

Contributeurs : N. Cochenec-Laureau, J.P. Baud, E. Bedier, P. Boudry, A. Huvet, J.L. Nicolas, J.F. Pepin et B. Petton (Ifremer)

**Bilan des
« Journées Surmortalité des huîtres
creuses, Crassostrea gigas »
du Programme P7
« Aquaculture Durable »
des 8 et 9 décembre 2009**

Janvier 2010

Bilan des « Journées Surmortalité des huîtres creuses, *Crassostrea gigas* » du Programme P7 « Aquaculture Durable » des 8 et 9 décembre 2009

Ce bilan comprend deux parties : la première est dédiée à une synthèse des travaux présentés lors des journées « Surmortalités des huîtres creuses, *Crassostrea gigas* » les 8 et 9 décembre 2009 et, la seconde partie, à une proposition d'un projet de recherche spécifique 2010-2012 en complément des propositions de « sortie de crise ».

Synthèse des travaux présentés lors des journées « Surmortalités des huîtres creuses, *Crassostrea gigas* » les 8 et 9 décembre 2009

Contributeurs : N. Cochenec-Laureau, J.P. Baud, E. Bedier, P. Boudry, A. Huvet, J.L. Nicolas, J.F. Pepin et B. Petton

La synthèse ci-dessous reprend la « présentation de la synthèse des travaux 2009 » basée sur une comparaison des faits marquants du « défi Morest 2001-2006 » et des principaux résultats concernant directement ou indirectement les événements de surmortalité 2008 et 2009 présentés au cours de ces deux journées.

Contexte

Les mortalités estivales de l'huître creuse, *Crassostrea gigas*, sont décrites depuis une vingtaine d'années en France mais également au Japon, en Corée, aux USA et en Australie. Ces phénomènes ou « syndrome des mortalités estivales » ont fait l'objet d'une étude pluridisciplinaire en France entre 2001 et 2006 (Défi MOREST). Toutefois, en 2008 et 2009, l'ostréiculture française a du faire face à deux épisodes de surmortalités particulièrement importantes (de 60 à 80%) des juvéniles d'huîtres creuses, *C. gigas*, qui d'une part, se distinguent des épisodes de mortalité étudiés au cours du défi MOREST (2001-2006) et, d'autre part, ne présentent pas entre eux les mêmes caractéristiques.

Les faits marquants du défi MOREST (2001-2006)

Au cours du défi MOREST, les mortalités estivales se sont caractérisées par de très grandes variations, tant dans leur cinétique que dans leur intensité d'un bassin de production à un autre, voire au sein d'un même bassin. Entre 2001 et 2005, le réseau REPAMO (Réseau de Pathologie des Mollusques) a enregistré 93 déclarations d'événements de hausse de mortalité : une déclaration se définissant comme une hausse subite de mortalité affectant un stock d'huîtres dans un intervalle maximum de 15 jours (Directive 2006/88/CE). Différents agents infectieux ont été mis en évidence sur les lots de juvéniles analysés : 40% des lots ont été diagnostiqués positifs au virus herpes (OshV-1) au cours de cette période. La recherche d'agents bactériens n'a été effectuée de manière systématique qu'à partir de 2003. Des vibrions ont alors été isolés dans 72% des lots : la bactérie *Vibrio aesturianus* était majoritaire dans 75% des lots positifs et la bactérie *V. splendidus* dans 25% des lots positifs.

Les travaux réalisés durant cette période sur des huîtres âgées de 1 an (pour les études de génétique) et sur des huîtres âgées de 2 ans (pour les autres études) ont permis de définir un certain nombre de facteurs de risques et de hiérarchiser leurs effets au cours de la période considérée. Ces facteurs incluaient la **génétique** des huîtres (forte héritabilité de la survie du naissain démontré par une expérience de sélection divergente), l'influence de la montée en **température de l'eau** jusqu'à un seuil de 19°C, la **reproduction** de l'huître (le stade de développement gonadique et l'effort reproducteur, lui même dépendant de l'âge, de l'abondance trophique et de facteurs génétiques) et les stress (chocs thermiques, apport d'eau douce, anoxies, sulfures..). Les **agents infectieux** observés durant cette étude ont été

considérés plus comme des facteurs aggravants et opportunistes que comme responsables des mortalités. Les résultats du défi Morest sont présentés dans l'ouvrage suivant : Samain, J.F., McCombie, H., 2008. Summer Mortality of Pacific oyster *Crassostrea gigas*, The Morest project. Eds Quae, Versailles, France.

Que connaît-on de la nature des causes qui ont conduit aux surmortalités de 2008?

