesures des 3 paramètres toutes les 15 minutes (Figure 6). Les données enregistrées par ces sondes sont extraites avec un logiciel dédié (WinMemoII) et associées dans la base de données Quadrige de façon mensuelle ou bimensuelle, avec une rotation de sondes à chaque visite terrain.





Figure 7. Rapport de Température et Salinité envoyé mensuellement à l'ensemble des correspondants pour vérifier la qualité des données générées par les différents capteurs

• Prélèvements d'huîtres en cas de mortalité observée

Sur chacun des sites et sur chaque lot, les individus moribonds sont dénombrés à chaque visite. Une huître moribonde est définie comme un animal bâillant se refermant avec difficulté après sollicitation de la valve. Une huître morte est un animal bâillant ne se refermant pas après sollicitation, un animal ouvert en décomposition ou une coquille vide.

Les prélèvements sont réalisés lorsqu'au minimum 6 huîtres moribondes pour une classe d'âge donnée, sur une ou sur toutes les poches, étaient détectées afin d'être envoyés vers les laboratoires agréés pour la réalisation d'analyses diagnostiques.

Les échantillons prélevés sont placés à 4°C si l'envoi ne peut pas être effectué dans la journée. Si le prélèvement est effectué un vendredi, les échantillons sont également placés à 4°C pendant le weekend et programmés pour un envoi le lundi. Dans aucun cas, les prélèvements ne sont placés au congélateur.

Des instructions ont été rédigées afin d'aider les correspondants à réaliser, puis expédier les prélèvements aux laboratoires agréés en charge des analyses diagnostiques. Elles sont disponibles sur le site intranet dédié au réseau RESCO 2, accessibles à tous les correspondants.

• Prélèvements d'huîtres pour le dépistage d'un organisme pathogène exotique (Mikrocytos mackini)

Durant un mois (de mi-mars à mi-avril 2016), sur le site de Loix-en-Ré, les correspondants du site ont prélevé aléatoirement 13 individus vivants dans chacune des 3 poches contenant le lot sentinelle 30 mois. Chaque semaine, les 39 échantillons ont été envoyés, selon les mêmes modalités que le paragraphe ci-dessus, à un laboratoire d'histologie agréé, afin de rechercher le parasite *Mikrocytos mackini*.

• Gestion et traitement des données collectées par le réseau

L'ensemble des données acquises lors de chaque sortie (poids, taille, taux de mortalité) programmée dans le cadre du réseau RESCO 2 est saisi, dans la semaine du passage, par les différents laboratoires préleveurs dans la base de données Quadrige², et sont ainsi mis à disposition des différents utilisateurs. Les résultats sont exploités de façon bimensuelle de mai à septembre et de façon mensuelle d'avril à décembre, à partir des résultats extraits de la base de données. Afin de faciliter la gestion de ces données, des programmes informatiques sous le logiciel libre R (R Core Team, 2016) ont été développés afin de générer automatiquement les tableaux et, pour chaque site, les courbes de croissance, de mortalité cumulée, de mortalité instantanée, de température et de salinité. Cela permet, entre autres, d'effectuer un contrôle quotidien de la cohérence des différentes données saisies avant diffusion.

En ce qui concerne la collecte des résultats d'analyses diagnostiques de laboratoire réalisées sur les échantillons d'huîtres creuses prélevés, les laboratoires agréés en charge des analyses envoient les résultats par courrier électronique et sous format papier à la cellule de coordination RESCO 2. L'ensemble des résultats acquis sur les différents sites et pour les différents lots est ensuite compilé par la cellule de coordination RESCO 2 qui les transmet au groupe COSMO (Figure 8).

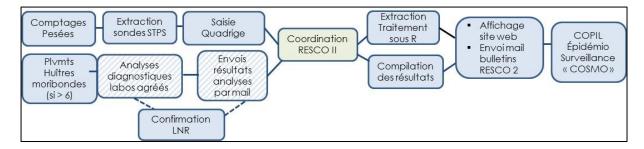


Figure 8. Modalités de fonctionnement du réseau RESCO 2 pour l'acheminement des données

1.3.3. Le réseau MYTILOBS 2

• Localisation des sites ateliers du réseau

En 2016, les sites suivis par le réseau étaient au nombre de 9, déployés sur des zones de production mytilicole de la façade atlantique, de la Manche et de la Mer du Nord. Au sud, 5 sites sont répartis dans la zone des Pertuis charentais : Boyard et Yves dans le Pertuis d'Antioche et Aiguillon, Filière et Roulière dans le Pertuis Breton (Figure 9). Au nord, le site de Pont-Mahé est situé en Baie de Vilaine, le site du Vivier en Baie du Mont Saint-Michel et le site d'Agon sur la côte ouest du Cotentin. Pour la première fois, le site de Maison-Blanche, situé en Baie de Bourgneuf a été suivi au cours de la campagne d'observation 2015-2016 (Figure 9).

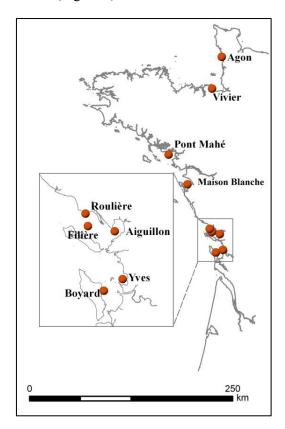


Figure 9. Localisation géographique des sites ateliers du réseau MYTILOBS 2

Tous ces sites sont situés dans des secteurs où se pratique l'élevage sur bouchot, à l'exception du site Filière qui se trouve sur une filière de pleine eau. Dans la mesure du possible, les pieux de bouchot équipés ont été choisis en essayant de minimiser les différences inter-sites pour le temps d'émersion qui conditionne notamment l'accès à la nourriture des individus (Tableau 1).

Tableau 1. Caractéristiques des sites suivis par le réseau MYTILOBS 2

Secteur	Latitude	Longitude	Elevage	Proportion du temps passé en immersion (en %)	Hauteur d'eau max. (en m)	Accès
Agon	48,993	-1,598	Bouchot	80,4	11,17	4x4
Le Vivier	48,648	-1,722	Bouchot	90,7	12,16	Bateau
Pont-Mahé	47,438	-2,476	Bouchot	79,4	5,49	Bateau
Maison Blanche	46,996	-2,201	Bouchot	87,3	5,35	A pied
Filière	46,281	-1,370	Filière	100	8,26	Bateau
Yves	46,017	-1,060	Bouchot	81,6	5,49	Bateau
Aiguillon	46,263	-1,221	Bouchot	80,2	5,23	Bateau
Roulière	46,201	-1,214	Bouchot	76,1	5,03	Bateau
Boyard	45,572	-1,131	Bouchot	58,0	4,53	Bateau

Pour chacun des sites, de un à trois correspondants (titulaires et suppléants) sont identifiés (Annexe 2). L'ensemble des correspondants est donc réparti sur 6 implantations différentes. La coordination nationale du réseau MYTILOBS 2 est opérée à partir du LER-N à Port-en-Bessin.

• Population surveillée par le réseau

Le naissain de moule utilisé pour la campagne 2015-2016 du réseau provenait d'un captage sur corde des pertuis charentais, et prégrossi sur pieu avant son déploiement dans le cadre du MYTILOBS 2. Les individus ont d'abord été calibrés manuellement entre 2 et 3 cm au début du mois de septembre 2015 et un sous-échantillon de 50 individus a fait l'objet d'une biométrie, de mesures de la largeur et de l'épaisseur, et d'analyses diagnostiques de laboratoire (*cf.* section dédiée) pour obtenir une première série d'informations qualifiant son état physiologique et sanitaire lors de son déploiement.

Le naissain a ensuite été réparti dans des poches confectionnées à partir de poches ostréicoles et contenant chacune n= 120 individus, avant d'être expédié dans chacun des sites à raison de 15 poches minimum par site (13 pour un suivi mensualisé de décembre 2015 à décembre 2016 et 2 poches de réserve). Les poches ont ensuite été fixées à des pieux ou sur une descente de filière.

• Données collectées par le réseau et modalités de collecte

1) Calendrier et fréquence d'échantillonnage

La mise à l'eau s'est effectuée en septembre 2015, année de captage du lot sentinelle. Le suivi du lot sentinelle a été poursuivi sur une période de 15 mois, de septembre 2015 à décembre 2016, selon une fréquence mensuelle.

2) Données collectées

• Taux de mortalité

Le calcul des proportions de mortalité entre 2 passages (parfois appelées « mortalités instantanées ») et depuis la mise à l'eau du cheptel (« mortalité cumulée ») a nécessité un traitement différentiel selon que le site était affecté par une mortalité liée à un prédateur déterminé, ou pas. Pour la station d'Agon en effet, la prédation par les bigorneaux perceurs de l'espèce *Nucella lapillus* entraîne tous les ans de fortes mortalités (Figure 10). Le mode de calcul des proportions de mortalité a donc été adapté pour ce site afin de ne représenter que les mortalités liées à une cause autre que la prédation par les gastéropodes.

Lors de chaque passage sur chacun des sites, les dénombrements ont été effectués de la manière suivante : chaque poche a été décrochée, nettoyée du fouling⁸, et son contenu a été transféré dans une bassine pour permettre le comptage. Les individus vivants par poche ont ensuite été comptés. Pour le site d'Agon et pour chaque poche, le nombre de paires de valves vides ne montrant aucune perforation a également été déterminé, ainsi que le nombre de paires de valves vides montrant au moins une perforation liée à l'action des perceurs.

⁸ Bio-salissures liées au développement d'organismes sessiles, fixés sur la poche. Exemples : éponges, cirripèdes, etc.



Figure 10. Valves de moules montrant une perforation causée par Nucella lapillus. Crédit photo : J. Normand, Ifremer.

Cas des sites sans prédation

Pour tous les sites à l'exception d'Agon, la proportion de mortalité entre 2 passages consécutifs (1 mois d'intervalle) a été estimée selon la formule suivante :

$$p(x)_n = (V_{n-1} - V_n) / V_{n-1}$$

Proportion de mortalité entre le passage *n* et le passage *n-1* avec

 V_n : V_{n-1} : Nombre moyen d'individus vivants par poche au passage n Nombre moyen d'individus vivants par poche au passage *n-1*

La proportion de mortalité enregistrée entre le passage, et la mise à l'eau a été estimée par la formule suivante:

$$P(x)_n = (120 - V_n) / 120$$

avec Proportion de mortalité depuis la mise à l'eau du cheptel au passage n

> Nombre moven d'individus vivants par poche au passage n Nombre moven d'individus vivants par poche au passage *n-1*

Cas du site d'Agon

Pour le site d'Agon, la proportion de mortalité entre 2 passages consécutifs (1 mois d'intervalle) a été estimée telle que :

$$p(x)_n = V_n / (V_n + M_n - MP_n)$$

Proportion de mortalité entre le passage *n* et le passage *n-1* avec

 V_n : M_n : Nombre moyen d'individus vivants par poche au passage n

Nombre moyen d'individus morts de causes autres que la prédation par poche au

passage *n* (paire de valves vides ne présentant pas de perforation)

 MP_n : Nombre moyen d'individus morts de prédation par les bigorneaux perceurs par

poche au passage *n* (paire de valves vides présentant au moins une perforation)

La proportion de mortalité enregistrée entre le passage, et la mise à l'eau a été estimée par la formule suivante:

$$P(x)_n = 1 - \int (1 - P(x)_{n-1}) x (1 - p(x)_n)$$

avec $P(x)_n$: Proportion de mortalité depuis la mise à l'eau du cheptel au passage n

> Proportion de mortalité depuis la mise à l'eau du cheptel au passage *n-1* $P(x)_{n-1}$

Proportion de mortalité entre le passage *n* et le passage *n-1* $p(x)_n$:

Les proportions de mortalités sont toujours en exprimées en pourcentages de l'effectif total considéré.

• Prélèvements de moules en cas de mortalité observée

Des prélèvements d'animaux moribonds ont été réalisés pour chaque site et à chaque hausse de mortalité, lorsqu'un nombre supérieur à 7 moules moribondes était disponible dans les poches. Les animaux prélevés ont alors été transportés dans une glacière jusqu'au laboratoire.

Le coordinateur du réseau REPAMO 2 a été averti à chaque fois qu'un prélèvement devait être réalisé afin d'orienter l'expédition des prélèvements de moules vers les laboratoires adéquats en vue de la réalisation d'analyses diagnostiques. Une information vers les DDTM a été faite *a posteriori*.

• Gestion et traitement des données collectées par le réseau

A l'exception des analyses diagnostiques de laboratoires, les données acquises depuis 2012, et au cours de la campagne 2015-2016 ont été centralisées par le coordinateur du réseau MYTILOBS 2 dans une table de données Microsoft Excel©. La structuration adoptée pour la bancarisation de ces données a été choisie en prenant pour modèle celle utilisée pour le stockage des données issues des autres réseaux d'observation conchylicole, en prévision de leur intégration future à la base de données nationale Quadrige2.

Des programmes informatiques ont été développés sous l'environnement logiciel gratuit R (R Core Team, 2016) et permettent aujourd'hui le calcul automatisé, à fréquence mensuelle, des taux de mortalité par site ainsi que la production de tableau synthétique et graphique.

Les laboratoires d'analyses agréés ont envoyé directement leur(s) rapport(s) analytique(s) sous format électronique à l'adresse générique <u>corepamo@listes.ifremer.fr</u>. Les résultats des analyses réalisées par le LNR ont fait l'objet d'un rapport analytique transmis au coordonnateur du réseau MYTILOBS 2.

1.3.4. Le réseau REPAMO 2

• Localisation des sites d'intervention du réseau

Le REPAMO 2 surveille l'état de la santé des mollusques marins sur tout le littoral français métropolitain. Depuis 2015, le découpage du littoral français métropolitain en Zones d'Intervention REPAMO (ZIR) décrit par la NS DGAL/SDSPA/N2011-8147 relative au constat de surmortalité de coquillages – Procédure à suivre lors de hausse de la mortalité d'huîtres creuses, n'est plus en vigueur.

Le réseau REPAMO 2 répond aux saisines émises par l'autorité compétente, les DDTM, en réalisant des prélèvements et en recueillant les commémoratifs. En général, REPAMO 2 intervient pour répondre à une saisine concernant un site de production conchylicole particulier (élevage ou gisement), pour une espèce et une classe d'âge données. Plusieurs interventions REPAMO 2 peuvent être réalisées pour un même site et une même espèce, d'une classe d'âge similaire si le coordinateur et la DGAL estiment nécessaire/intéressant d'investiguer de nouveau ce couple site/espèce.

La coordination du réseau REPAMO 2 est localisée au LGPMM à La Tremblade. Le réseau REPAMO 2 compte dix correspondants titulaires et neuf correspondants suppléants qui représentent le réseau sur le terrain et localement. La liste des correspondants est disponible dans l'annexe 2.

• Population surveillée par le réseau

Le réseau REPAMO 2 surveille la santé de tous les mollusques marins français d'intérêt qu'ils soient issus de gisements ou d'élevage. Depuis 2015, REPAMO 2 n'intervient plus directement pour les saisines concernant les moules bleues et les huîtres creuses, sauf exception (*cf.* section 1.4 Fonctionnement du dispositif).

• Données collectées par le réseau et modalités de collecte

Le réseau REPAMO 2 focalise ses activités sur les phénomènes de hausses de mortalités anormalement élevées définis comme « un accroissement inexpliqué et significatif de la mortalité audelà du niveau considéré comme normal pour la ferme aquacole ou la zone d'élevage de mollusques concernés dans les conditions habituelles [...] » par l'article 3 de l'arrêté du 4 novembre 2008.

Pour tout prélèvement, le recueil des informations de terrain ou commémoratifs (historique, zootechnie, données environnementales, typologie des mortalités...) est assuré par les correspondants à l'aide de questionnaires E.D.E.0.02. Des instructions ont été rédigées afin d'aider les correspondants à renseigner au mieux ces fiches d'information (I.D.E.0.03) et à réaliser, puis expédier les prélèvements (I.D.E.0.01 et I.D.E. 0.02).

• Gestion et traitement des données collectées par le réseau

Les renseignements notés sur les questionnaires sont enregistrés par le coordinateur dans la base de données REPAMO. L'accès à cette base de données est restreint aux acteurs du réseau (correspondants, coordinateur du réseau) et à l'unité technique du LGPMM. Des sorties sous Excel, Word et Acrobat sont possibles et certaines extractions sont automatisées.

Les résultats des analyses réalisées par le LNR ont fait l'objet d'un rapport analytique transmis au coordonnateur du réseau. Les laboratoires d'analyses agréés envoient directement leur(s) rapport(s) analytique(s) sous format électronique à l'adresse générique <u>corepamo@listes.ifremer.fr</u>.

1.4. Fonctionnement du dispositif de surveillance

Pour détecter précocement les infections dues à des organismes pathogènes émergents affectant les mollusques marins sauvages et d'élevage, une surveillance événementielle des mortalités de coquillages est mise en place. Le fonctionnement du dispositif national de surveillance des mortalités de mollusques marins est défini par la note de service DGAL/SDSPA/2015-350 du 14 mai 2015 relative à l'évolution de la surveillance de la mortalité des mollusques : dispositif mis en œuvre en 2015, année de transition. Le fonctionnement diffère selon les espèces de mollusques marins considérées (Figure 11).

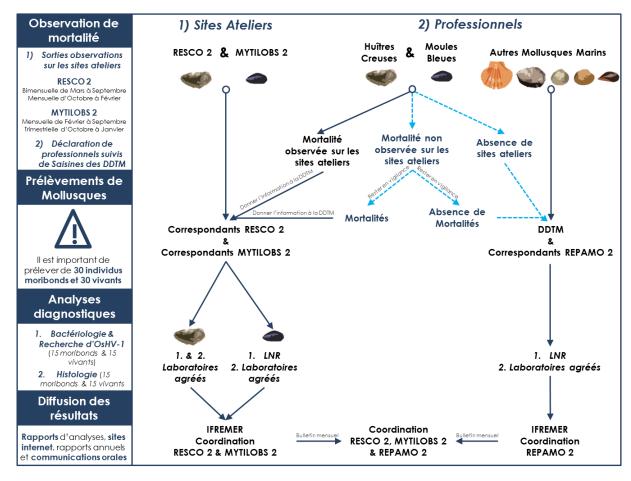


Figure 11. Schéma récapitulatif de la surveillance des mortalités mise en œuvre pour les mollusques marins depuis 2015

Pour les huîtres creuses et les moules bleues, la surveillance des mortalités s'appuie sur un suivi régulier de la mortalité d'individus sentinelles déployés sur des sites ateliers de réseaux Ifremer, RESCO 2 pour l'huître et MYTILOBS 2 pour la moule. Pour les autres espèces de mollusques marins, la surveillance événementielle des mortalités s'appuie sur l'observation de mortalités de mollusques déclarés par les conchyliculteurs ou les pêcheurs professionnels aux services déconcentrés de l'Etat, les DDTM. En cas de déclaration de mortalités d'huîtres creuses ou de moules par les conchyliculteurs/pêcheurs professionnels, si des mortalités de coquillages sont observées sur le site atelier du réseau Ifremer correspondant, les résultats des analyses diagnostiques de laboratoire réalisées sur les prélèvements d'animaux sentinelles du réseau seront généralisés à l'ensemble de la population de coquillages de la même espèce, élevées ou pêchées, présente autour du site atelier. En l'absence de mortalité observée sur le site atelier du réseau Ifremer, la DDTM pourra procéder, en DGAL, à des prélèvements coquillages conchyliculteurs/professionnels déclarants, en vue d'analyses diagnostiques de laboratoire.

Pour détecter précocement les infections dues à des organismes pathogènes exotiques affectant les mollusques marins sauvages et d'élevage, un exercice de démonstration de surveillance programmée, ciblée sur le parasite *Mikrocytos mackini* et fondée sur le risque d'introduction et d'installation du parasite chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*.

Depuis 2015, cette stratégie de surveillance ciblée et fondée sur les risques consiste en une étude de démonstration sur le site atelier de Loix-en-Ré du réseau RESCO 2 de mi-mars à mi-avril. Une recherche régulière du parasite *Mikrocytos mackini* chez des huîtres sentinelles déployées a ainsi été réalisée.

1.5. Analyse et interprétation des données de surveillance

La surveillance épidémiologique fait partie de l'épidémiologie descriptive ; son objectif n'est pas d'expliquer les phénomènes, mais de les décrire le plus précisément possible.

Les indicateurs épidémiologiques utilisés sont le pourcentage de mortalité et la détection d'organismes pathogènes réglementés ou d'intérêt national. **L'unité de calcul est le lot de mollusques marins**. La moyenne du pourcentage de mortalité est calculée par espèce de mollusque et par classe d'âge au sein d'une même espèce et par site atelier dans le cas des réseaux RESCO 2 et MYTILOBS 2. La fréquence de détection des organismes pathogènes est calculée par espèce de mollusques et par classe d'âge au sein d'une même espèce.

Cependant, l'estimation des mortalités de mollusques marins sur des gisements naturels ou certaines structures d'élevage (e.g. bouchots ou filières) est limitée. En effet, il est possible de retrouver seulement des valves de mollusques (séparées ou encore attachées pour les bivalves), sans être en mesure de dater l'événement de mortalité. De plus, les animaux morts peuvent être emportés par les courants marins et ne sont plus visibles pour les estimations. L'absence de connaissance précise de la quantité d'animaux initialement présents (estimation des stocks ou animaux mis en élevage) limite également la précision des estimations de pourcentage de mortalité. Au mieux, un ordre de grandeur peut être annoncé. Enfin, la très grande taille des populations de coquillages oblige à réaliser des observations sur un échantillon d'individus. Les critères de choix de ces individus, à partir desquels les estimations seront généralisées, ne sont pas aisés à standardiser. Les estimations peuvent donc être entachées par un biais de sélection.

1.6. Diffusion de l'information

1.6.1. Information liée au fonctionnement du dispositif de surveillance

Un site intranet à l'adresse : http://w3z.ifremer.fr/repamo donne accès à l'application destinée aux extractions et éditions des données saisies dans la base de données REPAMO. Il permet également l'accès aux informations régissant le fonctionnement du dispositif de surveillance événementielle des mortalités de mollusques marins : fiche de prélèvement, fiche mortalité, comptes rendus de réunions, documents de formation.

Un site internet à l'adresse : http://wwz.ifremer.fr/sante_mollusques présente le dispositif de surveillance de la santé des mollusques marins, ses activités (réseaux de surveillance), ses productions (rapports annuels, fiches de synthèse sur les organismes pathogènes), les études scientifiques spécifiques appuyant ses évolutions. Un site internet dédié au réseau RESCO 2 à l'adresse : http://wwz.ifremer.fr/observatoire_conchylicole présente les informations relatives au réseau, aux sites étudiés, au protocole mis en place, et aux différentes actualités liées à la problématique.

Une adresse de messagerie électronique partagée <u>corepamo@listes.ifremer.fr</u> a été créée en 2012. Cette adresse permet de joindre et d'échanger avec le groupe de coordination Ifremer COSMO. Elle est destinée à recevoir les demandes d'informations adressées au groupe COSMO émanant des acteurs de la surveillance de la santé des mollusques marins (correspondants terrain, responsable de la base REPAMO) et les demandes d'actions émanant des représentants de l'administration telles que l'envoi de saisine par les DDTM lors de mortalité de coquillages.

Une liste électronique <u>infosantemollusques@listes.ifremer.fr</u> a été créée en 2013 et comprend les adresses électroniques de tous les acteurs de la surveillance de la santé des mollusques marins, *i.e.* les représentants de la DGAL, de la DPMA et des DDTM, du CNC et des CRC, des CN/R/DPMEM, des laboratoires agréés, des centres techniques et de la plateforme nationale ESA. Cette liste est utilisée par le coordinateur REPAMO 2 pour la communication d'alertes en cas de mortalités de coquillages, ainsi que de synthèses mensuelles des résultats d'interventions réalisées pour toutes les espèces de coquillages.

1.6.2. Système d'alerte en cas de hausse de mortalité

Des informations 'infomortalité' sont adressées par le coordinateur du réseau REPAMO 2 sous forme de messages électroniques dès lors qu'une hausse de mortalité est déclarée sur une espèce de coquillages, à la liste électronique <u>infosantemollusques@listes.ifremer.fr</u>. Ces informations contiennent le pourcentage de mortalité estimé, le lieu, l'espèce et la classe d'âge de coquillages concernés par la hausse de mortalité.

1.6.3. Résultats des interventions réalisées

Lors de hausse de mortalité, le coordinateur du réseau REPAMO 2 transmet à l'autorité compétente un avis pour chaque intervention du dispositif de surveillance effective conduisant à la réalisation d'un ou plusieurs prélèvement(s) en vue d'analyses diagnostiques de laboratoire. Cet avis reprend les principaux commémoratifs et explicite les résultats de(s) rapport(s) analytique(s) individuel(s). Une copie de ces résultats est adressée au correspondant LER du réseau concerné sous couvert de son responsable de laboratoire. Dans le cas où un agent réglementé est détecté, le LNR en informe immédiatement la DGAL. Le professionnel concerné par la hausse de mortalité reçoit les résultats par la représentation locale de l'autorité compétente (DDTM).

Un bulletin de synthèse bimensuel concernant la surveillance programmée des mortalités d'huîtres creuses est édité par le coordinateur du réseau RESCO 2. Ce bulletin détaille l'évolution des taux de mortalité par site atelier et par classe d'âge. Il est adressé sous forme de message électronique à l'ensemble des correspondants RESCO 2, les chefs de laboratoire et unités rattachés, ainsi qu'à la cellule de coordination COSMO qui centralise l'ensemble des résultats obtenus pour les trois réseaux. Le site internet dédié au réseau RESCO 2 à l'adresse : http://wwz.ifremer.fr/observatoire_conchylicole offre un accès aux courbes des résultats (mortalité, croissance, température) pour l'année en cours et pour les années antérieures, l'affichage des résultats des analyses diagnostiques lorsque des prélèvements ont été effectués.

Un bulletin de synthèse mensuel concernant la surveillance programmée des mortalités de moules bleues est édité par le coordinateur du réseau MYTILOBS 2. Ce bulletin détaille l'évolution des taux de mortalité par site atelier. Il est adressé sous forme de message électronique à l'ensemble des correspondants LER MYTILOBS 2, les chefs de laboratoire et unités rattachés, les DDTM17, 22, 29, 35,44, 56, 85, les centres techniques, les représentants de la profession mytilicoles, ainsi qu'à la cellule de coordination COSMO qui centralise l'ensemble des résultats obtenus pour les trois réseaux.

Un bulletin de synthèse mensuel non nominatif et concernant toutes les espèces de mollusques marins surveillées est édité par le groupe COSMO. Ce bulletin détaille les résultats des suivis de mortalité, des analyses diagnostiques de laboratoire réalisées sur les prélèvements de mollusques effectués lors de hausse de mortalité, ainsi que les résultats de la surveillance ciblée sur *Mikrocytos mackini*. Il est adressé sous forme de messages électroniques à tous les acteurs de la surveillance au moyen de la liste électronique de diffusion <u>infosantemollusques@listes.ifremer.fr</u>.

Un rapport annuel synthétisant les principaux résultats du dispositif de surveillance est distribué auprès des différents partenaires du réseau. Ce rapport est disponible sur le site internet du dispositif de surveillance pour les correspondants LER, les responsables de laboratoires LER/LGPMM, d'unités et de départements Ifremer concernés. Après accord de diffusion par la DGAL, des éditions papier de ce rapport sont distribuées à la DGAL et une version électronique est déposée sur le site internet du dispositif de surveillance de la santé des mollusques marins ainsi que sur le site du réseau RESCO 2.

Des journées biennales de la santé des mollusques marins rassemblent tous les acteurs de la santé des mollusques marins et présentent le bilan de l'année ainsi que les évolutions réglementaires, scientifiques ou techniques en lien avec la surveillance de la santé des mollusques. Le bilan des activités de l'année 2016 sera présenté en fin d'année 2017.

Chaque année, les données, souches bactériennes, spécimens de virus ou parasitaires, collectés dans le cadre du dispositif national de surveillance de la santé des mollusques marins sont valorisés à travers des publications scientifiques. Pour 2016, la liste de ces valorisations est disponible à l'annexe 4.

2. Résultats de la surveillance planifiée des mortalités et des maladies des huîtres creuses réalisée par le réseau RESCO 2

2.1. Surveillance planifiée des mortalités d'huîtres creuses

2.1.1. Mortalités observées

Les mortalités observées sur les sites ateliers du réseau RESCO 2 en 2016 ont mis en évidence des vagues de mortalités sur le lot naissain NSI déployé simultanément sur l'ensemble des sites. En ce qui concerne les lots sentinelles de 18 mois et 30 mois, il n'a pas été détecté sur ces sites de hausse significative de mortalité, mais une augmentation lente et progressive des taux de mortalité a été observée.

Plus précisément, en ce qui concerne le lot de naissain NSI, la figure 12 met en évidence que les hausses significatives de mortalité ont débuté vers la fin du mois de mai, sur plusieurs sites simultanément (Marseillan, Tes, Agnas, Loix-en-Ré et Pénerf). Les mortalités se sont ensuite poursuivies jusqu'à la fin du mois de juin sur les autres sites situés plus au Nord.

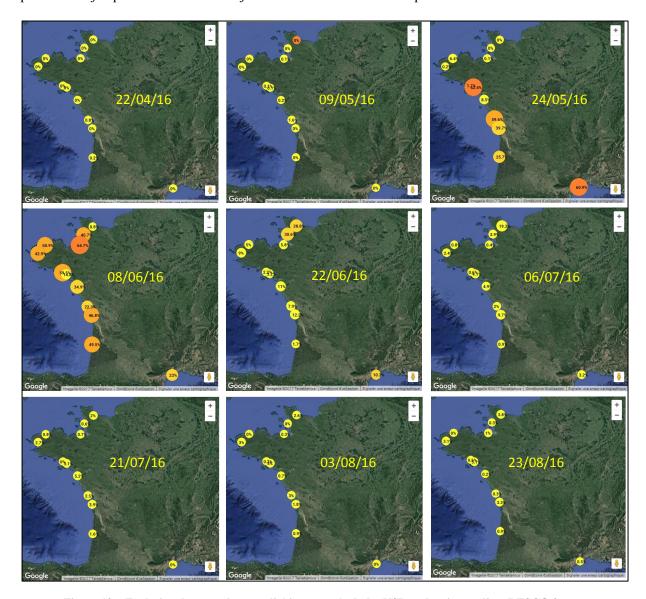


Figure 12. Evolution des taux de mortalité instantanée du lot NSI sur les sites ateliers RESCO 2 en 2016

Au final, les moyennes des taux de mortalité sur les différents sites ateliers à la fin de suivis (février 2017) sont de $67,5\% \pm 7,9$ pour le NSI, $17,3\% \pm 18,5$ pour les lots 18 mois, et $11,1\% \pm 11,4$ pour les lots de 30 mois (Tableau 2). Ces résultats indiquent donc des différences significatives de taux de mortalité entre le lot de naissain d'une part, et les lots 18 mois et 30 mois d'autre part. Cependant, il est à noter que les taux de mortalité cumulée finaux pour les lots adultes (18 mois et 30 mois) sont significativement plus élevés sur certains sites, par rapport à la moyenne nationale : c'est le cas des sites de Géfosse, Pointe du Château, Pénerf et d'Agnas, pour lesquels des taux de mortalité cumulés supérieurs à 20% sont observés.

Tableau 2. Taux de mortalité cumulée (MC) des différents lots sentinelles d'huîtres sur les sites RESCO 2 en février 2016

SEMAINE P4_S06	du 13	3 au 19 Février	2017						
Lieux	Naissain Standardisé Ifremer		18 Mois (ex-NSI)		30 Mois (ex-18 mois)				
	Moyenne	Ecart-type	Tendance	Moyenne	Ecart-type	Tendance	Moyenne	Ecart-type	Tendance
Géfosse	56.4	2.1	•	68.1	12.9	•	39.6	8.9	•
Blainville nord	62.5	2.3	•	1.9	1.2	•	2.2	1.1	•
Cancale - Terrelabouet	68.3	3.5	•	3.5	1.1	•	2.2	1.1	•
Morlaix - Pen al Lann	58.0	1.5	•	9.2	2.2	•	1.9	1.7	•
Pointe du Château	60.2	4.5	•	24.8	6.4	•	23.3	12.6	•
Larmor-Baden	62.1	2.9	•	4.3	1.3	•	6.0	2.7	•
Pénerf - Rouvran	75.6	2.1	•	27.2	5.2	•	13.3	7.6	•
Coupelasse	69.0	3.6	•	8.1	2.4	•	4.4	2.9	٨
Loix-en-Ré	76.9	3.7	•	14.8	8.2	•	8.2	5.0	٨
D'Agnas	77.9	1.8	•	26.5	6.4	•	20.0	7.6	•
Le Tes	65.6	2.5	•	3.7	2.5	•	3.4	2.0	•
Marseillan est	76.9	4.9	•	15.1	3.3	>	8.2	5.5	•
Moyenne nationale	67.5			17.3			11.1		
Ecart-type	7.9			18.5			11.4		

Le détail des taux de mortalité cumulée finaux obtenus sur les sites ateliers pour les 3 classes d'âge met ainsi en évidence que le site de Géfosse situé en Baie des Veys a été particulièrement affecté par les mortalités en 2016, et ce sur l'ensemble des lots suivis (Figure 13). C'est aussi le cas pour les sites de Pointe du Château (Rade Brest), et D'Agnas (Marennes Oléron), qui présentent des taux de mortalité plus élevés que la moyenne nationale sur les lots adultes 18 et 30 mois. A l'inverse, certains sites tels que Blainville (côte ouest Cotentin) ou le Tes (Arcachon) présentent des taux de mortalité inférieurs à 5% pour les lots adultes, avec cependant des mortalités significatives observées sur les lots de naissains (supérieures à 60%). Ces résultats continuent donc de refléter d'une part, que les tendances de mortalité observées sur un site pour une classe d'âge donnée ne sont pas extrapolables à la classe d'âge supérieure, et d'autre part, qu'il subsiste de fortes variabilités inter-sites des taux de mortalité observés pour une classe d'âge donnée.

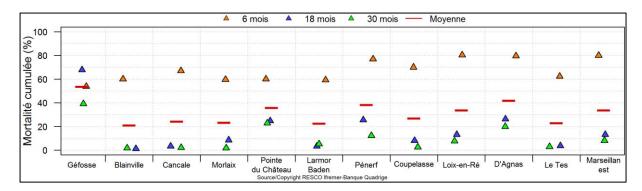


Figure 13. Comparaison des taux de mortalité cumulée finaux des différents lots sentinelles (6 mois NSI, 18 mois et 30 mois) sur l'ensemble des sites ateliers RESCO 2

2.1.2. Détection d'organismes pathogènes

Au total, 11 prélèvements ont pu être effectués sur l'ensemble des lots sentinelles et des sites ateliers du réseau RESCO 2 durant la campagne 2016 (Figure 14). Ces prélèvements concernaient pour 10 cas le lot NSI et pour 1 cas le lot de 18 mois. Il n'y a eu aucun prélèvement réalisé sur le lot de 30 mois dans un contexte de hausse de mortalité. Comme l'année précédente, les correspondants RESCO 2 ont souvent eu du mal à détecter un nombre suffisant d'huîtres moribondes permettant de déclencher les prélèvements. En effet, dans la plupart des cas, les hausses de mortalité étaient déjà établies lors du passage des agents sur site, ne laissant dans les poches de suivi que des individus à coquille vide, ou dans des stades de décomposition avancée, annulant toute possibilité de prélèvement exploitable pour des analyses diagnostiques de laboratoire. Ceci peut expliquer le faible nombre de prélèvements effectués sur l'ensemble des lots sentinelles et des sites ateliers du réseau RESCO 2 sur l'année, notamment sur les lots d'huîtres adultes (18 et 30 mois).



Figure 14. Nombre total de prélèvements effectués en vue d'analyses diagnostiques de laboratoire dans le cadre du RESCO 2 en 2016

• Résultats des analyses diagnostiques initiales des lots sentinelles

Les épreuves thermiques réalisées sur deux bacs contenant chacun 200 individus NSI n'ont généré aucune mortalité au sein des échantillons au cours des 30 jours maintenus à 21°C. Les analyses de recherche d'ADN d'herpès virus OsHV-1 par PCR réalisées avant et après ces épreuves thermiques se sont avérées négatives (Figure 15).

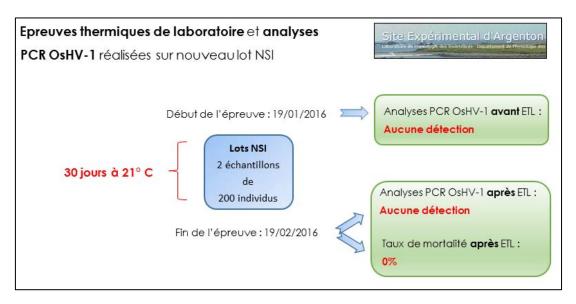


Figure 15. Résultats des tests associés à l'épreuve thermique réalisée sur le lot sentinelle NSI avant le déploiement sur les sites RESCO 2

Aucun organisme pathogène n'a été détecté dans les 30 individus analysés par un laboratoire agréé, afin de rechercher la présence d'organisme pathogène réglementé par histologie.

NB : Un résultat négatif n'exclut pas la présence d'organismes pathogènes en quantité plus faible que le seuil de détection des méthodes diagnostiques utilisées pour les détecter.

• Résultats des analyses diagnostiques réalisées en cas de hausse de mortalité

➤ Pour la classe d'âge 6 mois NSI

Sur la classe d'âge 6 mois, dix prélèvements ont été effectués au cours de la campagne 2016 respectivement sur les sites de Géfosse, Blainville, Pointe du Château, Larmor-Baden, Pénerf, Coupelasse, Loix-en-Ré, D'Agnas, Le Tes et Marseillan (Figure 16).



Figure 16. Répartition géographique des prélèvements réalisés diagnostiques sur le lot 6 mois NSI en vue d'analyses diagnostiques de laboratoire

Le prélèvement d'huîtres réalisé en vue d'analyses diagnostiques de laboratoire est symbolisé par un point rouge dans la figure 17, représentant les taux de mortalité instantanée associés pour chacun des sites. Dans les cas des sites de Géfosse, Blainville, Pointe du Château, Pénerf et Loix-en-Ré, les prélèvements ont été effectués au cycle de marée coïncidant avec le pic le plus élevé de mortalité. Pour les sites de Larmor Baden, Coupelasse, D'Agnas et le Tes, la détection d'un nombre suffisant d'huîtres moribondes s'est faite en amont du pic le plus élevé de mortalité.

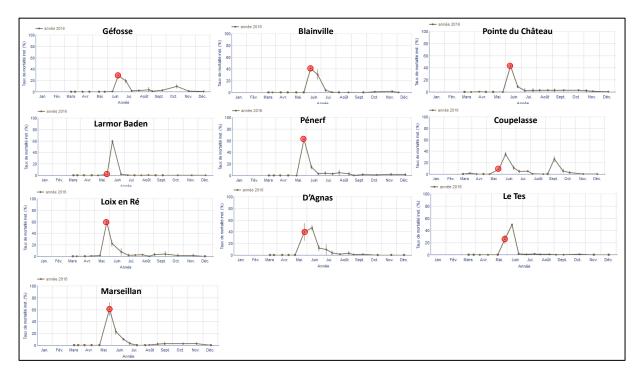


Figure 17. Identification des temps de prélèvements pour analyses diagnostiques de laboratoire réalisés sur le lot 6 mois NSI, en fonction des cinétiques de mortalité

Les résultats obtenus pour chacun des prélèvements sont présentés dans le tableau 3. Aucun organisme pathogène réglementé n'a été détecté dans les échantillons analysés. L'ADN de l'herpès virus OsHV-1 a été détecté dans l'ensemble des prélèvements analysés. La bactérie *Vibrio aestuarianus* n'a pas été détectée. Enfin, les analyses de recherche d'ADN d'OsHV-1 et de bactéries du genre *Vibrio* n'ont pas pu être effectuées pour le prélèvement sur le site de Pénerf, car ce dernier ne présentait pas suffisamment d'individus moribonds.

Tableau 3. Résultats des analyses diagnostiques de laboratoire réalisées sur les prélèvements du lot sentinelle 6 mois NSI dans le cadre du réseau RESCO 2

Secteur	Organismes pathogènes réglementés	OsHV-1	Vibrio aestuarianus	Taux MI
Géfosse	-	+		29 %
Blainville	-	+	-	34 %
Pointe du Château	-	+	-	43 %
Larmor-Baden	-	+	-	2 %
Pénerf	-	NA	NA	62 %
Coupelasse	-	+	-	10 %
Loix-en-Ré	÷	+	*	60 %
D'Agnas	-	+	-	38 %
Le Tes	-	+		26 %
Marseillan	-	+	-	60 %

➤ Pour la classe d'âge 18 mois

Pour la classe d'âge d'huîtres creuses 18 mois, seul un prélèvement a été effectué sur le site de Géfosse, lors de la hausse de mortalité observée sur ce site. Cependant, le passage terrain ayant sûrement été trop tardif par rapport à l'élévation de mortalité sur ce site, très peu d'individus réellement moribonds ont pu être prélevés (Figure 18). L'absence de prélèvement sur les autres sites est liée aux mêmes raisons, et également au fait que, pour cette classe d'âge, la mortalité s'effectue de façon continue tout au long de l'année, sans réelle augmentation nette du taux de mortalité instantanée.