Au cours de l'année 2008, le niveau atteint des mortalités a été beaucoup plus important (de 60 à 100%) et ce ne sont pas moins de 7250 déclarations de mortalités qui ont été recensées par les Affaires maritimes, les SRC et l'Ifremer. Ce dernier chiffre est à prendre avec précaution car les déclarations étaient associées à des demandes d'indemnisation des pertes de production.

Une étude épidémiologique, rétrospective, basée sur ces déclarations de mortalités, a permis d'en décrire la distribution spatio-temporelle et la population la plus touchée. Les mortalités ont touché l'ensemble des bassins de production à l'exception de quelques zones "isolées" (Corse, Prévost, claires ostréicoles, réservoirs normands, certains secteurs de Bretagne nord). Elles se sont produites en plusieurs pics : un premier pic fin mai-début juin assez faible (Méditerranée, bassin de Marennes Oléron, Bretagne sud), un deuxième, majoritaire, de fin juin à la mi-juillet (même sites que premier pic + Bretagne Nord et Normandie) et un troisième fin juillet-début août (majoritairement en Aquitaine). Le naissain âgé de moins de un an présente les taux de mortalités les plus élevés dans tous les bassins d'élevage. Les naissains de captage et d'écloserie (diploïdes ou triploïdes) présentent des taux de mortalité cumulés comparables.

En 2008, outre les cas français, des mortalités de juvéniles d'huîtres creuses ont été rapportées en Espagne et au Portugal ne touchant qu'un nombre limité de lots (importés de France). En Irlande, les mortalités ont été rapportées sur trois sites où les huîtres avaient essentiellement une origine française (naissain d'élevage et d'écloserie). Des recommandations de reports d'exports ont été faites par l'autorité compétente française sans toutefois les interdire.

Le développement d'outils diagnostics plus sensibles pour la détection spécifique et la quantification de l'herpes virus (OsHV-1) et de *V. Splendidus* et *V. aesturianus*, par PCR quantitative, ont été développés en 2008. Ils ont permis d'analyser un nombre important de lots présentant des mortalités. Sur l'ensemble des lots analysés, le virus de type herpès a été détecté dans 76% des cas et la bactérie *V. splendidus* dans 50%. D'autres espèces bactériennes ont également été détectées mais avec des prévalences plus faibles (*V. aesturianus*, *V. harveyi*...). D'autre part, le travail de séquençage d'ADN génomique du virus OsHV1 a permis la détection d'un variant jusqu'alors non décrit, OsHV-1 μ var. Ce génotype particulier a été détecté dans 22 lots parmi 45 lots séquencés, soit 49% des lots étudiés. **Des essais d'infections expérimentales, à partir de lots moribonds, ont permis de démontrer le caractère infectieux et transmissible du phénomène étayant l'hypothèse d'une cause infectieuse. Le lien de causalité entre la présence de l'herpes et/ou du variant et la mortalité des juvéniles n'a pu être, toutefois, vérifié.**

La crise de surmortalité 2009 présente-t-elle les mêmes caractéristiques que les épisodes précédents ?

Au cours de l'année 2009, les caractéristiques générales des épisodes de mortalité diffèrent des crises précédentes (2001-2006) et de celle de 2008. Les épisodes de mortalité ont démarré plus tôt en 2009, en une vague, dès la fin avril en Méditerranée, puis ont touché tous les bassins ostréicoles selon une progression du Sud vers le Nord, à partir de mai pour la façade Atlantique et à partir de juin pour la Manche. L'apparition des mortalités et leur

dissémination entre lots semblent très rapides. La dissémination d'un lot à l'autre est associée cette année au franchissement d'un seuil thermique de 16-17°C de l'eau de mer, plus bas que celui identifié au cours des épisodes de mortalités précédents (19°C). Comme en 2008, la mortalité touche de 60% à 100% des jeunes huîtres (moins d'un an).

L'observatoire conchylicole, mis en place en 2009, et les différentes études régionales ont permis de suivre l'évolution géographique de ce phénomène de mortalité et de mettre en évidence la cinétique spatio-temporelle de l'apparition des mortalités, la corrélation avec la montée en température et la prévalence des agents infectieux sur les différents sites. Les données issues de l'Observatoire montrent un différentiel des mortalités entre les origines géographiques de naissains naturels 2N, triploïdes 3N issus d'écloseries ainsi qu'entre les classes d'âges (naissains et adultes). Ce différentiel n'est toutefois pas retrouvé au sein des différents bassins d'élevage français. **Le naissain de moins d'un an reste le plus touché, confirmant les résultats des années précédentes et la persistance des phénomènes de surmortalité chez cette classe d'âge** (http://wwz.ifremer.fr/observatoire_conchylicole).