Figure 18. Répartition géographique des prélèvements réalisés diagnostiques sur le lot 18 mois NSI en vue d'analyses diagnostiques de laboratoire

Le prélèvement d'huîtres réalisé en vue d'analyses diagnostiques de laboratoire est symbolisé par un point rouge dans la figure 19, représentant le taux de mortalité instantanée associé pour le site de

Géfosse. Dans les deux cas, les prélèvements d'huîtres moribondes ont été effectués hors d'un contexte de hausse de mortalité importante.

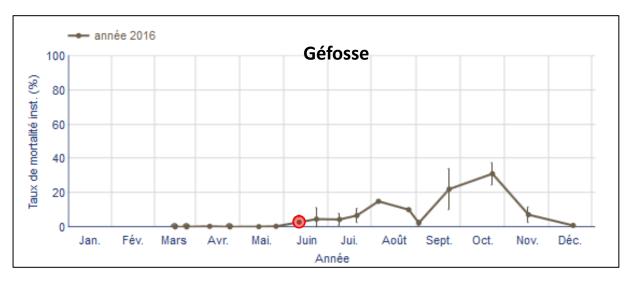


Figure 19. Identification du temps de prélèvement pour analyses diagnostiques de laboratoire réalisés sur le lot 18 mois NSI, en fonction de la cinétique de mortalité

Les résultats obtenus pour chacun des prélèvements sont présentés dans le tableau 4. Compte tenu du faible nombre d'individus moribonds ayant pu être prélevés, seules les analyses histologiques ont pu être réalisées. Ces analyses ont confirmé l'absence d'organisme pathogène réglementé dans les individus analysés.

Tableau 4. Résultats des analyses diagnostiques de laboratoire réalisées sur les prélèvements du lot sentinelle 18 mois NSI dans le cadre du réseau RESCO 2

Secteur	Organismes pathogènes réglementés	OsHV-1	Vibrio aestuarianus	Taux MI
Géfosse	-	NA	NA	2 %

➤ Pour la classe d'âge 30 mois

Pour la classe d'âge d'huîtres creuses 30 mois, aucun prélèvement n'a été effectué lors de la campagne RESCO 2 de 2016 (Figure 20). Tout comme pour la classe d'âge de 18 mois, l'absence de prélèvement n'est pas liée à l'absence de mortalité sur cette classe d'âge (des taux de mortalité cumulée atteignent respectivement 39, 23 et 20% sur les sites de Géfosse, Pointe du Château et D'Agnas respectivement), mais au fait que cette mortalité apparaît de façon progressive et qu'un nombre suffisant d'individus moribonds (>6) n'a jamais pu être détecté simultanément pour réaliser un prélèvement en vue d'analyses diagnostiques de laboratoire.

2.2. Exercice de démonstration de surveillance programmée de Mikrocytos mackini

Les quatre prélèvements programmés d'huîtres de 30 mois réalisés en vue du dépistage du parasite *Mikrocytos mackini* sont symbolisés par un point rouge dans la figure 20, représentant les taux de mortalité instantanée associés pour ce lot sur le site de Loix-en-Ré. Ces prélèvements d'huîtres ont été effectués en dehors d'un contexte de hausse de mortalité importante.

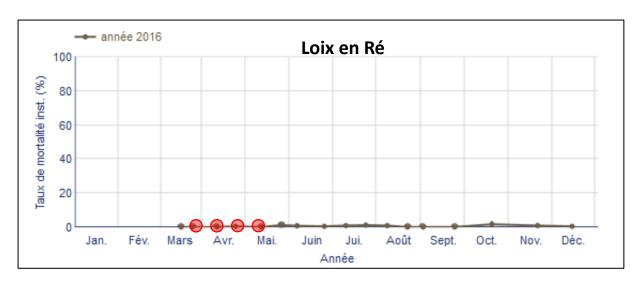


Figure 20. Identification des temps de prélèvements pour les analyses diagnostiques réalisées sur le lot 30 mois, dans le cadre de la surveillance planifiée du parasite *Mikrocytos mackini*, en fonction des cinétiques de mortalité

Les résultats obtenus pour chacun des prélèvements sont présentés dans le tableau 5. Le parasite réglementé *Mikrocytos mackini* n'a pas été détecté dans les échantillons analysés. En revanche, le parasite réglementé *Marteilia refringens* a été détecté dans 3 prélèvements analysés sur 4, en faible proportion (1 à 3 individus positifs sur 40 analysés). Ces résultats ont fait l'objet d'analyses confirmatoires par le LGPMM dans le cadre de ses missions de LNR et ont été signalés à la DGAL.

Tableau 5. Résultats des analyses de laboratoire réalisées pour le dépistage de *Mikrocytos mackini* sur les prélèvements du lot sentinelle 30 mois, site de Loix-en-Ré, mars-avril 2016, dans le cadre du réseau RESCO 2

Date	Bonamia sp.	Marteilia sp.	Mikrocytos sp.	Perkinsus sp.
15 mars 2016	-	+	-	-
23 mars 2016	-	+	-	-
06 avril 2016	-	-	-	-
13 avril 2016	-	+	-	-

NB : Un résultat négatif n'exclut pas la présence d'organismes pathogènes en quantité plus faible que le seuil de détection des méthodes diagnostiques utilisées pour les détecter.

3. Résultats de la surveillance planifiée des mortalités de moules réalisée par le réseau MYTILOBS 2

3.1. Mortalités observées

Les plus fortes mortalités observées au cours de la campagne 2015-2016 l'ont été sur les sites du Pertuis d'Antioche et de la Baie de Bourgneuf (Figure 21.a). Sur le site de Filière, elles atteignaient 85,4% de l'effectif en décembre 2016. Les sites de Roulière, de l'Aiguillon et de Maison Blanche se sont tous classés en 2ème position *ex-aequo* pour l'intensité des mortalités avec des pertes de 84,2% de l'effectif. Ce sont ensuite les sites du Pertuis Breton qui sont apparus les plus touchés avec des mortalités de 60,8% et 49,2% observées respectivement sur les sites de la Baie d'Yves et Boyard. Les mortalités observées sur le site d'Agon se sont avérées relativement élevées également, atteignant 43 % au mois de décembre. Les deux sites les moins affectés par des mortalités mytilicoles se sont avérés être ceux de Pont-Mahé (27,1%) et du Vivier (20,8%) (Figure 21.a).

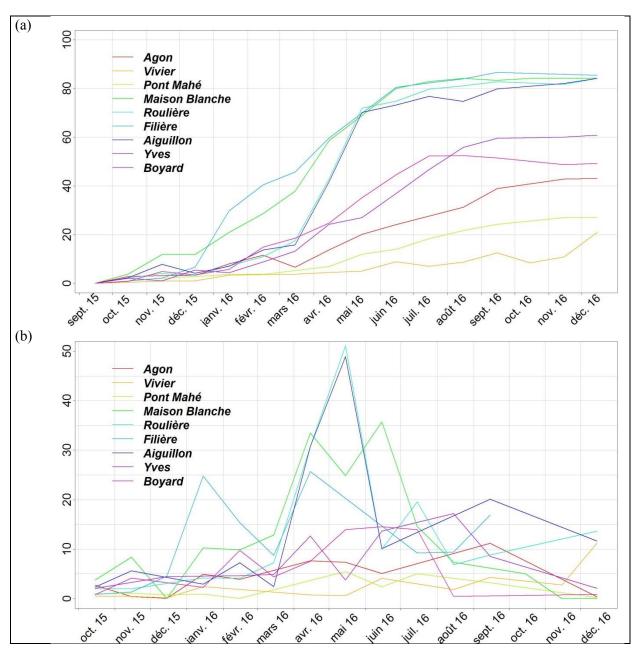


Figure 21. Evolution au cours du temps des proportions de mortalité, exprimées en pourcentage (a) depuis la mise à l'eau et (b) entre 2 passages.

Les mortalités se sont avérées particulièrement précoces pour les sites de Filière et Maison Blanche où des taux de mortalité supérieurs à 10% ont été observés entre les passages de décembre et janvier (Figure 21.b). Pour ces sites, ces taux sont restés supérieurs à 5% jusqu'au comptage effectué en septembre 2016 (Figure 21.b), traduisant les mortalités à bas bruit affectant le cheptel sentinelle sur ces deux sites. Sur les sites de Roulière et de la Baie de l'Aiguillon, les mortalités se sont avérées nettement plus brutales. Entre le passage de mars et celui d'avril, les taux de mortalité estimés ont atteint les 30,8% de l'effectif des animaux sentinelles sur ces deux sites et même dépassé 50% au passage suivant (Figure 21.b). Pour les autres sites, les taux de mortalité ont régulièrement progressé tout au long de la saison.

3.2. Détection d'organismes pathogènes

• Résultats des analyses diagnostiques initiales des lots sentinelles

Aucun organisme pathogène n'a été détecté dans les 30 individus analysés afin de rechercher la présence d'organisme pathogène réglementé, d'herpès virus OsHV-1, de *Vibrio aestuarianus* ni de bactérie du groupe *Splendidus* (Tableau 6).

· Résultats des analyses diagnostiques réalisées en cas de hausse de mortalité

Au total, 5 prélèvements, tous associés à des hausses de mortalité, ont pu être réalisés sur les moules sentinelles déployées dans le réseau. Ces prélèvements ont tous été réalisés en début d'épisode de mortalité, dès le mois de janvier sur le site de Filière, en février à Agon et sur le site de Roulière, et en mars sur les secteurs de la Baie de l'Aiguillon et de Maison Blanche (Tableau 6).

Les résultats obtenus pour chacun des prélèvements sont présentés dans le tableau 6. Les résultats obtenus sont les mêmes pour chacun des prélèvements : aucun organisme pathogène réglementé n'a été détecté dans ces échantillons. Le virus OsHV-1 et la bactérie *Vibrio aestuarianus* n'ont pas non plus été observés (absence de détection d'ADN). Par contre, des bactéries du groupe *Splendidus* ont été détectées dans tous les prélèvements réalisés.

Tableau 6. Résultats des analyses diagnostiques de laboratoire réalisées sur le prélèvement des lots sentinelles de moules dans le cadre du réseau MYTILOBS 2

Site atelier	Date de prélèvement	% de mortalité au moment du prélèvement	Organismes pathogènes réglementés	OsHV- 1	Vibrio aestuarianus	Groupe Splendidus	
Lot à la réception	15/09/15	0 %	-	-	-	-	
Agon	11/02/16	12 %	-	-	-	+	
Vivier			Pas de prélèveme	nt réalisé			
Pont-Mahé			Pas de prélèveme	nt réalisé			
Maison Blanche	09/03/16	38 %	-	-	-	+	
Roulière	22/02/16	11 %	-	-	-	+	
Aiguillon	09/03/16	38 %	-	-	-	+	
Filière	26/01/16	33 %	-	-	-	+	
Boyard		Pas de prélèvement réalisé					
Yves			Pas de prélèveme	nt réalisé			

NB1: Les bactéries du groupe *Splendidus* sont détectées dans la majorité des prélèvements de mollusques marins chez des individus prélevés lors d'épisode de mortalité. Ces bactéries sont très diverses et les outils disponibles actuellement ne permettent pas d'identifier spécifiquement les souches virulentes de celles non virulentes, appartenant à ce groupe.

NB2 : Un résultat négatif n'exclut pas la présence d'organismes pathogènes en quantité plus faible que le seuil de détection des méthodes diagnostiques utilisées pour les détecter.

4. Résultats de la surveillance événementielle des mortalités des autres coquillages réalisée par le réseau REPAMO 2

La surveillance événementielle des mortalités des autres espèces de mollusques marins s'est appuyée sur 17 hausses de mortalité déclarées par les éleveurs et pêcheurs de mollusques marins. Les saisines émises par les DDTM à l'attention du réseau REPAMO 2 ont conduit à la réalisation de 17 interventions, dont 11 pour les moules *Mytilus sp.*, 4 pour les huîtres creuses *Crassostrea gigas*, 1 pour les coques *Cerastoderma edule* et 1 pour les pétoncles noirs *Mimachlamys varia* (Figure 22).

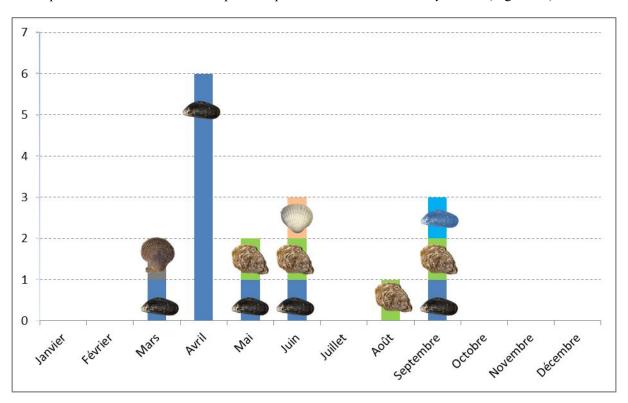


Figure 22. Répartition temporelle des lots prélevés en 2016

Les déclarations de hausses de mortalités ont été recensées dans la majorité des bassins de production. Seuls le bassin d'Arcachon et la Corse n'ont pas fait l'objet de prélèvements (Figure 23).

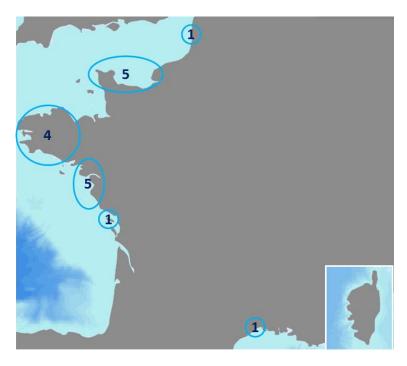


Figure 23. Répartition des lots prélevés en 2016 dans les bassins de production conchylicoles français

4.1. Surveillance événementielle des mortalités de moules

4.1.1. Mortalités observées

En l'absence de site atelier du réseau MYTILOBS 2 ou lors d'une absence de mortalité concomitante sur le site atelier le plus proche des zones concernées (*cf.* schéma du fonctionnement du dispositif de surveillance Figure 11), le réseau REPAMO 2 a réalisé 10 interventions faisant suite aux déclarations de mortalité de moules émanant de mytiliculteurs, dont 8 sur des moules adultes d'élevage *Mytilus edulis* entrant dans leur deuxième année d'élevage et 2 sur des moules d'élevage de moins d'1 an (nouvelain). Le réseau REPAMO 2 a également été sollicité pour 1 intervention sur des moules adultes d'élevage de plus d'1 an en Méditerranée, appartenant à l'espèce *Mytilus galloprovincialis*. Les moules de gisement n'ont fait l'objet d'aucune intervention REPAMO 2.

• Moules adultes d'élevage M. edulis

Les moules adultes issues d'élevage ont fait l'objet de 8 interventions REPAMO 2, entre le 22 mars et le 7 septembre 2016 (Figure 24).

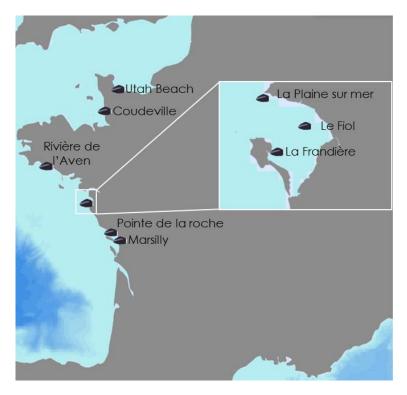


Figure 24. Répartition géographique des interventions du réseau REPAMO 2 sur les moules adultes d'élevage *M. edulis*

- 1. Des mortalités anormales de moules *M. edulis* ont été déclarées par des mytiliculteurs auprès de la DDTM/DML85 dans le lotissement du Fiol, dans la Baie de Bourgneuf (dép. 85) le 21 mars 2016. Un prélèvement ainsi qu'un recueil de commémoratifs ont été réalisés le 22 mars 2016. Le pourcentage de mortalité estimé lors du prélèvement n'est pas disponible.
- 2. Des mortalités anormales de moules *M. edulis* ont été déclarées par des mytiliculteurs auprès de la DDTM/DML85 dans les lotissements de la Frandière, dans la Baie de Bourgneuf (dép. 85) le 4 avril 2016. Un prélèvement ainsi qu'un recueil de commémoratifs ont été réalisés le 7 avril 2016. Le pourcentage de mortalité estimé lors du prélèvement atteignait 30%.
- 3. Des mortalités anormales de moules *M. edulis* ont été déclarées par le syndicat des mytiliculteurs de la Plaine-sur-mer (dép. 44) auprès de la DDTM/DML44, dans le lotissement « banc du nord » le 6 avril 2016. Un prélèvement ainsi qu'un recueil de commémoratifs ont été réalisés le 20 avril 2016. Le pourcentage de mortalité a été estimé lors du prélèvement à plus de 50%.
- 4. Des mortalités anormales de moules *M. edulis* ont été déclarées par un professionnel auprès de la DDTM/DML50 dans le secteur d'Utah Beach (dép. 50) le 15 avril 2016. Un prélèvement ainsi qu'un recueil de commémoratifs ont été réalisés le 21 avril 2016. Lors de la déclaration, le pourcentage de mortalité était inférieur à 10% mais il dépassait 20% lors du prélèvement.
- 5. Des mortalités anormales de moules *M. edulis* ont été déclarées par des professionnels auprès de la DDTM/DML85 dans la baie de l'Aguillon, dans le secteur de la Pointe de la Roche (dép. 85) le 8 avril 2016. Un prélèvement ainsi qu'un recueil de commémoratifs ont été réalisés le 21 avril 2016. Le pourcentage de mortalité estimé lors du prélèvement atteignait 30%.
- 6. Des mortalités anormales de moules *M. edulis* ont été déclarées par des professionnels auprès de la DDTM/DML85 dans les pertuis charentais, dans le secteur de Marsilly (dép. 17) le 8 avril 2016. Un prélèvement ainsi qu'un recueil de commémoratifs ont été réalisés le 21 avril 2016. Le pourcentage de mortalité estimé lors du prélèvement atteignait 25%.
- 7. Des mortalités anormales de moules *M. edulis* ont été déclarées par un professionnel auprès de la DDTM/DML50 à Coudeville (dép. 50) le 6 juin 2016. Un prélèvement ainsi qu'un recueil de commémoratifs ont été réalisés le 7 juin 2016. Le pourcentage de mortalité a été estimé lors du prélèvement à moins de 10%.
- 8. Des mortalités anormales de moules *M. edulis* ont été déclarées par un professionnel auprès de la DDTM/DML29 dans la Rivière de l'Aven (dép. 29) le 29 août 2016. Un prélèvement ainsi qu'un

recueil de commémoratifs ont été réalisés le 7 septembre 2016. Le pourcentage de mortalité estimé lors du prélèvement n'est pas disponible.

• Moules d'élevage M. edulis de moins d'1 an (nouvelain)

Les moules issues d'élevage de moins d'1 an ont fait l'objet de 2 interventions REPAMO 2, en avril et en mai 2016 (Figure 25).



Figure 25. Répartition géographique des interventions du réseau REPAMO 2 sur les moules d'élevage M. edulis de moins d'1 an

- 1. Des mortalités anormales de moules *M. edulis* ont été déclarées par le syndicat conchylicole de Penestin en Bretagne sud auprès de la DDTM/DML56 dans de secteur des Granges en Baie de Vilaine (dép. 56), le 26 avril 2016. Un prélèvement ainsi qu'un recueil de commémoratifs ont été réalisés le 26 avril 16. Le pourcentage de mortalité a été estimé lors du prélèvement à moins de 5%.
- 2. Des mortalités anormales de moules *M. edulis* ont été déclarées par un professionnel auprès de la DDTM/DML 29 au large de Camaret sur Mer (dép. 29) le 3 mai 2016. Un prélèvement ainsi qu'un recueil de commémoratifs ont été réalisés le 9 mai 2016. Le pourcentage de mortalité a été estimé lors du prélèvement à moins de 25%.

• Moules adultes d'élevage M. galloprovincialis

Les moules adultes *Mytilus galloprovincialis* issues d'élevage ont fait l'objet d'une intervention REPAMO 2 en septembre 2016 (Figure 26).



Figure 26. Répartition géographique des interventions du réseau REPAMO 2 sur les moules *M. galloprovincialis* d'élevage

Des mortalités de moules *M. galloprovincialis* ont été déclarées par un professionnel auprès de la DDTM/DML34 le 9 septembre 2016 dans l'Etang de Thau, sur le secteur de Bouzigues (dép. 34). Un prélèvement ainsi qu'un recueil de commémoratifs ont été réalisés le 19 septembre 2016. Le pourcentage de mortalité estimé durant le prélèvement atteignait 20%.