L'hypothèse proposée pour expliquer les taux de mortalité plus faibles observés chez le naissain de captage 2N naturel issu d'Arcachon serait que ce naissain, de captage précoce en 2008 aurait subi la troisième vague des mortalités survenue sur Arcachon. Ces circonstances auraient induit dans la population une « sélection » naturelle conduisant à du naissain présentant une meilleure « résistance » aux mortalités. Cette hypothèse d'une relation entre **précocité du captage en année N et mortalité en année N+1** a été suggérée dans l'action CAPRETAR (captage précoce et tardif) et devra être vérifiée dans le réseau VELYGER (identification des causes de la variabilité du captage naturel). Ces résultats constituent une piste d'étude qui nécessite d'être approfondie. **Ces résultats mettent surtout en lumière la nécessité de connaître l'historique des lots, leur origine précise dès l'année de captage, les dates éventuelles de captage et/ou de transfert, leur taille à l'ensemencement, le taux d'aneuploidie...faute de quoi il est difficile de déterminer les relations entre l'origine, les transferts et la mortalité aussi bien au niveau du naissain d'élevage, du naissain d'écloserie que celui du naissain de gisement naturel. La traçabilité et le choix des lots expérimentaux sont d'autant plus capitaux que le caractère infectieux et très sévère du phénomène semble se confirmer.**

L'étude menée en 2009 sur les niveaux de mortalité de quelques unes des lignées sélectionnées (G6) R « résistantes » et S « sensibles » aux mortalités estivales (issues du défi MOREST) et qui ont pu être maintenues depuis la première et seule génération de sélection en 2001, a encore montré des résultats très contrastés, spécialement en septembre (hors période de mortalité). 95% de mortalité ont été observées pour une lignée « S », 88% pour le lot « témoin naturel » et seulement 18% pour une lignée « R ». La réponse à la sélection effectuée au cours de l'été 2001 apparaît donc toujours significative même si la nature infectieuse et l'amplitude des mortalités paraît avoir évolué ces deux dernières années. Cela confirme donc l'intérêt d'une sélection familiale comme souligné dans les conclusions du défi MOREST et qui va être mise en oeuvre par les écloseries privées.

Les résultats les plus remarquables associant certaines de ces lignées et la présence du virus OsHV-1 ont été acquis au cours d'épisodes de mortalités en 2009. Les analyses montrent que toutes les huîtres apparaissent « contaminées » par le virus OsHV-1 suite à leur sortie de nurserie, mais que les huîtres de lignées « R » semblent pouvoir « limiter » le développement du virus alors que les huîtres de lignées « S » présentent des niveaux de « portage » viral et une mortalité nettement supérieurs.

Les premiers travaux de comparaison des lignées « R » et « S », à l'échelle de l'expression de certains gènes, ont suggéré deux axes forts les différenciant : i) une fragilité physiologique pendant les deux mois précédant la mortalité causée par une reproduction exacerbée des huîtres « S » et une meilleure gestion du stress oxydant chez les huîtres « R », ii) une

défaillance de la défense immunitaire des huîtres « S » par rapport aux huîtres « R » juste avant les mortalités suggérant une origine infectieuse de cette mortalité différentielle. **La poursuite de ces travaux doit être associée aux programmes de sélection familiale qui viennent d'être initiés par les écloseries privées. Les études comparatives des bases génétiques, physiologiques et immunologiques de la résistance et de la sensibilité sont essentielles et doivent donc être poursuivies.**

En 2009, dans le cadre du réseau REPAMO, le virus OsHV-1 a été détecté dans 96% des lots analysés, les bactéries *V. splendidus* dans 46% et *V. aesturianus* dans 10,4% des lots (d'autres espèces de *Vibrio* ont également été isolées). Le développement et l'utilisation de la PCR quantitative pour détecter le virus OsHV-1 permettent d'associer à la détection d'ADN viral une charge virale indicative du développement de l'infection et du pronostic vital. Des analyses effectuées sur des lots expérimentaux en 2009 ont permis de démontrer qu'il existe **une corrélation positive et significative entre le niveau de mortalité observé pour un lot et la charge virale associée.** En outre, la distribution du nouveau génotype « μ var » détecté en 2008 a été étudiée chez 34 lots « OsHV-1 positifs séquencés pour deux gènes ». 100% des séquences observées correspondent au génotype variant 2008 (μ Var) et aucun des isolats ne présente le génotype de référence. Des recherches de la présence de ce variant ont été effectuées, de manière rétrospective, sur 45 lots au total datant de 1995, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006 et 2007 (15 lots) avec plusieurs origines géographiques, France, USA, Japon, et Chine. Aucun de ces échantillons n'a présenté le profil de ce nouveau variant **consolidant fortement la piste infectieuse et l'émergence et/ou la réémergence d'un nouveau génotype de l'herpès OsHV-1.** Sa virulence n'a pu être encore comparée expérimentalement à celle du virus OsHV1 de référence (virus caractérisé en 2005). Des expériences en pathologie expérimentale sont indispensables. **Un diagnostic spécifique de ce variant est en cours de validation. Son utilisation doit être étendue à l'ensemble du réseau de diagnostic en 2010.**

En 2009, dès la fin mai-début juin, en réponse à l'apparition d'une nouvelle vague de mortalités, des mesures de restriction de transfert d'huîtres aux stades naissains et juvéniles ont été prises en France par les préfets des régions. Malgré ces restrictions, les Iles Anglo-Normandes ont subi de fortes mortalités principalement sur des lots d'huîtres originaires de France. Un projet de décision concernant les mesures à prendre en cas de surmortalités d'huîtres creuses est en cours d'élaboration par la DG Sanco (Direction Générale de la Santé du Consommateur). Dès 2010, au sein de l'Union Européenne, les transferts d'huîtres seront donc réglementés en tenant compte non seulement de la survenue de surmortalités mais également de la présence associée du variant OsHV-1 μ var.

En plus de la piste infectieuse virale forte, **l'étude d'épidémiologie analytique réalisée en 2009 souligne le rôle possible de facteurs environnementaux qui pourraient fragiliser les huîtres, rendant les juvéniles plus sensibles aux agents infectieux (viraux et bactériens) et/ou entraîner l'émergence de nouveaux variants.** Parmi les différents facteurs environnementaux susceptibles de fragiliser les huîtres, les pesticides ont été montrés, au niveau expérimental, comme pouvant induire des anomalies génétiques. Or, les suivis effectués dans le cadre du réseau Biovigilance ont permis d'obtenir depuis 2006 des informations sur les anomalies génomiques présents chez le naissain capté et d'établir une corrélation entre ces anomalies et les taux de mortalité. Ces données sont à conforter au niveau expérimental mais **la connaissance des flux, du devenir et de l'action des pesticides dans le milieu et autres contaminants chimiques sur les mortalités sont essentielles.**

Les pratiques culturales de production et d'élevage peuvent aussi favoriser l'expression des agents pathogènes. Toutefois aujourd'hui, **les interactions entre pratiques culturales, environnement et mortalité ne sont pas suffisamment prises en compte dans la compréhension de ces phénomènes et le déficit d'informations limite grandement**

l'évaluation des risques de dissémination des agents infectieux dans le milieu, d'huître à huître, de site à site.

Les résultats observés sur le terrain soutiennent l'hypothèse que la transmission peut se faire par les huîtres infectées vers des huîtres « naïves » ou de gisements naturels. Une meilleure connaissance des performances (résistance, portage du virus) des huîtres des gisements sauvages et des inter-relations entre huîtres d'élevages et populations sauvages est donc nécessaire. Ce travail doit être complété et renforcé aussi en aval afin de mieux évaluer les caractéristiques du naissain de différentes origines aux années N et N+1 (Réseau VELYGER). **C'est un pré-requis pour proposer des solutions de sortie de crise. La proposition de « réensemencement dirigé » nécessite de mieux caractériser les sites d'élevage d'un point de vue génétique (taux d'aneuploïdie) et sanitaire.**

La prévalence et la distribution des agents infectieux semblent s'être modifiées depuis le défi MOREST. Alors que la prévalence de *V. aesturanius* était forte cette étude, elle apparaît plus faible depuis 2008 et 2009. L'inverse est observé pour *V. splendidus*. Cette évolution de l'écologie bactérienne associée aux mortalités doit être prise en compte dans les différents compartiments milieu/huître/sédiment et peut influencer la contamination du naissain par le virus. **Il est indispensable de compléter les études sur la virulence de ces agents infectieux, leur mode de transmission, leur écologie et les synergies des infections multiples.**

En conclusion, tous les résultats obtenus convergent vers l'hypothèse **qu'un ou plusieurs agents infectieux émergents ou réemergents (seuls ou en synergie) ont une action prépondérante sur les surmortalités.** De plus, un certain nombre d'autres facteurs peuvent également agir comme des facteurs favorisant l'expression de ces agents : **les facteurs environnementaux** (qualité du milieu, ressource trophique, contaminants chimiques, hydrodynamisme..), **le statut sanitaire des animaux à l'ensemencement, les pratiques culturelles de production et d'élevage** (naturel 2N et écloserie 3N) (origine, traçabilité, flux d'animaux...) et la **génétique et l'immunologie de l'hôte.**