4.1.2. Détection d'organismes pathogènes

• Moules adultes d'élevage M. edulis

Les interventions ont permis la réalisation d'échantillons pour analyses diagnostiques de laboratoire, afin de rechercher différents organismes pathogènes dans les 8 lots de moules adultes *M. edulis* issues d'élevage (Tableau 7). Des bactéries du groupe *Splendidus* ont été détectées dans les 8 prélèvements de moules. Aucun autre agent pathogène n'a été détecté.

Tableau 7. Résultats des analyses diagnostiques de laboratoire réalisées sur les prélèvements de moules adultes d'élevage M. edulis dans le cadre du réseau REPAMO 2

Secteur	Organismes pathogènes réglementés	OsHV-1	Vibrio aestuarianus	Groupe Splendidus
Le Fiol	-	-	-	+
La Frandière	-	-	-	+
La Plaine/mer	-	-	-	+
Utah Beach	-	-	-	+
Pointe de la Roche	-	-	-	+
Marsilly	-	-	-	+
Coudeville	-	-	-	+
Rivière de l'Aven	-	-	-	+

• Moules d'élevage M. edulis de moins d'1 an (nouvelain)

Les interventions ont permis la réalisation d'échantillons pour analyses diagnostiques de laboratoire, afin de rechercher différents organismes pathogènes dans les 2 lots de moules M. edulis de moins d'1 an issues d'élevage (Tableau 8). Des bactéries du groupe Splendidus ont été détectées dans les 2 prélèvements de moules. La bactérie Vibrio aestuarianus a été détectée sur le prélèvement de moules provenant de Bretagne Sud (sur 2 individus sur 10). Il s'agit de la première détection de la bactérie Vibrio aestuarianus sur des moules d'élevage. Les souches de Vibrio aestuarianus présentes sur ce lot ont été isolées et leur virulence a été testée sur des animaux de laboratoire de statut connu : ces souches n'ont pas induit de mortalités anormales chez les moules bleues ni chez les huîtres creuses en conditions expérimentales.

Tableau 8. Résultats des analyses diagnostiques de laboratoire réalisées sur les prélèvements de moules d'élevage *M. edulis* de moins d'1 an dans le cadre du réseau REPAMO 2

Secteur	Organismes pathogènes réglementés	OsHV-1	Vibrio aestuarianus	Groupe Splendidus
Les Granges	+	-	+	+
Camaret sur Mer	-	-	-	+

• Moules d'élevage M. galloprovincialis

L'intervention a permis la réalisation d'échantillons pour analyses diagnostiques de laboratoire, afin de rechercher différents organismes pathogènes dans le lot de moules d'élevage adultes *M. galloprovincialis* (Tableau 9). Des bactéries du groupe *Splendidus* ont été détectées dans ce prélèvement. Le protozoaire réglementé *Marteilia refringens* a été détecté sur ce prélèvement de moules. Ce protozoaire a déjà été détecté dans l'étang de Thau (*cf.* thèse de doctorat universitaire en 2011⁹, détection de *Marteilia refringens* Etang de Thau).

Tableau 9. Résultats des analyses diagnostiques de laboratoire réalisées sur les prélèvements de moules d'élevage *M. galloprovincialis* dans le cadre du réseau REPAMO 2

Secteur	Organismes pathogènes réglementés	OsHV-1	Vibrio aestuarianus	Groupe Splendidus
Etang de Thau, Bouzigues	Marteilia refringens	-	-	+

4.2. Surveillance événementielle des mortalités d'huîtres creuses

4.2.1. Mortalités observées

Les huîtres creuses *Crassostrea gigas* ont fait l'objet de 4 interventions REPAMO 2, entre le 26 mai et le 5 décembre 2016 (Figure 27). Ces interventions ont concerné uniquement du naissain d'huître creuse.

_

⁹ Boyer, Séverine. Ecologie du copépode calanoïde *Paracartia grani*: implication dans le cycle de vie du parasite Marteilia refringens dans la lagune de Thau. Montpellier: 2012. Université de Montpellier 2: thèse de doctorat, Ecosystèmes. http://www.biu-montpellier.fr/florabium/jsp/nnt.jsp?nnt=2012MON20147

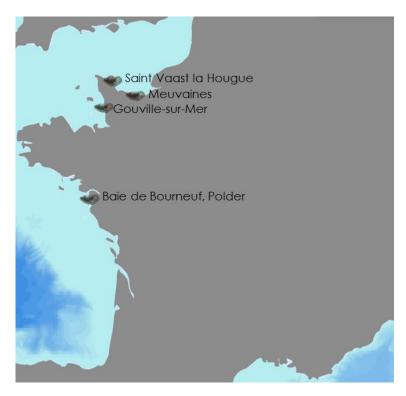


Figure 27. Répartition géographique des interventions du réseau REPAMO 2 sur les huîtres creuses

- 1. Des mortalités anormales de naissain d'huitres creuses ont été signalées par un professionnel auprès de la DDTM/DML50, à Gouville-sur-mer, (dép. 50) le 24 mai 2016. Un prélèvement ainsi qu'un recueil de commémoratifs ont été réalisés le 26 mai 2016. Le pourcentage de mortalité estimé durant le prélèvement atteignait 35%.
- 2. Des mortalités anormales de naissain d'huitres creuses ont été signalées par un professionnel auprès de la DDTM/DML14 à Meuvaines, (dép. 14), le 22 juin 2016. Un prélèvement ainsi qu'un recueil de commémoratifs ont été réalisés le 27 juin 2016. Le pourcentage de mortalité estimé durant le prélèvement atteignait 40%.
- 3. Des mortalités anormales de naissain d'huitres creuses ont été signalées par un professionnel auprès de la DDTM/DML50 à Saint Vaast la Hougue (dép. 50), le 1^{er} août 2016. Un prélèvement ainsi qu'un recueil de commémoratifs ont été réalisés le 16 août 2016. Le pourcentage de mortalité estimé durant le prélèvement atteignait 28%.
- 4. Des mortalités anormales de naissain d'huitres creuses ont été signalées par un professionnel auprès de la DDTM/DML85 dans une écloserie-nurserie dans le Polder de Bouin, en baie de Bourgneuf (dép. 85), le 30 novembre 2016. Un prélèvement ainsi qu'un recueil de commémoratifs ont été réalisés le 5 décembre 2016. Le pourcentage de mortalité estimé durant le prélèvement atteignait 80%.

4.2.2. Détection d'organismes pathogènes

Les interventions ont permis la réalisation d'échantillons pour analyses diagnostiques de laboratoire, afin d'identifier différents organismes pathogènes dans les 4 lots de naissains d'huîtres creuses (Tableau 10). Les bactéries du groupe *Splendidus* ont été détectées dans les 3 prélèvements analysés. En effet, la qualité du prélèvement de Meuvaines n'a pas permis la réalisation des analyses bactériologiques. Le virus OsHV-1 a été détecté dans 3 prélèvements de naissains d'huîtres creuses.

Tableau 10. Résultats des analyses diagnostiques de laboratoire réalisées sur les prélèvements de naissains d'huîtres creuses dans le cadre du réseau REPAMO 2

Secteur	Organismes pathogènes réglementés	OsHV-1	Vibrio aestuarianus	Groupe Splendidus
Gouville-sur-Mer	-	+	-	+
Meuvaines	-	+	Analyses no	on réalisées
Saint Vaast la Hougue	-	+	-	+
Baie de Bourgneuf, Polder de Bouin	-	-	-	+

4.3. Surveillance événementielle des mortalités de coques

4.3.1. Mortalités observées

Les coques *Cerastoderma edule* ont fait l'objet d'une intervention REPAMO 2 le 6 juin 2016 (Figure 28).



Figure 28. Situation géographique de l'intervention du réseau REPAMO 2 sur les coques

A l'occasion de la commission de visite des gisements naturels de coques de la baie d'Authie (dép. 62), la DDTM/DML62 a constaté des hausses de mortalités de coques le 6 juin 2016. Un prélèvement a été réalisé le 6 juin 2016. Le pourcentage de mortalité estimé durant le prélèvement variait de 50 à 100%.

4.3.2. Détection d'organismes pathogènes

L'intervention a permis la réalisation d'échantillons pour analyses diagnostiques de laboratoire, afin de rechercher différents organismes pathogènes dans le lot de coques (Tableau 11). Aucun des organismes pathogènes recherchés n'a été détecté dans ce lot.

Tableau 11. Résultats des analyses diagnostiques de laboratoire réalisées sur les prélèvements de coques dans le cadre du réseau REPAMO 2

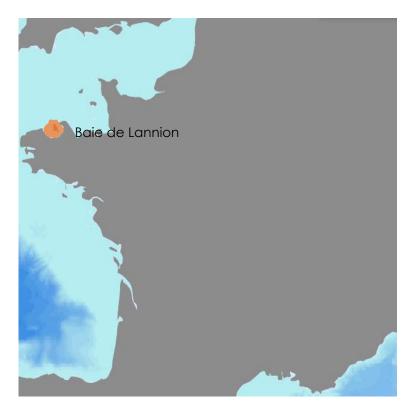
Secteur	Organismes pathogènes réglementés	OsHV-1	Vibrio aestuarianus	Groupe Splendidus
Baie d'Authie	-	-	-	-

4.4. Surveillance événementielle des mortalités de pétoncles noirs

4.4.1. Mortalités observées

Les pétoncles noirs *Mimachlamys varia* ont fait l'objet d'une intervention REPAMO 2, le 8 mars 2016 (Figure 29).

Figure 29. Situation géographique de l'intervention du réseau REPAMO 2 sur les pétoncles noirs



Des mortalités anormales de pétoncles noirs ont été déclarées par un professionnel auprès de la DDTM/DML22 le 7 mars 2016 à Trébeurden, dans la baie de Lannion (dép. 22). Un prélèvement et un recueil de commémoratifs ont été réalisés le 8 mars 2016. Le pourcentage de mortalité estimé durant le prélèvement atteignait 20%.

4.4.2. Détection d'organismes pathogènes

L'intervention a permis la réalisation d'échantillons pour analyses diagnostiques de laboratoire, afin de rechercher différents organismes pathogènes (Tableau 12). Les bactéries du groupe *Splendidus* ont été détectées dans ce lot de pétoncles noirs.

Tableau 12. Résultats des analyses diagnostiques de laboratoire réalisées sur les prélèvements de pétoncles noirs dans le cadre du réseau REPAMO 2

Secteur	Organismes pathogènes réglementés	OsHV-1	Vibrio aestuarianus	Groupe Splendidus
Baie de Lannion	-	-	-	+

NB1: Les bactéries du groupe *Splendidus* sont détectées dans la majorité des prélèvements de mollusques marins chez des individus prélevés lors d'épisode de mortalité. Ces bactéries sont très diverses et les outils disponibles actuellement ne permettent pas d'identifier spécifiquement les souches virulentes de celles non virulentes, appartenant à ce groupe.

NB2 : Un résultat négatif n'exclut pas la présence d'organismes pathogènes en quantité plus faible que le seuil de détection des méthodes diagnostiques utilisées pour les détecter.

5. Bilan de la situation sanitaire des mollusques marins en 2016

La figure 30 résume la répartition spatio-temporelle des interventions du dispositif national de surveillance des mortalités de mollusques marins pour l'année 2016.

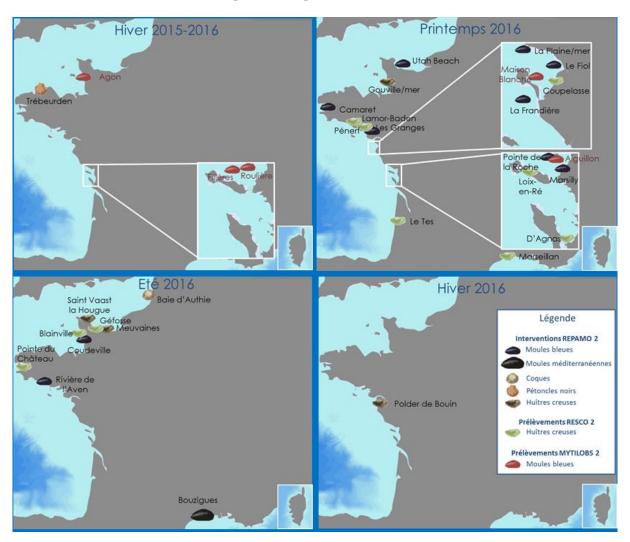


Figure 30. Répartition spatio-temporelle des prélèvements en cas de hausse de mortalité du dispositif de surveillance en 2016

La majorité des activités de prélèvements du dispositif national de surveillance des mortalités de coquillages a été réalisée au printemps 2016. Cette activité s'est étendue sur l'ensemble du littoral français métropolitain pour les huîtres creuses, et s'est concentrée plutôt sur le nord du littoral Atlantique pour les moules bleues.

Le tableau 13 présente les organismes pathogènes détectés en 2016 au cours de la surveillance événementielle, par espèce de mollusque marin.

Tableau 13. Organismes pathogènes détectés sur les prélèvements de mollusques marins réalisés en 2016 dans le cadre du dispositif de surveillance national de la santé des mollusques marins

(en rouge les organismes pathogènes réglementés)

Espèce de mollusque marin	Nombre de prélèvements	Organismes pathogènes détectés
Huître creuse <i>Crassostrea gigas</i> -naissain -juvénile -adulte	19 14 1 4	Virus OsHV-1 (12 cas) Vibrio Groupe Splendidus (3 cas) Marteilia sp. (3 cas)
Moule Mytilus edulis	15	Vibrio Groupe Splendidus (15 cas) Vibrio aestuarianus (1 cas)
Moule Mytilus galloprovincialis	1	Vibrio Groupe Splendidus Marteilia refringens
Coque Cerastoderma edule	1	Absence de détection
Pétoncle Mimachlamys varia	1	Vibrio Groupe Splendidus

Les mortalités d'huîtres creuses *Crassostrea gigas* (réseau RESCO 2) ont été observées entre la fin du mois de mai et la fin du mois de juin. Les premières observations ont eu lieu sur les sites ateliers situés plutôt au Sud du littoral métropolitain. Les mortalités moyennes ont été estimées à 67,5% (écart-type 7,9%) pour le naissain standardisé Ifremer (NSI), 17,3% (écart-type 18,5%) pour les animaux de 18 mois et 11,1% (écart-type 11,4%) pour les animaux de 30 mois. Lors de ces épisodes de mortalité, des prélèvements d'animaux ont été réalisés en vue d'analyses diagnostiques : 10 prélèvements pour le NSI et 1 pour les huîtres de 18 mois. Aucun prélèvement n'a été réalisé pour les huîtres de 30 mois. Faute d'animaux moribonds en quantité suffisante, un prélèvement de NSI n'a pas pu être analysé et seules les analyses en histopathologie ont été réalisées pour le prélèvement d'huîtres de 18 mois. Aucun agent réglementé n'a été détecté dans les échantillons d'huîtres creuses prélevés et analysés. Le virus OsHV-1 a été détecté dans les 9 (100%) échantillons de NSI analysés. La bactérie *Vibrio aestuarianus* n'a été détectée dans aucun des 9 échantillons de NSI analysés.

Le réseau REPAMO 2 a réalisé quatre interventions faisant suite aux déclarations de mortalité de naissains d'huîtres creuses émanant d'ostréiculteurs auprès des DDTM. Trois de ces déclarations étaient situées dans les zones où il n'existe pas de site atelier du réseau RESCO 2 et une déclaration a concerné une écloserie-nurserie. Lors de ces épisodes de mortalité, des prélèvements d'animaux ont été réalisés en vue d'analyses diagnostiques. Les bactéries du groupe *Splendidus* ont été détectées dans les 3 prélèvements analysés en bactériologie. Le virus OsHV-1 a été détecté dans 3 des 4 prélèvements analysés.

Comme en 2015, le parasite *Mikrocytos mackini*, organisme pathogène exotique réglementé, n'a pas été détecté en 2016 au cours de l'exercice de surveillance programmée, ciblée et fondée sur le risque d'introduction et d'installation sur le site atelier de Loix-en-Ré du réseau RESCO 2, sur la période de mi-mars à mi-avril 2016. Comme en 2015, un parasite du genre *Marteilia* a été détecté dans ¾ (75%) des prélèvements d'huîtres réalisés, alors que l'huître creuse *Crassostrea gigas* n'est pas considérée comme une espèce sensible. Des travaux complémentaires sont envisagés par le LNR pour déterminer l'espèce de *Marteilia* et comprendre la présence de ce parasite dans les huîtres.

Les mortalités de moules bleues en élevage ont été observées jusqu'à la fin de l'été 2016 le long du littoral atlantique. Les mortalités de moules déclarées par les mytiliculteurs ont été observées surtout

au printemps (8 lots sur 10 du réseau REPAMO 2) alors que 3 des 5 prélèvements du réseau MYTILOBS 2 ont été réalisés en hiver. Le décalage entre les observations des deux réseaux est probablement dû à une détection des mortalités plus précoce permise par le protocole du réseau MYTILOBS 2. Celui-ci repose en effet sur l'observation d'un effectif connu et fini de moules encagées. En cas de mortalité, les coquilles des moules mortes restent dans les poches et ne s'éliminent pas au gré des courants, ce qui permet de détecter précocement les mortalités. Ce réseau permet par conséquent de détecter des hausses de mortalités faibles. A l'inverse, lorsqu'une mortalité modérée affecte la structure d'élevage d'un mytiliculteur (pieu de bouchot ou descente de filière), les coquilles s'éliminent rapidement au gré des courants et les individus survivants comblent rapidement les trous qui apparaissent dans la garniture de la structure. Les interventions des deux réseaux ont particulièrement concerné la Baie de Bourgneuf et les Pertuis Charentais (4/8 interventions du réseau REPAMO 2 et 4/5 prélèvements du réseau MYTILOBS 2).

Le réseau REPAMO 2 a réalisé 4 interventions faisant suite aux déclarations de mortalité de moules émanant de mytiliculteurs auprès des DDTM en l'absence de site atelier du réseau MYTILOBS 2 sur les zones concernées. Toutefois, les 6 autres interventions du REPAMO 2 ont été réalisées sur des zones à proximité de sites ateliers du réseau MYTILOBS 2, sur lesquels des prélèvements avaient été réalisées suite à des mortalités débutantes, observées quelques semaines plus tôt.

Lors de ces épisodes de mortalités, des prélèvements d'animaux ont été réalisés en vue d'analyses diagnostiques de laboratoire. Le virus OsHV-1 n'a pas été détecté dans les lots de moules analysés. La bactérie *Vibrio aestuarianus* a été détectée dans un lot de moules analysés dans le cadre du réseau REPAMO 2 mais les analyses complémentaires réalisées par le LGPMM dans le cadre de ses missions de LNR n'ont pas mis en évidence de virulence particulière, suggérant que cette bactérie n'était pas responsable de la mortalité du lot de moules analysé. Des bactéries du groupe *Splendidus* ont été détectées dans tous les lots (10) de moules analysés dans le cadre du réseau REPAMO 2 et dans tous les échantillons (5) de moules sentinelles analysés dans le cadre du réseau MYTILOBS 2.

Un seul épisode de mortalités de moules méditerranéennes a été observé dans le cadre de la surveillance de la santé des mollusques marins en 2016. Il a été observé en fin d'été 2016 dans l'Etang de Thau. L'organisme pathogène réglementé *Marteilia refringens* a été détecté dans les moules prélevées et analysées. Cet organisme pathogène a déjà été détecté dans cette zone auparavant.

Un seul épisode de mortalités de coques a été observé dans le cadre de la surveillance de la santé des mollusques marins en 2016. Il a été observé au printemps sur un gisement de la Manche et de la Mer du Nord. Aucun organisme pathogène recherché par le dispositif de surveillance n'a été détecté dans les coques prélevées et analysées.

Un seul épisode de mortalités de pétoncles noirs a été observé dans le cadre de la surveillance de la santé des mollusques marins en 2016. Il a été observé au printemps en Bretagne Nord. Des bactéries du groupe *Splendidus* ont été détectées dans les lots de pétoncles noirs analysés.

6. Etudes d'optimisation des modalités de surveillance de la santé des mollusques marins

En 2014, l'Ifremer a proposé deux développements méthodologiques complémentaires fondés sur les risques au GT « Mollusques », pour chacune des deux approches de surveillance :

- une méthodologie d'évaluation spatiale et temporelle des risques d'introduction et d'installation d'un organisme pathogène exotique pour aider à cibler les sites privilégiés pour une surveillance programmée ;
- une méthodologie de recherche et d'identification de regroupements spatiotemporels d'événements de mortalités de coquillages pour optimiser les investigations épidémiologiques sur le terrain en les ciblant sur ces regroupements. L'hypothèse est qu'un regroupement dans le temps et dans l'espace d'évènements de mortalités reflète potentiellement un foyer infectieux. La mise en évidence de regroupements d'événements de mortalité permet de raisonner les moyens humains et financiers à déployer pour réaliser les investigations épidémiologiques et les prélèvements de mollusques qui feraient l'objet d'analyses diagnostiques pour infirmer/confirmer la présence d'agents infectieux, en particulier ceux exotiques et/ou émergents.

Depuis 2015, l'Ifremer a poursuivi les développements méthodologiques en lien avec la surveillance événementielle des mortalités de coquillages. En 2016, Le programme de travail comportait les points suivants :

- 1. expérimenter une étude de faisabilité de la recherche et de l'identification prospective de regroupements spatiotemporels d'événements de mortalités de coquillages en routine sur un site atelier (Normandie);
- 2. participer à l'élaboration d'un protocole standardisé d'investigation en cas d'agrégat d'événements de mortalités de coquillages avéré ;
- 3. transférer la méthode développée au moyen de formations et d'un service d'assistance téléphonique ;
 - 4. optimiser le diagnostic en bactériologie.

6.1. Etude de faisabilité de la recherche prospective de regroupements spatiotemporels d'événements de mortalités de coquillages : expérimentation en routine sur un site atelier, la Normandie

6.1.1. Rappel du principe de l'étude

• Contexte et objectifs

L'étude OPTINORM a été conduite dans le cadre de l'évolution de la surveillance de la santé des coquillages marins. Son but était d'aider à rationaliser et optimiser les interventions sur le terrain lors d'événements inhabituels de mortalités de coquillages observés dans un même bassin de production.

Elle visait à tester un outil, créé en 2015, pour détecter précocement des mortalités inhabituelles afin d'aider à des prises de décision rapides visant à limiter la diffusion d'agents pathogènes nouvellement détectés dans les eaux françaises. En cas de détection de mortalités de coquillages regroupées dans le temps et dans l'espace et afin de maximiser les chances de détection d'une maladie émergente ou exotique, il s'agirait de cibler sur ces regroupements des interventions telles que les prélèvements de coquillages à envoyer au laboratoire d'analyses diagnostiques. L'hypothèse sous-jacente est qu'un regroupement spatio-temporel d'événements de mortalités reflète potentiellement un foyer infectieux.

Cette étude a été conduite en Normandie, sur la période de juin à décembre 2016. Ses partenaires étaient le Comité régional de la conchyliculture Normandie/Mer du Nord, Synergie Mer et littoral (SMEL), la Direction départementale des territoires et de la mer du Calvados, la Direction

départementale des territoires et de la mer de la Manche et l'Ifremer (Laboratoire Environnement Ressources Normandie et Laboratoire de Génétique et Pathologie des Mollusques Marins).

La préparation de l'étude OPTINORM a été conduite en 2015. En 2016, les objectifs étaient (1) d'évaluer la faisabilité de cette modalité de signalement de mortalités par SMS pour les huîtres creuses, les moules, les palourdes et les coques, (2) de détecter et de localiser précocement des regroupements de mortalités d'huîtres creuses signalés par les ostréiculteurs par SMS, en temps quasiréel, et (3) de comparer, pour l'huître creuse, cette modalité de signalement avec la modalité de surveillance événementielle existante et assurée par le dispositif de déclaration obligatoire des mortalités auprès des DDTM14 et 50 pouvant aboutir à une saisine du REPAMO2, sur la même période.

Méthode

La détection spatio-temporelle des regroupements de signalements de mortalités de coquillages a été réalisée en appliquant la méthode de balayage de Kulldorff ¹⁰. Son principe est l'analyse d'une emprise géographique (secteurs conchylicoles de la zone étudiée) et d'une période afin d'identifier des zones pour lesquelles une incidence plus élevée de signalements de mortalité d'huîtres est observée au cours d'un cycle de marée. Pour cela, une fenêtre de recherche balaie la zone d'étude et dénombre les signalements de mortalité observés et théoriques à l'intérieur et à l'extérieur de chaque fenêtre. Un test statistique est réalisé pour chaque fenêtre de recherche. Cette analyse a été conduite selon un rythme bimensuel (14 jours) pour représenter le cycle de marée, conditionnant l'observation de la majeure partie des coquillages élevés ou pêchés. La zone géographique de recherche était le cadastre conchylicole.

Les principes généraux et les données nécessaires à la méthode de recherche de regroupements spatiotemporels d'événements de mortalité de coquillages ont été présentés et discutés lors du comité de pilotage de la santé des mollusques marins en 2014 (Annexe 5). L'application de cette méthode au site atelier choisi, la Basse-Normandie, a nécessité des essais méthodologiques qui ont été conduits en 2015 lors de la préparation de l'étude (*cf.* rapport d'activité du dispositif national de surveillance de la santé des mollusques marins pour l'année 2015).

Un outil de collecte et d'analyse des données de signalements des mortalités, automatisé, simple d'utilisation et flexible, a été élaboré en 2015 pour les huîtres creuses. Des logiciels libres ont été utilisés pour créer cet outil qui comporte plusieurs modules :

- (1) un numéro de téléphone dédié permet de recevoir des signalements de mortalité sous la forme de SMS comportant le secteur, la date d'observation de l'épisode de mortalité et la classe d'âge des huîtres affectées ;
- (2) un serveur sécurisé centralise les SMS et assure l'anonymat des participants;
- (3) un programme informatique extrait les informations contenues dans les SMS par autoapprentissage, les analyse selon la méthode de recherche de regroupements de signalements de mortalités sélectionnée et créée un rapport d'analyse;
- (4) un rapport d'analyse décrit les regroupements de signalements de mortalités dans le temps et dans l'espace, ainsi que leur caractéristiques (classes d'âge des huîtres, nombre de signalements...);
- (5) une visionneuse permet de visualiser les regroupements de signalements de mortalités sur le site internet du système de surveillance de la santé des mollusques marins animé par l'Ifremer.

Un bulletin de synthèse *Optinorm-Huître* présentant le rapport d'analyse et la visualisation cartographique des regroupements de signalements de mortalité éventuellement détectés a été édité à

_

¹⁰ Kulldorff M, Heffernan R, Hartman J, Assunção RM, Mostashari F. A space-time permutation scan statistic for the early detection of disease outbreaks. PLoS Medicine, 2005; 2:216-224

chaque fin de cycle de marée et mis à disposition sur le site internet du dispositif de surveillance de la santé des mollusques marins dans les rubriques d'actualités, dédiée à l'étude et dans la documentation (https://wwx.ifremer.fr/sante_mollusques/Documentation/Bulletin-Optinorm/Huitres). Au total, 15 bulletins de synthèse *Optinorm-Huître* ont été publiés au cours de l'étude.

6.1.2. Campagne de lancement de l'étude

L'étude a été présentée au cours de la Journée Conchylicole organisée par le Comité Régional de la Conchyliculture Normandie/Mer du Nord le 31 mai 2016. Cette réunion a accueilli une centaine de participants dont 60 professionnels. Des prospectus (Annexe 6) ont été distribués aux participants et laissés à disposition dans les locaux du CRC et des DDTM14 et 50. Des formats A4 plastifiés ont également été proposés pour pouvoir être emmenés en mer.

Le prospectus et un court texte de présentation de l'étude ont été diffusés sous forme de brèves ou d'actualités sur les sites internet des participants (SMEL, Ifremer/LERN, DDTM50).

Un court article (actualité) est paru dans le journal Cultures Marines n°297 de Juin 2016 (p15).

6.1.3. Résultats de l'étude

Participation

Au total, 39 SMS ont été reçus entre le 1^{er} juin et le 31 décembre 2016. Vingt-huit SMS concernaient des signalements de mortalité d'huîtres et 11 SMS concernaient des mortalités de moules.

Au total, 130 déclarations de mortalités d'huîtres creuses ont été réalisées auprès des DDTM14 et 50 entre le 23 mai et le 27 décembre 2016, et 8 déclarations de mortalités de moules entre le 12 avril et le 10 juin 2016.

• <u>Description des signalements et des déclarations de mortalités de coquillages</u>

➤ Huîtres creuses

La figure 31 illustre la répartition des signalements par SMS et des déclarations de mortalités d'huîtres auprès de la DDTM selon les classes d'âge des coquillages. Quelle que soit la modalité de signalement des mortalités (test de Fisher, p=0,16), les signalements ont concerné majoritairement le naissain d'huîtres creuses.

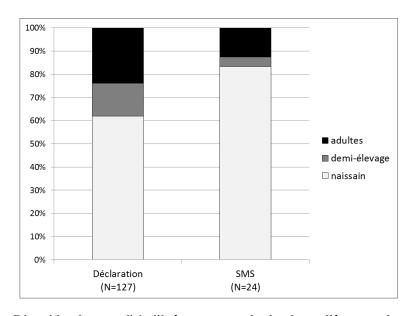


Figure 31. Répartition des mortalités d'huîtres creuses selon les classes d'âge pour chacune des modalités de signalement, Normandie, 2016

La figure 32 illustre la répartition temporelle des signalements de mortalités d'huîtres creuses par SMS et des déclarations auprès des DDTM. Le dernier SMS a été reçu le 21 octobre 2016 (20^{ème} cycle de marée) alors que des mortalités ont été déclarées auprès des DDTM jusqu'au 28 décembre 2016.

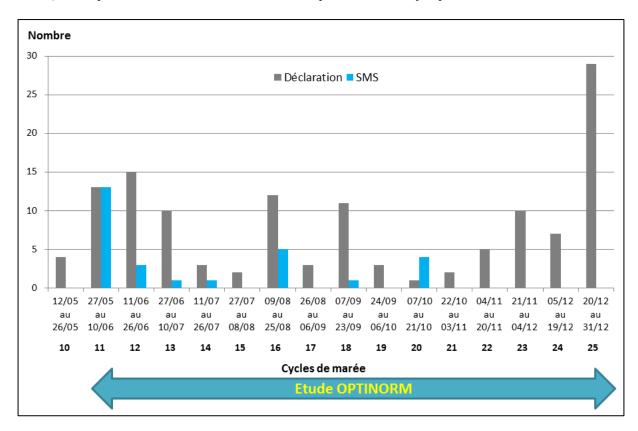


Figure 32. Distribution du nombre de signalements par SMS et de déclarations de mortalités d'huîtres creuses auprès de la DDTM au cours du temps, Normandie, 2016

La figure 33 montre la répartition du nombre de déclarations de mortalité en fonction du cycle de marée de l'observation de l'épisode de mortalité et du cycle de sa déclaration auprès de la DDTM. Il apparaît qu'aucune mortalité déclarée n'a été observée après le 20^{ème} cycle de marée, période à laquelle le dernier signalement de mortalité par SMS a été reçu.

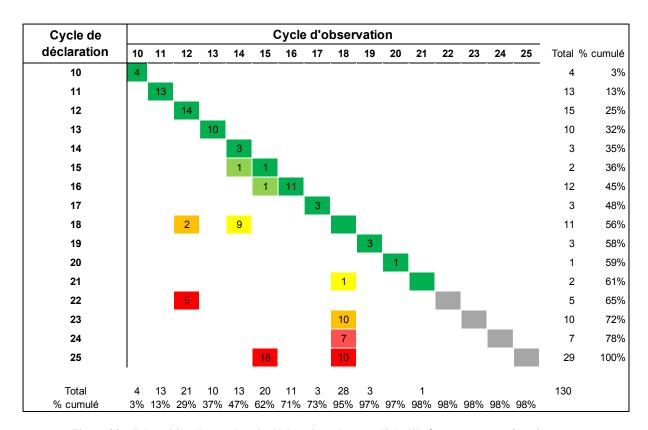


Figure 33. Répartition du nombre de déclarations de mortalités d'huîtres creuses en fonction du cycle d'observation de la mortalité et du cycle de sa déclaration auprès de la DDTM,

Normandie, 2016

La figure 34 illustre la répartition géographique des signalements de mortalités d'huîtres creuses par SMS et des déclarations auprès de la DDTM. Les déclarations auprès de la DDTM ont concerné 11 secteurs ostréicoles différents, la majorité était localisée sur les secteurs de Grandcamp (37 déclarations) et de Géfosse (24 déclarations). Les signalements par SMS ont également concerné 11 secteurs ostréicoles différents et la majorité était située sur les secteurs de Blainville (10 SMS) et de Géfosse (6 SMS). Des mortalités ont été signalées par les deux modalités de signalement dans la majorité des secteurs ostréicoles (9 secteurs). Dans deux secteurs (Cul-de-Loup et Denneville), des mortalités ont été signalées uniquement par déclaration et dans deux autres secteurs (Agon et Bricqueville), des mortalités ont été signalées uniquement par SMS.

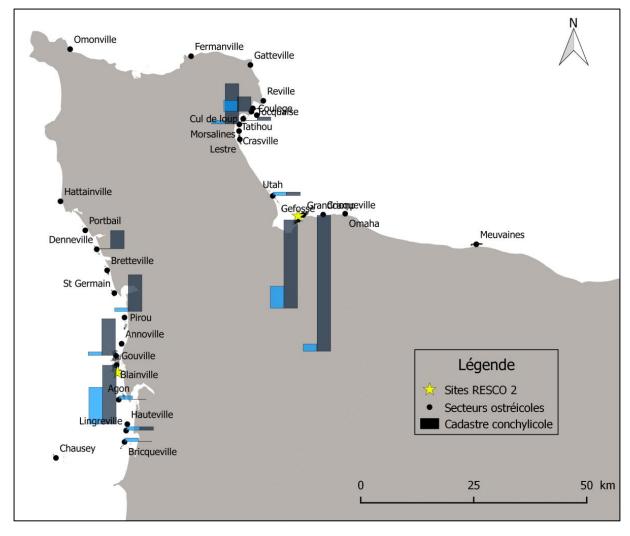


Figure 34. Distribution géographique des signalements par SMS (barres bleues) et des déclarations de mortalités d'huîtres auprès de la DDTM (barres grises), Normandie, 2016

➤ Moules

La figure 35 illustre la répartition des signalements par SMS et des déclarations de mortalités de moules auprès de la DDTM selon les classes d'âge des coquillages. Les déclarations de mortalités auprès de la DDTM ont concerné uniquement des moules adultes (de plus d'un an) alors que 9% des signalements par SMS (1 signalement sur 11) ont concerné des moules de moins d'un an.

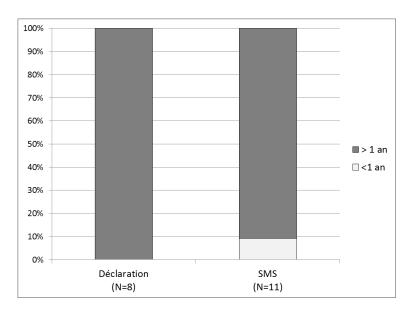


Figure 35. Répartition des mortalités de moules selon les classes d'âge pour chacune des modalités de signalement, Normandie, 2016

La figure 36 illustre la répartition temporelle des signalements de mortalités de moules par SMS et des déclarations auprès de la DDTM. Début juin, un premier pic de déclarations était concomitant à plusieurs signalements par SMS. Un second pic de signalements par SMS a ensuite été observé entre la mi-août et la mi-septembre. La dernière déclaration a été enregistrée le 10 juin 2016 alors que des SMS ont été reçus jusqu'au 20 septembre 2016.

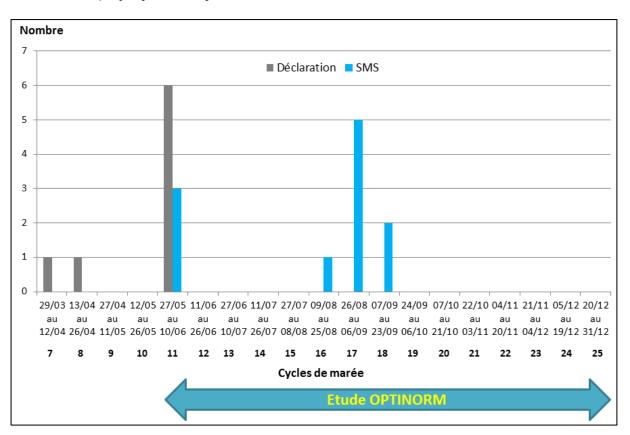


Figure 36. Distribution du nombre de signalements par SMS et de déclarations de mortalités de moules auprès de la DDTM au cours du temps, Normandie, 2016

La figure 37 illustre la répartition géographique des signalements de mortalités de moules par SMS et des déclarations auprès de la DDTM. Les déclarations auprès de la DDTM ont concerné six secteurs mytilicoles différents, la majorité était localisée sur le secteur de Coudeville (2 déclarations). Les signalements par SMS ont concerné quatre secteurs mytilicoles différents et la majorité était située sur le secteur d'Agon (7 SMS). Des mortalités ont été signalées par les deux modalités de signalement dans la moitié des secteurs mytilicoles (6 secteurs). Dans quatre secteurs (Bretteville, Chausey, Donville et Utah Beach), des mortalités ont été signalées uniquement par déclaration et dans un autre secteur (Pirou), des mortalités ont été signalées uniquement par SMS.

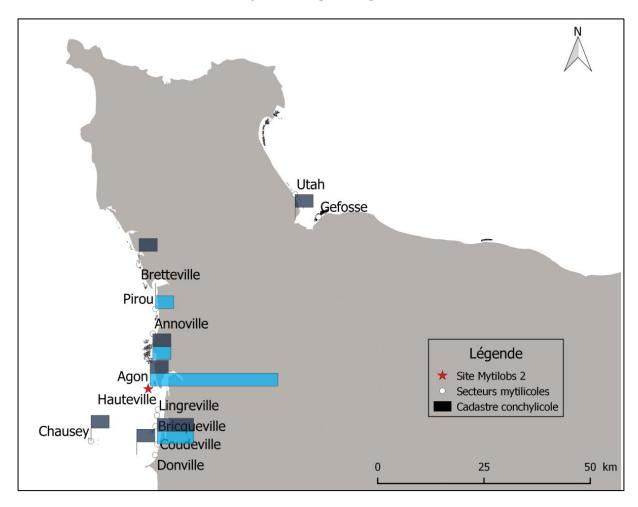


Figure 37. Distribution géographique des signalements par SMS et des déclarations de mortalités de moules auprès de la DDTM, Normandie, 2016

• Sensibilité des modalités de signalement des mortalités de coquillages

➤ Huîtres creuses

Les 28 SMS signalant une mortalité d'huîtres ont été envoyés par 19 numéros de téléphones différents, qui ont été assimilés à 19 personnes différentes. Chaque personne a envoyé entre 1 et 4 SMS, avec une moyenne de 1,5 SMS.

Les 130 déclarations de mortalités ont été réalisées par 34 entreprises différentes. Chaque entreprise a réalisé entre 1 et 19 déclarations, avec une moyenne de 3,8 déclarations.

Il n'a pas été possible de réaliser une estimation formelle de la sensibilité de chacune des deux modalités de signalement des mortalités d'huîtres creuses par la méthode de capture-recapture à deux sources^{11,12}. En effet, cette méthode nécessite l'identification de chaque personne signalant ou

.

¹¹ Chao, A., Tsay, P.K., Lin, S.H., Shau, W.Y., Chao, D.Y. (2001). The applications of capture-recapture models to epidemiological data. *Statistics in medicine* 20, 3123-3157.

déclarant une mortalité pour être en mesure d'estimer le nombre de personnes ayant utilisé les deux modalités de signalement (doublons). Or, le numéro de téléphone portable était le seul identifiant utilisable pour le dispositif de signalement par SMS et cette information n'était renseignée que pour 32 des 130 déclarations dans la base de données des déclarations auprès des DDTM, correspondant à 13 entreprises différentes sur les 34 ayant déclaré au moins une mortalité d'huîtres. Toutefois, parmi ces 13 entreprises avant déclaré au moins une mortalité d'huîtres auprès de la DDTM, trois ont également envoyé un SMS.

➤ Moules

Les 11 SMS signalant une mortalité de moules ont été envoyés par 6 numéros de téléphones différents, qui ont été assimilés à 6 personnes différentes. Chaque personne a envoyé entre 1 à 4 SMS, avec une movenne de 1,8 SMS.

Les 8 déclarations de mortalités ont été réalisées par 6 entreprises différentes. Quatre entreprises ont réalisé 1 seule déclaration et deux entreprises ont déclaré deux épisodes de mortalité.

Pour les mêmes raisons que pour les huîtres, il n'a pas été possible de réaliser une estimation formelle de la sensibilité de chacune des deux modalités de signalement des mortalités de moules. Toutefois, parmi les trois entreprises ayant déclaré au moins une mortalité de moules auprès de la DDTM et ayant renseigné un numéro de téléphone portable, deux ont également envoyé un SMS.

• Réactivité des modalités de signalement des mortalités de coquillages

> Huîtres creuses

Le délai moyen entre l'observation d'un épisode de mortalité d'huîtres et son signalement par SMS était de 12 jours (+/- 21 jours), avec un délai minimal de 0 jour et maximal de 59 jours (Figure 38). Le délai moyen entre l'observation d'un épisode de mortalité d'huîtres et sa déclaration à la DDTM était de 63 jours (+/- 60 jours), avec un délai minimal de 0 jour et maximal de 352 jours (Figure 38).

¹² Lupo, C., Osta Amigo, A., Mandard, Y.M., Peroz, C., Arzul, I., François, C., Garcia, C., Renault, T. (2012). Sensitivity of mortality reporting by the French oyster farmers. In: Proceedings of the 13th International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics, The Neetherlands, Maastricht, 419.

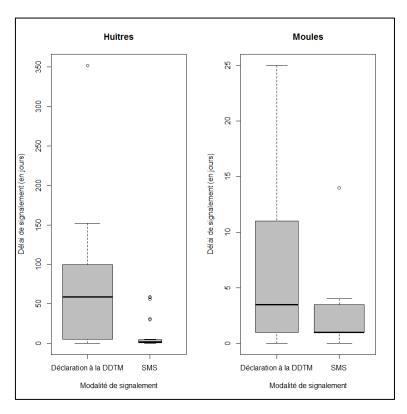


Figure 38. Distribution des délais de signalement par SMS et de déclaration à la DDTM des mortalités d'huîtres et de moules, Normandie, 2016

(le trait noir représente la médiane, la zone grisée représente l'intervalle entre le premier et troisième quartile, les traits horizontaux aux extrémités représentent l'intervalle de confiance à 95%)

➤ Moules

Le délai moyen entre l'observation d'un épisode de mortalité de moules et son signalement par SMS était de 3 jours (+/- 4 jours), avec un délai minimal de 0 jour et maximal de 14 jours (Figure 38). Le délai moyen entre l'observation d'un épisode de mortalité de moules et sa déclaration à la DDTM était de 7 jours (+/- 9 jours), avec un délai minimal de 0 jour et maximal de 25 jours (Figure 38).

• Orientation pour les prélèvements

Cette étape de l'analyse a été effectuée uniquement pour les huîtres creuses.

Un seul regroupement de signalements de mortalité d'huîtres par SMS statistiquement significatif a été détecté à partir du 18^{ème} cycle de marée (période du 7 au 23 septembre 2016) sur le secteur de Tocquaise (Tableau 14, Figure 39). Ce regroupement avait été identifié un mois plus tôt, au 16^{ème} cycle de marée (période du 9 au 25 août 2016) mais le résultat du test (risque relatif) n'était pas statistiquement significatif. Trois autres regroupements spatiotemporels ont été identifiés au cours de l'étude, mais pour aucun d'entre eux le test réalisé n'est passé en-dessous du seuil de signification statistique. Ces trois regroupements étaient centrés sur le secteur de Géfosse à partir du 11 juillet, incluant au cours du temps le secteur de Grandcamp à partir du 9 août, puis Utah Beach à partir du 7 octobre.

Tableau 14. Caractéristiques des regroupements spatiotemporels de signalements par SMS détectés (le regroupement statistiquement significatif est en gras, * : p<0,05)

Secteur	Rayon	Nb.	cas	Risque		e de détection	détection Période		
	(km)	observés	attendus	- relatif		initiale	statistiquement significative	début	fin
Géfosse	7,67	2	1,47	1,36	0,61	14	-	12	15
Géfosse- Grandcamp	7,92	3	2,64	1,14	0,99	16	-	12	17
Tocquaise	3,56	2	0,29	7,00	0,046*	16	18	13	25
Utah- Géfosse	7,67	4	3,12	1,28	0,99	20	-	20	24

Trois déclarations de mortalité de naissain auprès des DDTM ont donné lieu à une saisine du réseau REPAMO 2, se concluant par la réalisation de prélèvements d'animaux en vue d'analyses diagnostiques de laboratoire. Ces déclarations se situaient dans les secteurs de Gouville, Meuvaines et Saint-Vaast-la-Hougue (Figure 39). Chacun des deux sites du réseau RESCO2 a réalisé un prélèvement lors d'épisodes de mortalité de naissain au mois de juin 2016 (Figure 39).

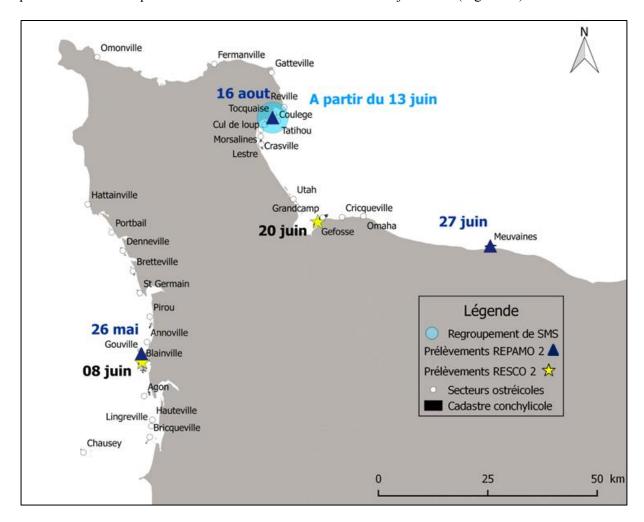


Figure 39. Localisation spatiotemporelle du regroupement de SMS et des prélèvements d'animaux réalisés suite aux déclarations de mortalités d'huîtres creuses auprès des DDTM (REPAMO 2) et dans le cadre du réseau RESCO 2

• Considérations techniques

Quelques problèmes d'ordre technique semblent utiles à recenser car ils pourraient contribuer à expliquer, en partie, la faible participation des ostréiculteurs à l'étude.

L'ordinateur sur lequel l'outil automatisé de collecte et d'analyse des SMS est installé n'était pas relié à un onduleur pendant toute la période d'étude. De fréquentes microcoupures de courant ont déconnecté le modem GSM qu'il a fallu redémarrer presque chaque jour pendant la majeure partie de l'étude. A partir du mois de septembre, une seule personne était en charge du suivi de l'étude (sur seulement une partie de son temps). Lors de ses absences (congés, missions), ce redémarrage de l'outil n'a pas pu être assuré quotidiennement. Par conséquent, les personnes ayant envoyé des SMS entre le 5 et le 20 septembre ont reçu un message automatique indiquant la prise en compte de leur signalement le 27 septembre. Au mois d'octobre, quatre SMS n'ont pas été collectés automatiquement par l'outil développé et ont dû être récupérés manuellement dans la carte SIM du modem. Ces personnes n'ont pas reçu de message accusant réception de leur signalement, la récupération des SMS bloqués dans la carte SIM ayant eu lieu en fin d'étude. A partir du mois de novembre, un onduleur a pu être affecté à l'ordinateur et plus aucune déconnection de l'outil n'a été recensée.

Une visionneuse permettant de visualiser le nombre de SMS reçus par secteur et les regroupements spatiotemporels de SMS détectés a été développée par l'Ifremer dans le cadre de l'infrastructure Sextant. Cette visionneuse était accessible sur le site internet du système de surveillance de la santé des mollusques marins et l'adresse sur site a été largement communiquée lors des opérations de lancement de l'étude. La mise à jour des cartes n'ayant pas pu être automatisée, elle était assez fastidieuse. La visionneuse a été désactivée à partir du mois de septembre, période à partir de laquelle une seule personne était en charge du suivi de l'étude et seulement sur une partie de son temps. La participation des ostréiculteurs à cette étude n'étant pas rémunérée, l'accès aux informations sous la forme d'une carte régulièrement mise à jour était supposé encourager leur motivation et leur engagement durable dans l'étude. Cette incitation n'a pas pu être assurée jusqu'à la fin de l'étude. Le développement d'un outil cartographique indépendant de l'infrastructure Sextant pourrait être envisagé pour une automatisation simple et flexible (par exemple avec l'application R Shiny ®2016 RStudio, Inc).

Bien que des consignes simples aient été précisées sur les prospectus de promotion de l'étude, sur les 38 SMS reçus, 14 ont dû être corrigés manuellement pour être intégrés dans la suite de l'analyse car ils présentaient un format incorrect : oubli de l'information relative à l'espèce de coquillage (10 SMS), oubli d'une virgule pour séparer les informations (5), oubli de l'information relative au lieu ou lieu non reconnu (3), utilisation du point au lieu de la virgule pour séparer les informations (2), deux signalements de mortalité dans un seul SMS (1). A chaque fois, un SMS standardisé a été renvoyé, détaillant la consigne correcte que pour une prise en compte dans les meilleurs délais d'un prochain signalement (par exemple : « Pour que votre signalement soit traité dans les meilleurs délais, il faut préciser l'ESPECE de coquillage. Pensez-y bien la prochaine fois. Merci encore pour votre participation. »). Aucun SMS « corrigé » n'a été reçu par la suite mais deux personnes sur les trois ayant envoyé plusieurs SMS à des périodes différentes et oublié une virgule pour séparer les informations lors du premier SMS, ont envoyé un SMS correctement formaté lors du signalement suivant.

L'adoption durable d'un nouveau comportement tel que le signalement des mortalités de coquillages par SMS nécessite des actions de communication fréquentes et répétées auprès des conchyliculteurs. Lors de cette étude, cette communication n'a pas pu être assurée de façon satisfaisante puisqu'une seule personne était en charge de l'étude seulement sur une partie de son temps pendant la majorité de la période d'expérimentation.

Synthèse

➤ Réactivité pour une détection précoce de mortalités inhabituelles

La modalité de signalement des mortalités d'huîtres par SMS a reçu une faible participation (19 personnes, 28 SMS) en comparaison avec le dispositif de déclaration auprès de la DDTM existant (34

personnes, 130 déclarations). Toutefois, les deux modalités ont principalement enregistré des mortalités de naissain. Le signalement d'une mortalité d'huîtres a été a été cinq fois plus réactif par SMS que par déclaration auprès de la DDTM. En effet, le délai de signalement moyen était de l'ordre de la durée d'un cycle de marée. De plus, le dernier SMS a été reçu le 21 octobre 2016 et bien que des mortalités aient été déclarées auprès des DDTM jusqu'à la fin du mois de décembre, aucune de ces mortalités n'avait été observée après le 21 octobre. Par ailleurs, après consultation des différents partenaires de l'étude, il semble qu'aucun épisode de mortalité d'huîtres creuses n'ait été observé ni rapporté après le 21 octobre 2016 par le réseau RESCO2, le SMEL ou le CRC Normandie/Mer du Nord.

La modalité de signalement des mortalités de moules par SMS a reçu une participation équivalente (6 personnes, 11 SMS) à celle du dispositif de déclaration auprès de la DDTM existant (6 personnes, 8 déclarations). Les deux modalités ont principalement enregistré des mortalités de moules adultes (de plus d'un an). Le signalement d'une mortalité a été deux fois plus réactif par SMS que par déclaration auprès de la DDTM, avec un délai de signalement moyen de trois jours.

Il semble que le signalement par SMS soit plus adapté à un signalement rapide des mortalités de coquillages que la déclaration auprès de la DDTM existante, que ce soit pour les huîtres creuses ou pour les moules. Bien que cette modalité ait enregistré une moindre participation de la part des ostréiculteurs, la répartition spatiale et temporelle des mortalités de coquillages signalées n'était pas très différente entre les deux modalités de signalement. En revanche, les mytiliculteurs ont semblé bien accueillir cette modalité de signalement par SMS, bien que les divergences de répartitions spatiales et temporelles entre les mortalités de moules signalées par les deux modalités soient un peu plus notables.

Possibilités d'orientation des interventions sur le terrain

Malgré une faible participation des ostréiculteurs à la modalité de signalement des mortalités d'huîtres par SMS, le système a permis de détecter un regroupement spatiotemporel de SMS sur le secteur de Tocquaise dès le 9 août 2016. Ce regroupement a été confirmé statistiquement à partir du 7 septembre. A la même période, le réseau REPAMO 2 a réalisé une intervention sur le même secteur (le 16 août).

Le seuil de signification statistique pour considérer la réalité épidémiologique d'un regroupement spatiotemporel de signalements de mortalité est peut-être à réévaluer pour une détection opérationnelle plus précoce. En effet, un autre regroupement centré sur le secteur de Géfosse a été détecté dès le 11 juillet sans qu'il ne devienne jamais statistiquement significatif, alors qu'un prélèvement du réseau RESCO 2 a eu lieu sur ce même secteur une quinzaine de jours auparavant. Une meilleure participation des conchyliculteurs à ce type d'étude permettrait également d'accroître la taille de l'échantillon, améliorant la détection des regroupements de cas. En effet, la méthode statistique de balayage de Kulldorff est connue pour être sensible au volume de signalements traité. Un tel objectif pourrait sans doute être atteint en améliorant la communication autour de cet outil.

> Conclusions

L'étude OPTINORM a montré en Normandie que la modalité de signalement des huîtres creuses par SMS associée à une analyse spatiotemporelle automatisée permettait (1) un signalement plus réactif des mortalités d'huîtres creuses et de moules que leur déclaration auprès de la DDTM, et (2) une orientation des interventions sur le terrain comparable pour les huîtres creuses. Une meilleure sensibilisation des ostréiculteurs et une adaptation du seuil de signification statistique à l'interprétation épidémiologique augmenteraient peut-être la précocité de la détection d'un regroupement spatiotemporel de signalements de mortalités d'huîtres pour orienter les interventions sur le terrain sur les risques d'émergence.

Sous réserve qu'un suivi opérationnel et technique soit assuré de façon continue pendant l'intégralité de l'étude, la généralisation à l'espèce moules de la recherche prospective de regroupements spatiotemporels de signalements de mortalités de coquillages par SMS afin de détecter précocement des mortalités de moules inhabituelles, pourrait peut-être connaître une bonne adhésion des mytiliculteurs en Normandie. Cette généralisation nécessiterait des échanges avec les acteurs

normands de la santé des moules, notamment pour identifier les données disponibles relatives à la distribution spatiotemporelle des populations de moules.

Depuis 2009, l'ensemble des acteurs locaux s'accorde pour observer des mortalités massives de naissain d'huître creuse sur la majorité des secteurs d'élevage de Basse-Normandie entre la fin du mois de mai et la fin du mois de juillet. Si les organismes pathogènes détectés lors de ces épisodes de mortalité sont enzootiques (tels que le virus OsHV-1) et que cette situation épidémiologique est devenue habituelle, le dispositif de détection d'une émergence devrait intégrer ces signaux pour ne pas déclencher d'alerte particulière. Une adaptation méthodologique pourrait être envisagée pour concentrer les interventions sur les phénomènes inhabituels, et non pas sur tous les regroupements spatiotemporels de mortalité.

6.2. Participation à l'élaboration d'un protocole standardisé d'investigation en cas de regroupement d'événements de mortalités de coquillages avéré

En mai 2016, des hausses de mortalités de plusieurs espèces de coquillages (moules, huîtres creuses et coques), dans plusieurs zones géographiques et sur une période de quatre semaines, ont alerté les trois réseaux du dispositif de surveillance de la santé des coquillages RESCO2, MYTILOBS 2 et REPAMO 2.

Dans le cadre de la demande d'appui scientifique et technique (AST) à l'Etat relatif à l'évolution de l'épidémiosurveillance de la santé des coquillages marins, l'Ifremer a organisé deux réunions visant à proposer un cadre organisationnel et méthodologique des interventions à l'Ifremer en cas de mortalités massives de coquillages, en s'appuyant sur le *Projet pour l'épidémiologie d'intervention à l'Anses*. Une démarche en 10 étapes a été proposée (Figure 39). Un retour d'expérience sur les épisodes de mortalités massives de moules ayant eu lieu en 2014 et en 2015 a permis d'illustrer certains points de la démarche.

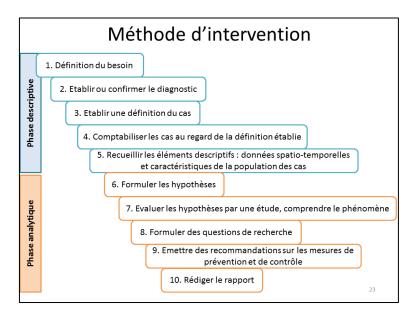


Figure 40. Proposition d'une démarche d'intervention à l'Ifremer en cas de mortalités massives de coquillages

L'application de ces étapes à l'alerte du mois de mai 2016 s'est arrêtée à l'étape 1. En effet, après avoir pris identifié les acteurs de la santé des mollusques marins concernés (DDTM, CNPMEM, CRPMEM, CNC, CRC, Associations, ...) et pris contact avec eux, il s'est avéré que la situation n'était pas perçue comme inhabituelle.

6.3. Transfert de la méthode développée au moyen de formations et d'un service d'assistance téléphonique

En l'absence d'identification des acteurs intéressés par la prise en charge future de la surveillance de la santé des mollusques marins dans le courant de l'année 2016, seul un guide d'installation et d'utilisation de l'outil automatisé de collecte et d'analyse des SMS a été rédigé. Ainsi, le service d'assistance téléphonique n'a pas été mis en œuvre et les supports de formation n'ont pas été préparés car ils devront être adaptés aux futurs utilisateurs.

6.4. Optimisation du diagnostic en bactériologie

Dans l'optique d'améliorer les données sur les bactéries marines et en particulier sur celles appartenant au genre *Vibrio* et présentant un intérêt dans le domaine de la pathologie des mollusques marins, le LGPMM dans le cadre de ses missions de LNR avait décidé en 2015 de commencer à développer sa propre base de données « MALDI-TOF » avec l'idée de la diffuser aux laboratoires agréés. Le laboratoire avait travaillé avec une société privé (SMALTIS) pour voir la faisabilité de la création de cette base de données *Vibrio*. Les premiers résultats étaient encourageants mais nécessitaient une meilleure standardisation dans la création des spectres de référence.

En 2016, avec le soutien des réseaux de surveillance, le LGPMM dans le cadre de ses missions de LNR a proposé ce projet à l'ADILVA (Association française des directeurs et cadres de laboratoires vétérinaires publics d'analyses) par le biais de trois laboratoires agréés adhérents.

Une convention est en cours d'élaboration entre l'Ifremer et l'ADILVA afin de définir les modalités de collaboration

Les trois laboratoires départementaux impliqués font partie d'un des réseaux de laboratoires agréés et sont :

- le laboratoire LASAT dans les Deux-Sèvres ;
- le laboratoire LABOCEA dans le Finistère :
- le laboratoire LABEO Manche dans la Manche.

L'objectif du projet est donc l'établissement d'une base de données d'identification des souches de *Vibrio* spp. potentiellement pathogènes pour les coquillages grâce à la technologie MALDI-TOF, cette base étant constituée à partir de spectres de référence (*Main Spectra Projection*, MSP). La base de données aura vocation à être diffusée à l'ensemble des laboratoires agréés en France mais également en Europe pour la recherche et l'identification de bactéries marines pathogènes du genre *Vibrio* chez les mollusques marins.

En 2016, 80 souches bactériennes de référence ont servi à initier cette base de données. Ces 80 souches ont été transmises aux trois laboratoires et appartenaient à 7 espèces différentes :

- Vibrio aestuarianus : 37 souches envoyées dont deux souches types
- *Vibrio neptunius*: 2 souches envoyées dont une souche type
- *Vibrio corallilyticus* : 7 souches envoyées dont une souche type
- *Vibrio bivalvicida* : 6 souches envoyées dont deux souches types
- *Vibrio europaeus* : 11 souches envoyées dont une souche type
- *Vibrio harveyi* : 11 souches envoyées dont une souche type
- Vibrio rotiferianus : 6 souches envoyées dont une souche type

Les premiers résultats obtenus par les laboratoires montrent qu'il serait possible de discriminer ces 7 espèces par MALDI-TOF.

Une fois l'analyse globale des spectres achevée, cette base sera transmise aux trois laboratoires pour validation. Cette validation se fera par l'envoi à l'aveugle, aux trois laboratoires, de souches bactériennes afin de vérifier si ces souches sont assignées à la bonne espèce après analyse par

MALDI-TOF. Selon les résultats, il pourra être envisagé d'augmenter le nombre de MSP pour certaines espèces afin d'augmenter la diversité bactérienne de l'espèce et augmenter ainsi la spécificité de la base de données.

En parallèle, le travail de création de MSP va se poursuivre en 2017 pour d'autres espèces bactériennes notamment appartenant au groupe *Splendidus*.

7. Perspectives 2017

L'année 2016 constitue la deuxième année de transition pour laquelle les discussions avec la DGAL ont permis un début d'évolution des modalités de surveillance de la santé des mollusques marins animées par l'Ifremer. Le dispositif hybride de surveillance mis en place en 2015, s'appuyant sur l'existant et intégrant des débuts d'évolution des modalités, a été reconduit en 2016.

Ainsi, la surveillance événementielle des mortalités de mollusques repose sur deux modalités de surveillance distinctes selon l'espèce de mollusques, s'appuyant sur des réseaux existants :

- la surveillance des mortalités observées sur des animaux sentinelles déployés sur les sites ateliers des réseaux Ifremer RESCO 2 pour l'huître creuse *Crassostrea gigas* et MYTILOBS 2 pour la moule bleue *Mytilus edulis* ;
- la surveillance s'appuyant sur les déclarations de mortalités de mollusques par les conchyliculteurs et pêcheurs à pied professionnels auprès des DDTM. Cette modalité s'applique également aux huîtres creuses et aux moules bleues lorsqu'il n'existe pas de site atelier RESCO 2 ou MYTILOBS 2 dans la zone où des mortalités sont déclarées par les conchyliculteurs ou pêcheurs à pied.

Ce fonctionnement permet de surveiller de façon non spécifique l'ensemble des maladies des mollusques marins qui se traduisent par des épisodes de mortalité, en optimisant les moyens humains et financiers. Cependant, elle n'apparaît pas optimale pour répondre aux objectifs de surveillance qui sont de détecter précocement des organismes pathogènes émergents et exotiques. Pour les réseaux RESCO 2 et MYTILOBS 2, il s'agit en particulier d'une modalité intermédiaire entre une surveillance programmée s'appuyant sur des animaux sentinelles et une surveillance événementielle. Cela met en particulier en exergue la difficulté de mettre en place un maillage exhaustif (nombre de sites ateliers des réseaux) à un coût supportable, et justifie donc l'intérêt d'une surveillance fondée sur les risques. Par ailleurs, une discordance de perception de la situation épidémiologique a été mise en évidence au mois de mai 2016 entre d'une part le dispositif de surveillance national reposant sur les trois réseaux RESCO 2, MYTILOBS 2 et REPAMO 2, et d'autre part les acteurs de la santé des mollusques marins concernés. Le dispositif de surveillance national actuel ne permet pas de disposer d'une vision de la situation comparable à celle de l'ensemble des acteurs de la santé des mollusques marins. L'intégration de ces acteurs dans le dispositif de surveillance de la santé des mollusques marins semble indispensable, notamment les conchyliculteurs et pêcheurs à pied professionnels qui sont les premiers à observer les phénomènes de mortalités sur leurs coquillages, et ce pour toutes les espèces de mollusques marins surveillées.

L'année 2016 a également permis de reconduire une surveillance programmée, ciblée et fondée sur les risques d'introduction et d'installation d'un organisme pathogène exotique, appliquée au parasite *Mikrocytos mackini* de l'huître creuse *Crassostrea gigas*, sur un site atelier RESCO 2 de Charente-Maritime. Ce couple organisme pathogène/espèce de coquillage a été choisi à titre d'exemple car il s'agit actuellement d'un danger sanitaire de première catégorie, pour lequel les mesures de surveillance, prévention ou lutte sont rendues obligatoires, et pour lequel il existe peu d'information. L'application fructueuse de cette modalité de surveillance à cet exemple a permis de démontrer sa robustesse et d'envisager sa généralisation à d'autres organismes pathogènes des mollusques marins.

Dans le cadre du soutien scientifique et technique de l'évolution de la surveillance événementielle, l'année 2016 a également permis de poursuivre la démarche relative aux développements méthodologiques en lien avec la surveillance événementielle des mortalités de mollusques marins. Une modalité de signalement des mortalités de coquillages par SMS, complétée par la recherche prospective de regroupements spatiotemporels de signalements de mortalités d'huîtres creuses a été expérimentée en Normandie, en collaboration avec tous les acteurs de la santé des mollusques marins. Cette étude reposait sur la participation des conchyliculteurs. Elle a montré que la modalité de signalement des mortalités de coquillages par SMS associée à une analyse spatiotemporelle automatisée permettait (1) un signalement plus réactif des mortalités d'huîtres creuses et de moules que leur déclaration auprès de la DDTM, et (2) une orientation des interventions sur le terrain comparables pour les huîtres creuses. Une meilleure sensibilisation des ostréiculteurs et une proposition d'adaptation méthodologique augmenteraient peut-être la précocité de la détection d'un

regroupement spatiotemporel de signalements de mortalités d'huîtres pour orienter les interventions sur le terrain sur les risques d'émergence. Cette modalité de surveillance événementielle réactive et reposant sur les conchyliculteurs nécessite un investissement conséquent en termes d'animation et de moyens humains pour pouvoir maintenir la participation des conchyliculteurs sur le long terme. Des écueils ont été identifiés et des solutions ont été proposées si une généralisation de cette modalité de surveillance fondée sur les risques spatiotemporels d'émergence devait être proposée en Normandie à d'autres espèces de coquillages que l'huître creuse ou dans d'autres bassins de production conchylicole.

En 2016, une démarche visant à créer un outil diagnostique en bactériologie non spécifique par MALDI-TOF a été initiée afin de détecter des bactéries marines d'intérêt en pathologie des mollusques marins.

En 2017, la poursuite de telles démarches méthodologiques par l'Ifremer sera conditionnée à sa validation par le comité de pilotage national des actions sanitaires conchylicoles (COPAS). En effet, l'ensemble des propositions méthodologiques d'évolution des modalités de surveillance devraient s'inscrire dans le *Plan stratégique pour une filière conchylicole plus résiliente aux risques sanitaires*.

Annexe 1 : Infections réglementées en 2016

Infections listées par la réglementation internationale : code sanitaire pour les animaux aquatiques OIE 2016	Espèces de mollusques concernées
Infection à Bonamia ostreae	Ostrea edulis, O. angasi, O. puelchana, O. chilensis, O. denselammellosa, Crassostrea ariakensis
Infection à Bonamia exitiosa	Ostrea chilensis, O. angasi , O. edulis
Infection à Marteilia refringens	Ostrea edulis, O. angasi, O. puelchana, O. chilensis, Mytilus edulis, M. galloprovincialis
Infection à Perkinsus marinus	Crassostrea gigas, Crassostrea virginica, C. ariakensis, C. rhizophorae, C. corteziensis, Mya arenaria, Macoma balthica
Infection à Perkinsus olseni	Austrovenus stutchburyi, Tridacna maxima, Tridacna crocea, Pitar rostrata, Ruditapes philippinarum, R. decussatus, Haliotis rubra, H. laevigata, H. cyclobates, H. scalaris, Anadara trapezia, Crassostrea gigas, C. ariakensis, C. sikamea, Pinctada margaritifera, P. martensii
Infection à Xenohaliotis californiensis	Haliotis cracherodii, H. sorenseni, H. rufescens, H. tuberculata, H. corrugata, H. fulgens, H. wallalensis, H. discus-hannai, H. diversicolor supertexta
Infection par l'herpès virus de l'ormeau	Haliotis diversicolor, Haliotis laevegata, H. rubra, hybrides H. laevegata x H. rubra

Infections listées par la réglementation française (AM 29 juillet 2013) et européenne (Directive 2006/88/CE)	Espèces hôtes <u>sensibles</u> (Directive 2006/88/CE)
Non exotiques = endémiques à l'Europe	
Infection à Marteilia refringens	Huître plate australienne (<i>Ostrea angasi</i>), huître plate du Chili (<i>O. chilensis</i>), huître plate européenne (<i>O. edulis</i>), huître plate d'Argentine (<i>O. puelchana</i>), moule commune (<i>Mytilus edulis</i>) et moule méditerranéenne (<i>M. galloprovincialis</i>)
Infection à Bonamia ostreae	Huître plate australienne (<i>Ostrea angasi</i>), huître plate du Chili (<i>O. chilensis</i>), huître plate du Pacifique (<i>O. conchaphila</i>), huître asiatique (<i>O. denselammellosa</i>), huître plate européenne (<i>O. edulis</i>) et huître plate d'Argentine (<i>O. puelchana</i>)
Exotiques à l'Europe (selon la réglementation)	
Infection à Bonamia exitiosa	Huître plate australienne (<i>Ostrea angasi</i>) et huître plate du Chili (<i>O. chilensis</i>)
Infection à Perkinsus marinus	Huître japonaise (Crassostrea gigas) et huître de l'Atlantique (C. virginica)
Infection à Mikrocytos mackini	Huître japonaise (<i>Crassostrea gigas</i>), huître de l'Atlantique (<i>C. virginica</i>), huître plate du Pacifique (<i>Ostrea conchaphila</i>) et huître plate européenne (<i>O. edulis</i>)

Annexe 2 : Agents Ifremer impliqués dans le dispositif de surveillance de la santé des mollusques marins

Groupe de coordination de la santé des mollusques marins (COSMO)



Elodie Fleury Coordonnatrice Resco 2

efleury@ifremer.fr

Laboratoire de Physiologie des Invertébrés Centre Bretagne ZI de la Pointe du Diable CS 10070 29280 Plouzané



Julien NormandCoordinateur Mytilobs 2

julien.normand@ifremer.fr

LER de Normandie Station de Port-en-Bessin Avenue Général de Gaulle BP 32 14520 Port-en-Bessin



Axel Osta Amigo Coordinateur Repamo 2

corepamo@listes.ifremer.fr



Céline GarciaResponsable du Laboratoire National de Référence, suppléante du Responsable Qualité, analyste en

anatomo-pathologie cgarcia@ifremer.fr 8

Coralie Lupo Epidémiologiste

clupo@ifremer.fr

IFREMER Laboratoire de Génétique et Pathologie des Mollusques Marins Avenue Mus de Loup 17390 La Tremblade

IFREMER Laboratoire de Génétique et Pathologie des Mollusques Marins, avenue Mus de Loup 17390 La Tremblade



Christian Béchemin
Responsable du LGPMM
christian.bechemin@ifremer.fr



Bruno Chollet

Analyste en anatomo-pathologie
Bactériologie,
Biologie moléculaire
bruno.chollet@ifremer.fr



Christine Dubreuil

Analyste en anatomo-pathologie,
Bactériologie,
Biologie moléculaire
christine.dubreuil@ifremer.fr



Mathilde Noyer
Biologie moléculaire
Bactériologie
mathilde.noyer@ifremer.fr



Lydie Canier
Biologie moléculaire
Coordination Repamo 2
lydie.canier@ifremer.fr



Cyrille François
Pathologie générale
Coordination Repamo 2
cyrille.francois@ifremer.fr



bldutta@ifremer.fr

Yoann Godfrin
Bactériologie
Biologie moléculaire
yoann.godfrin@ifremer.fr



Benjamin Morga
Virologie
Biologie moléculaire
benjamin.morga@ifremer.fr



Marie-Agnès Travers

Bactériologie

Biologie moléculaire

marie.agnes.travers@ifremer.fr



Isabelle Arzul
Parasitologie
Biologie moléculaire
isabelle.arzul@ifremer.fr



Nicole Faury
Pathologie générale
Biologie moléculaire
nicole.faury@ifremer.fr



Delphine Tourbiez
Pathologie générale
Biologie moléculaire
delphine.tourbiez@ifremer.fr



Cyrielle Lecadet
Pathologie générale
Biologie moléculaire
Cyrielle.lecadet@ifremer.fr

Liste des correspondants des réseaux

LER de Boulogne- sur-Mer Alain LEFEBVRE Centre Manche Mer du Nord 150, quai Gambette BP 699 62321 Boulogne-sur-Mer		Françoise VERIN francoise.verin@ifremer.fr 03 21 99 56 00 REPAMO 2	Remy CORDIER remy.cordier@ifremer.fr 03 21 99 56 22 REPAMO 2	
LER de Normandie Marie-Pierre HALM Station de Port-en-Bessin Avenue du Général de Gaulle BP 32 14520 Port-en-Bessin	Wilfried LOUIS wilfried.louis@ifremer.fr 02 31 51 56 16 REPAMO 2, RESCO 2 & MYTILOBS 2	Julien NORMAND julien.normand@ifremer.fr 02 31 51 56 34 RESCO 2 & MYTILOBS 2	Charlotte MARY charlotte.mary@ifremer.fr 02 31 51 56 22 REPAMO 2 & RESCO 2	
LER de Bretagne Nord Claire ROLLET Station de Dinard 38 rue du Port Blanc BP 70134 35801 Dinard Cedex	Julia PENOT julia.penot @ifremer.fr 02 23 18 58 52 RESCO 2	Aurore LE JOLIVET aurore.le.jolivet@ifremer.fr MYTILOBS 2	Françoise DAGAULT francoise.dagault@ifremer.fr 02 23 18 58 55 MYTILOBS 2	Julien CHEVE julien.cheve@ifremer.fr 02 23 18 58 51 REPAMO 2 & RESCO 2

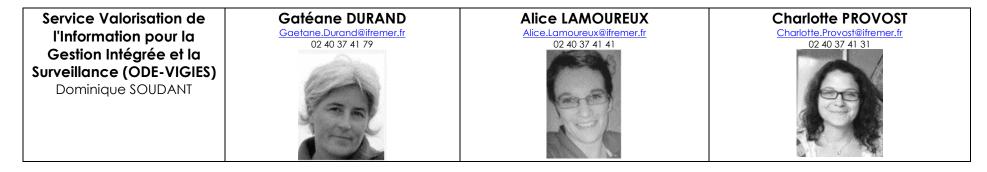
LER de Bretagne Occidentale Claude LE BEC	Centre Bretagne ZI de la Pointe du Diable CS 10070 29280 Plouzané	Luc LEBRUN luc.lebrun@ifremer.fr 02 98 22 43 38 REPAMO 2 & RESCO 2	Station de Concarneau 13 rue de Kérose 29187 Concarneau	Dominique LE GAL dominique.le.gal@ifremer.fr 02 98 10 42 92 REPAMO 2 & RESCO 2
Laboratoire de Physiologie des Invertébrés Elodie FLEURY	Centre Bretagne ZI de la Pointe du Diable CS 10070 29280 Plouzané	Valérian LE ROY valerian.le.roy@ifremer.fr 02 98 22 43 00 RESCO 2	Marine SALOU Marine.Salou@ifremer.fr 02 98 22 48 41 RESCO 2	
	Station d'Argenton 11 Presqu'île du vivier 29840 Argenton en Landunvez	Isabelle QUEAU isabelle.queau@ifremer.fr 02 98 89 29 45 RESCO 2	Stéphane POUVREAU stephane.pouvreau@ifremer.fr 02 98 89 29 43 RESCO 2	Sébastien PETTON Sebastien.petton@ifremer.fr 02 98 89 29 53 RESCO 2

LER de Bretagne Morbihan-Pays de Loire Nathalie COCHENNEC- LAUREAU Station de La Trinité sur mer 12, rue des Résistants BP 86 56470 La Trinité-sur-Mer	Jean-François BOUGET Jean-Francois.Bouget@ifremer.fr 02 97 30 19 52 REPAMO 2, RESCO 2 & MYTILOBS 2	Nathalie COCHENNEC- LAUREAU Nathalie.Cochennec@ifremer.fr 02 97 30 19 18 REPAMO 2	
LSPC de Bouin Christophe STAVRAKAKIS Station de Bouin Polder des Champs 85230 Bouin	Hubert PALVADEAU hubert.palvadeau@ifremer.fr 02 51 68 91 72 REPAMO 2, RESCO 2 & MYTILOBS 2		
LER des Pertuis Charentais Christian BECHEMIN Station de La Rochelle Place Gaby Coll BP 7 17317 L'Houmeau	James GRIZON james.grizon@ifremer.fr 05 46 50 06 12 REPAMO 2, RESCO 2 & MYTILOBS 2	Jean-Michel CHABIRAND jean.michel.chabirand@ifremer.fr 05 46 50 06 93 REPAMO 2 & RESCO 2	

Station de La Tremblade Avenue Mus de Loup 17390 La Tremblade	Stéphane ROBERT stephane.robert@ifremer.fr 05 46 76 26 22 REPAMO 2 & MYTILOBS 2	Philippe GEAIRON Philippe.Geairon@ifremer.fr 05 46 76 26 24 RESCO 2	Jean-François PEPIN jean.francois.pepin@ifremer.fr 05 46 76 26 20 RESCO 2	Jean-Luc SEUGNET jean.luc.seugnet@ifremer.fr 05 46 76 26 13 REPAMO 2, RESCO 2 & MYTILOBS 2
LER d'Arcachon Hélène OGER- JEANNERET Station d'Arcachon Quai du Cdt Silhouette 33120 Arcachon		Florence D'AMICO florence.d.amico@ifremer.fr 05 57 72 29 94 REPAMO 2 RESCO 2	Danièle MAURER daniele.maurer@ifremer.fr 05 57 72 29 89 REPAMO 2 RESCO 2	
LER Languedoc Roussillon Jacques DIETRICH Station de Sète Avenue Jean Monnet CS 30171 34203 Sète Cedex		Patrik LE GALL patrik.le.gall@ifremer.fr 04 99 57 32 84 REPAMO 2 & RESCO 2	Serge MORTREUX serge.mortreux@ifremer.fr 04 99 57 32 90 REPAMO 2 & RESCO 2	

LER Provence-Azur- Corse Christophe BRACH- PAPA	Centre Méditerranée Zone Portuaire de Brégaillon CS20 330 83507 La Seyne-sur-Mer Cedex	Marc BOUCHOUCHA marc.bouchoucha@ifremer.fr 04 34 30 49 25 REPAMO 2		
	Station de Corse Immeuble Agostini Z.I. Furiani20600 Bastia	Yoann BALDI yoann.baldi@ifremer.fr 04 95 38 00 24 REPAMO 2	Valérie ORSONI valerie.orsoni@ifremer.fr 04 95 38 95 12 REPAMO 2	

Gestion des bases de données QUADRIGE et REPAMO



Annexe 3 : Laboratoires agréés

Cette liste est également disponible à l'adresse : http://agriculture.gouv.fr/laboratoires-agrees-et-methodes-officielles-en-sante-animale

Recherche de Vibrions et d'OsHV-1 chez les mollusques marins :

Département	Laboratoire	Adresse	Tel	Mel
Hérault - 34	LDV34	306, rue de Croix Las Cazes CS 69013 34967 Montpellier Cedex 2	04 67 10 17 17	ldv34@cg34.fr nkeck@cg34.fr rdedet@herault.fr
Gironde – 33	LDA33	Domaine de la Grande Ferrade BP 81 33883 Villenave d'Ornon Cedex	05 56 23 94 83	lda33@cg33.fr j.cans@cg33.fr s.fimbeau@gironde.fr v.jacquet@gironde.fr
Deux Sèvres - 79	LASAT	210, av. de la venise Verte 79000 Niort	05 49 17 10 52	lasat@lasat.fr marion.sibelet@lasat.fr cyril.maingourd@lasat.fr marie.sauzeau@gironde.fr
Vendée - 85	LEAV	Rond-Point Georges Duval BP 802 85021 La Roche sur Yon Cede	02 51 24 51 51	labo@vendee.fr marie-agnes.pele@vendee.fr marie-francoise.menard@vendee.fr
Morbihan - 56	LDA56	5 rue Denis Papin BP 20080 56892 Saint-Avé Cedex	02 97 46 68 79	lda56.pcr@cg56.fr yves.corfmat@morbihan.fr biologie-m@morbihan.fr
Finistère - 29	LABOCEA	ZA de Créac'h-Gwen 22 Avenue de la Plage des Gueux CS 13 031 29334 Quimper Cedex	02 98 10 28 88	contact@idhesa.fr ghislaine.le-gall@idhesa.fr sandrine.kerninon@labocea.fr
Manche - 50	LABEO Manche	1352 avenue de Paris, CS 33608 50008 Saint Lô Cedex	02 33 75 63 00	Ida50@cg50.fr fabienne.benoit@manche.fr delphine.esperet@laboratoire-labeo.fr nadege.daguier@laboratoire-labeo.fr
Calvados - 14	LABEO Franck Duncombe	1, route de Rosel Saint-Contest 14053 Caen Cedex 4	02 31 47 19 19	ldfd14@calvados.fr m.houssin@calvados.fr virginie.dieuleveux@laboratoire- labeo.fr

Recherche par histologie d'agents infectieux réglementés :

Département	Laboratoire	Adresse	Tel	Mel
Hérault - 34	Histalim	126 rue Emile Baudot 34000 Montpellier	04 67 71 27 65	b.andre@histalim.com nrieu@histalim.com
Côtes d'Armor - 22	Labocea, Service Anatomie Pathologie	5-7 rue du Sabot 22440 Ploufragan	02 96 01 37 32	Nadia.Amenna@labocea.fr eric.guilloux@labocea.fr marie-claude.legagnoux@labocea.fr

Annexe 4 : Valorisations scientifiques à partir des données et des organismes pathogènes collectés dans le cadre du dispositif national de surveillance de la santé des mollusques marins en 2016

Publications internationales dans des revues scientifiques avec comité à de lecture :

Ben Cheikh Yosra, Travers Marie-Agnes, Morga Benjamin, Godfrin Yoann, Rioult Damien, Le Foll Franck (2016). First evidence for a Vibrio strain pathogenic to Mytilus edulis altering hemocyte immune capacities. *Developmental And Comparative Immunology*, 57, 107-119. Publisher's official version: http://doi.org/10.1016/j.dci.2015.12.014

Lupo Coralie, Prou Jean (2016). Enhanced surveillance of shellfish mortality to improve early detection and investigation of outbreaks of exotic or emerging infectious diseases: An example of a mass mortality outbreak of mussels, France 2014. *Preventive Veterinary Medicine*, 132, 57-66. http://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.08.007

Thomas Yoann, Pouvreau Stéphane, Alunno-Bruscia Marianne, Barillé Laurent, Gohin Francis, Bryère Philippe, Gernez Pierre (2015). Global change and climate-driven invasion of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) along European coasts: a bioenergetics modelling approach. *Journal Of Biogeography*, 43(3), 568-579. http://doi.org/10.1111/jbi.12665

Communications orales lors de congrès scientifiques :

Arzul Isabelle, Osta Amigo Axel, Lupo Coralie (2016). Mollusc diseases situation in Europe: what's new since 2008? *AquaEpi I-2016 - 1st scientific conference in Aquatic Animal Epidemiology*, September 20-22, 2016, Oslo, Norway. http://doi.org/10.3389/conf.FVETS.2016.02.00054

Fleury Elodie, Normand Julien, Riou Philippe, Cochennec Nathalie (2016). Le réseau national d'observations conchylicoles RESCO : du suivi spatio-temporel des mortalités à l'évaluation de la qualité des écosystèmes ostréicoles. *Colloque LITEAU, Observation et recherche en appui aux politiques du littoral et de la mer*, 14-15 janvier 2016, Brest, France.

Garcia Céline, Osta Amigo Axel, Fleury Elodie, Robert Stephane, Canier Lydie, Lupo Coralie (2016). Epidemiological Report France 2015. *Annual Meeting of the National Reference Laboratories for Mollusc Diseases*, March 22, 2016, Nantes, France.

Garcia Celine, Osta Amigo Axel, Francois Cyrille, Arzul Isabelle, Travers Marie-Agnes, Morga Benjamin, Lupo Coralie, Robert Stephane, Canier Lydie, Chollet Bruno, Dubreuil Christine, Baillon Laury, Godfrin Yoann, Tourbiez Delphine, Haffner Philippe, Dechamps Lucie (2016). Mortality of mussels in France. *Annual Meeting of the National Reference Laboratories for Mollusc Diseases*, March 22, 2016, Nantes, France.

Lupo Coralie, Dorant Yann, Le Moine Olivier, Geairon Philippe, Grizon James, Pepin Jean-Francois, Fleury Elodie, Garcia Celine, Arzul Isabelle (2016). Identification of suitable areas for pathogen introduction and establishment to inform the design of risk-based surveillance for oyster diseases: the example of Mikrocytos mackini in the Charente-Maritime bay, France. *AquaEpi I-2016 - 1st scientific conference in Aquatic Animal Epidemiology*, September 20-22, 2016, Oslo, Norway.: http://doi.org/10.3389/conf.FVETS.2016.02.00043

Lupo Coralie, Prou Jean (2016). Enhanced surveillance of mussel mortality to improve early detection and investigation of outbreaks of infectious diseases. *Annual Meeting of the National Reference Laboratories for Mollusc Diseases*, March 22, 2016, Nantes, France.

Osta Amigo Axel, Dutta Bhagat Lal, Lupo Coralie (2016). A tool for a risk-based investigation of mortality outbreaks. *Annual Meeting of the National Reference Laboratories for Mollusc Diseases*, March 22, 2016, Nantes, France.

Travers Marie-Agnes, Morga Benjamin, Godfrin Yoann, Garrigues Manon, Garcia Celine, Dubreuil Christine, Tourbiez Delphine, Chollet Bruno, Osta Amigo Axel, Lupo Coralie, Renault Tristan (2016). A bacterial suspect implicated in *M. edulis* mortalities in France? *AMMR2016 - 1st International Symposium on Advances in Marine Mussel Research*. 26-27 October 2016, University of Vigo, Spain.

Communications orales lors de Journées techniques :

Osta Amigo Axel, Dutta Bhagat Lal, Lupo Coralie, (2016). Proposition d'un outil d'aide à l'investigation. *Journée de la Santé des mollusques marins et Journées de l'Observation conchylicole*. 02 au 04 février 2016, Ifremer, Nantes, France.

Osta Amigo Axel, Dutta Bhagat Lal, Lupo Coralie (2016). Restitution des résultats de l'analyse des données de déclaration de mortalités 2013 & Présentation d'un outil d'aide à l'investigation en cas de mortalité. Groupe de Travail « Mollusques ». 13 Avril 2016, CRC Bretagne Nord - Morlaix, France.

Renault Tristan, Morga Benjamin (2016). VIVALDI - OsHV-1 diversity. Workshop on OsHV-1 diversity and interactions between OsHV-1, *C. gigas* and the environment. 5 décembre 2016, Brest

Robert Stéphane, Soletchnik Patrick, Pepin Jean-Francois, Le Moine Olivier, Guesdon Stephane, Travers Marie-Agnes, Garcia Celine, Degremont Lionel, Benabdelmouna Abdellah, Osta Amigo Axel, Bierne Nicolas (2016). Mortalités massives de moules bleues (Mytilus edulis) sur les côtes françaises (2014-2016): Eléments de connaissances (mai 2016). Rencontre avec des professionnels de la mytiliculture à Ifremer la Rochelle, le 20 mai 2016.

Articles de presse

Signaler les mortalités par SMS (Actualité), Cultures Marines n°297, juin 2016, p15

Annexe 5 : Protocole de recherche de regroupements spatio-temporels de signalements de mortalités d'huîtres creuses réalisé dans le cadre du GT « Mollusques » en 2014

Surveillance épidémiologique des déclarations de mortalité et investigation d'agrégats spatiotemporels en conchyliculture - Principes généraux et données nécessaires

<u>Préambule</u>: Ce document est un projet de plan d'analyse des données de déclaration de hausses de mortalités d'huîtres creuses. Du fait de l'existence en France d'un système formalisé de recueil de données de hausses de mortalité d'huîtres creuses, il est envisageable d'exploiter ces données afin de contribuer à une surveillance épidémiologique de la mortalité des huîtres creuses, selon une approche systématique. Il s'agit à ce stade d'un document de travail visant à décrire les principes généraux d'une exploitation possible de ces données de déclaration de mortalité. Il ne s'agit ni d'un guide ni de recommandations méthodologiques.

La surveillance épidémiologique des mortalités de coquillages comporte deux volets, qui correspondent à deux objectifs bien distincts et qui nécessitent la mise en œuvre de méthodes différentes :

- 1. Détecter le plus précocement possible une infection exotique ou émergente provoquant des mortalités de coquillages : recherche d'agrégat spatio-temporel de déclarations de mortalité, destinée à raisonner les investigations sur le terrain visant à vérifier l'existence d'un excès de cas de mortalité et le cas échéant à en identifier la cause ;
- 2. **Décrire l'évolution de la mortalité** au cours du temps : analyse descriptive de la mortalité, permettant la connaissance de la fréquence des mortalités de coquillages, selon les espèces, les classes d'âge, les zones géographiques, ainsi que l'évolution dans le temps de ces fréquences et la recherche de l'existence éventuelle d'un excès de mortalité par comparaison à une population de référence adéquate.

1. Objectifs du document

Le présent document est relatif à l'objectif de **détection précoce d'une infection exotique/émergente**. La mise en œuvre d'une surveillance de la mortalité des coquillages et la réalisation d'investigation d'agrégats implique deux étapes successives :

- le recueil des données nécessaires à l'analyse de la mortalité et à l'investigation d'agrégats ;
- l'analyse épidémiologique proprement dite.

La première étape de recueil de données peut (devrait) se faire au niveau de chaque entreprise ostréicole et/ou Comité Régional Conchylicole. Elle nécessite des moyens simples de mesures et mobilise une observation attentive et méthodique par les acteurs de terrain. La seconde étape, qui concerne l'analyse épidémiologique, met en jeu des compétences et des moyens spécialisés.

La seconde étape d'analyse épidémiologique des données sera illustrée par des exemples d'analyses rétrospectives des déclarations de mortalité d'huîtres creuses dans les Pertuis Charentais et en Bretagne Nord.

2. La détection d'agrégats spatio-temporels (ou clusters) de cas de mortalité

Différents acteurs de la conchyliculture font souvent état de cas de mortalité qui leur semblent excessifs dans la population conchylicole de leur bassin, sans pour autant pourvoir les objectiver aisément.

Le regroupement dans le temps et l'espace de cas de maladies, de symptômes ou d'événements de santé au sein d'une population localisée est dénommée « agrégat spatio-temporel » ou « *cluster* » en anglais.

Le principe scientifique directeur de l'investigation d'un agrégat réside dans la notion que s'il y a un regroupement de cas (ou « foyer »), c'est que les animaux atteints partagent une ou plusieurs expositions à une cause commune (par exemple une infection contagieuse). Dès lors, les objectifs en termes d'épidémiosurveillance sont de déterminer :

- s'il existe effectivement un excès de cas dans la population observée ;
- et si cet excès existe, de déterminer s'il existe une ou plusieurs causes de regroupement de cas, autres que le hasard.

En d'autres termes, il s'agit de décrire l'hétérogénéité spatio-temporelle des données et de rechercher les mécanismes qui l'ont générée.

2.1. Existe-t-il un excès de cas?

L'observation d'un agrégat de cas de mortalité doit être interprétée avec précaution. Pris isolément, le nombre de cas peut paraître en excès alors qu'il est peut-être dû au hasard. La vérification de la réalité d'un excès soupçonné fait appel à des méthodes épidémiologiques et statistiques qui peuvent être plus ou moins complexes selon la situation. Quelle que soit la méthode utilisée, un certain nombre d'étapes sont indispensables à l'étude statistique des données qui permettront de vérifier que l'excès de cas supposé est bien réel.

2.1.1. Principe de la démarche

Il s'agit de **comparer** statistiquement le nombre de cas de mortalité observé au nombre de cas de mortalité attendu si la population avait la même fréquence de mortalité qu'une **population de référence** non exposée à la source présumée de l'agrégat (par exemple une infection par un organisme pathogène).

2.1.2. Définition de la fenêtre spatio-temporelle de recherche

Un excès de mortalité est l'observation d'un nombre plus élevé que celui attendu dans un espace et un temps déterminé par rapport à une fréquence de référence. Afin de juger de la réalité de l'excès, il est indispensable de définir une fenêtre spatio-temporelle à l'agrégat, donc de sélectionner les critères qui vont permettre le choix de cette fenêtre.

Cette fenêtre spatio-temporelle peut être définie en rapport avec la dimension temporelle et spatiale des expositions à risque :

- → Dimension temporelle : **14 jours** pour représenter un cycle de marée. En effet, dans certains cas l'observation des animaux, et donc la détection d'une hausse de mortalité, est conditionnée au cycle de marée ;
- Dimension spatiale : le **banc d'élevage**, sous l'hypothèse que ces unités du domaine public maritime / cadastre conchylicole ont été définies selon des critères hydrodynamiques et biologiques.

2.1.3. Traitement statistique des données

La **méthode de balayage de Kulldorff** (1) sera appliquée afin de rechercher et caractériser des agrégats spatiotemporels de cas de mortalité. Cette approche cherche à regrouper les différentes unités spatio-temporelles voisines en agrégats potentiels à l'aide d'une fenêtre de taille variable se déplaçant sur les plans géographique et temporel de la zone étudiée. Sur une grille régulière recouvrant la zone d'étude, l'algorithme utilise des fenêtres cylindriques superposées, centrées sur chaque point de la grille et de rayon variables dépendants de l'espacement de la grille. Les agrégats potentiels sont définis pour un rayon variant de zéro jusqu'à une limite prédéfinie, jusqu'à l'inclusion de 50% du nombre d'unités spatiales. La hauteur du cylindre représente l'unité temporelle de recherche (14 jours). A la place d'une grille prédéterminée, il est possible de centrer les fenêtres sur les unités spatiales observées (les bancs d'élevage), amenant à balayer la zone géographique à l'aide d'une grille irrégulière. Les différentes fenêtres cylindriques ainsi construites (de centre et rayon variables et de hauteur fixée) déterminent l'ensemble des agrégats potentiels.

Puis la **statistique de Kulldorff**, fondée sur le rapport de vraisemblance, est estimée pour chaque agrégat potentiel, s'appuyant sur les effectifs théoriques et observés dans la fenêtre de recherche et à l'extérieur de cette fenêtre. Les effectifs théoriques sont estimés selon l'hypothèse nulle du risque constant. La distribution de la statistique de Kulldorff n'étant pas connue, l'inférence de Monte-Carlo permet de tester l'hypothèse nulle. Il s'agit de simuler, suivant l'hypothèse nulle, des cas dans chaque unité spatio-temporelle, ce qui permet de construire la distribution empirique de la statistique de Kulldorff sous l'hypothèse nulle. Le degré de signification, ainsi obtenu, correspond à la probabilité d'observer une statistique au moins aussi extrême que la zone d'étude. Un agrégat est identifié si un excès de cas est observé dans une fenêtre donnée.

Les analyses statistiques sont conduites en utilisant le logiciel gratuit SaTScan© 9.2.

2.1.4. Données nécessaires

Afin de calculer le risque en population, il convient de disposer de données qui permettent de décrire et dénombrer les cas de mortalité dans la zone et période d'étude et de disposer de valeurs comparatives de référence.

• Données disponibles relatives aux cas de mortalité :

Pour décrire les cas de mortalité de coquillages, les données disponibles sont les déclarations de hausses de mortalité effectuées par les conchyliculteurs auprès de l'Autorité compétente locale (Direction départementale des territoires et de la mer, DDTM) et les déclarations de bilan des pertes réalisées par les professionnels auprès des CRC/CNC. A ce jour, le principe de la surveillance événementielle repose sur la transmission individuelle de données par tout conchyliculteur qui observe une hausse de mortalité sur sa production de coquillages. L'unité d'observation peut varier entre les conchyliculteurs et les régions géographiques : lot (différentes définitions), concession...

Pour permettre une surveillance fiable de la mortalité des coquillages dans le temps et dans l'espace, il est nécessaire que ce dispositif soit sensible (i.e. représente une grande partie de la profession voire soit exhaustif) et réactif (i.e. chaque conchyliculteur ayant observé une hausse de mortalité la déclare très rapidement à la DDTM).

Pour chacune de ces déclarations, un certain nombre d'informations sont indispensables et doivent être incluses dans le fichier.

DONNEES INDISPENSABLES A INCLURE POUR CHAQUE DECLARATION POUR L'ANALYSE DE LA MORTALITE :

- -date d'observation de la mortalité (jour, mois, année)
- -espèce de coquillage
- -classe d'âge (naissain, demi-élevage, élevage)
- -lieu (numéro de concession) ou coordonnées géographiques si système de géolocalisation de l'information intégré dans l'outil de collecte des déclarations

• Traitement des données de cas de mortalité préliminaire à l'analyse :

- Anonymisation des données (les noms et coordonnées du déclarant ne sont pas nécessaires au traitement de l'information).
- → La date d'observation de la hausse de mortalité n'est pas souvent la date réelle de survenue de l'événement. Comme dans certains cas, l'observation des animaux est conditionnée au cycle de marée, une agrégation des dates d'observation de mortalité est réalisée, selon un pas de temps de 14 jours pour représenter un cycle de marée.
- → Les coordonnées géographiques des concessions sont obtenues à partir du cadastre conchylicole fourni par les DDTM/DPMA.
- Les classes d'âge utilisées sont : naissain (<1 été) ; demi-élevage (entre 1 et 2 étés) ; adultes (plus de 2 étés).

Ainsi, la **définition du cas de mortalité** pour les besoins de l'analyse épidémiologique est : « toute déclaration d'une hausse de mortalité de coquillages survenue dans une unité épidémiologique, au cours d'un cycle de marée ». Une unité épidémiologique est définie comme un groupe de coquillages d'une même classe d'âge ayant subi les mêmes conditions d'élevage (i.e. même historique d'élevage). Seules les déclarations complètes, i.e. sans donnée manquante relative à la date de déclaration, l'espèce de coquillage, la classe d'âge et le numéro de concession, sont considérées dans l'analyse.

• Données disponibles de référence :

Ce qui en première impression peut être un agrégat, n'en est peut-être pas un. En effet, un agrégat peut apparaître lorsque les cas ont une cause commune (par exemple une maladie contagieuse), mais aussi en absence de cause commune mais survenant dans le même temps du simple fait du hasard.

En effet, le nombre de cas de mortalité dans une zone dépend de nombreux facteurs propres à celle-ci, notamment de l'effectif des populations élevées ou sauvages, de leur âge et de la répartition des espèces à un moment donnée (par exemple une saison). Il existe une forte variabilité de la mortalité selon tous ces facteurs. Ainsi, un véritable excès de cas de mortalité peut exister et passer inaperçu si l'effectif est peu important ; inversement, si la population à cette date est particulièrement importante à cette période de l'année, on observera des mortalités qui peuvent paraître nombreuses alors que leur fréquence peut être « normale » rapporté au dénominateur.

Quelle population de référence ? Habituellement, il est utilisé comme population de comparaison la population générale. En conchyliculture, le recensement conchylicole est centré sur les entreprises, pas sur les populations de coquillage élevées ou sauvages. Le cadastre conchylicole et le schéma des structures sont des sources de données de référence qui peuvent être envisagées, car ils fixent les règles d'exploitation dans l'espace, et parfois

dans le temps, des populations de coquillages. Dans chaque bassin conchylicole, des études de stocks ont pu être conduite par les Laboratoires Environnement Ressource de l'Ifremer. Toutefois, l'élevage des coquillages requiert des mouvements d'animaux intra et inter-bassins et la répartition spatiale des populations varie au cours de l'année. Aucune source de données n'est cependant disponible au niveau national ni même régional.

- Cadastre conchylicole et schéma des structures
- → Etudes de stocks de coquillages

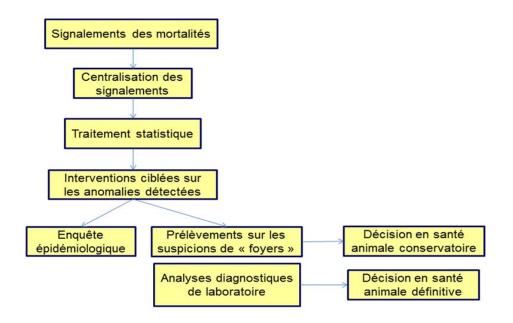
2.2 . S'il y a excès de cas, quelle en est la cause ?

Cette analyse de structure spatiale des déclarations de mortalité a pour but d'orienter les investigations de terrain vers les sources potentielles de risque et les foyers d'infection actifs. Néanmoins, il est peu probable que la recherche de « la cause » de l'agrégat détecté soit systématiquement satisfaisante. Au mieux, un ensemble d'hypothèses plausibles (par exemple : pollution, événement de dessalure particulier, présence d'un organisme pathogène connu et déjà présent / connu mais exotique / inconnu et potentiellement émergent...) pourront être éliminées selon une démarche séquentielle.

Le principe est fondé sur un recueil progressif et hiérarchisé d'informations qui permet de fixer des points d'étapes au cours desquels est décidée la pertinence d'engager ou non de nouvelles actions. Une telle approche offre l'avantage de n'engager des compétences et des moyens que progressivement en fonction des conclusions obtenues aux étapes intermédiaires tout en garantissant aux parties prenantes une rigueur méthodologique, une transparence dans la démarche et des arguments objectifs et opposables.

Par exemple, l'investigation d'un agrégat pourra aboutir à des prélèvements d'animaux pour analyses diagnostiques de laboratoire et à la mise en place d'une enquête étiologique, tel que le GT y réfléchira au cours de l'année 2014. La figure 1 illustre la démarche d'une investigation d'agrégats spatio-temporels de mortalités de coquillages marins, de la détection initiale du problème jusqu'à l'identification de la zone d'intervention.

Figure 1. Diagramme de la démarche de la détection à l'investigation d'un agrégat spatio-temporel de mortalité de coquillages marins



3. Références bibliographiques

(1) Kulldorff M, Heffernan R, Hartman J, Assunção RM, Mostashari F. A space-time permutation scan statistic for the early detection of disease outbreaks. PLoS Medicine, 2005; 2:216-224

Annexe 6 : Campagne de communication pour le signalement par SMS des mortalités d'huîtres creuses en Normandie

Recto:



Verso:

