

LE RESEAU REPAMO : UN OUTIL DE SURVEILLANCE DE LA SANTE DES MOLLUSQUES MARINS ELEVES ET SAUVAGES *

Cyrille François ¹, Jean-Pierre Joly ¹, Céline Garcia ¹, Laurence Miossec ¹,
Isabelle Arzul ¹, Maeva Robert ¹, Emmanuelle Omnes ¹,
Bruno Chollet ¹ et Tristan Renault ¹

RESUME

Le réseau Ifremer Repamo (REseau de PAtologie des MOllusques) est le réseau national de surveillance de la santé des mollusques marins du littoral français. Il assure une mission réglementaire et une activité de service public déléguée par le Ministère de l'agriculture et de la pêche à travers la DGAL (Direction générale de l'alimentation). Ses objectifs sont de prévenir l'introduction et la propagation d'agents pathogènes, en particulier ceux à déclaration obligatoire et de surveiller l'évolution de ceux déjà présents sur le territoire national.

Mots-clés: Réseau, surveillance, mollusques, pathologie, réglementation.

SUMMARY

The Ifremer Repamo network (REseau de PAtologie des MOllusques) is the national surveillance network in charge of monitoring marine mollusc health on French coastlines. It is commissioned to enforce the official regulations and to provide a public service, under the supervision of the competent authority (DGAL Veterinary Directorate) in the Ministry of Agriculture and Fisheries. Its goals are to prevent the introduction and the dissemination of infectious agents, in particular pathogens involved in reportable diseases, and to monitor the changes in the pathogens already present on the French coasts.

Keywords : Network, Surveillance, Mollusks, Pathogens, Regulations.



Les pertes liées aux maladies infectieuses sont aujourd'hui considérées comme l'un des principaux facteurs limitants du développement de la conchyliculture. Au cours de l'évolution des techniques d'élevage conchylicoles, sont apparues d'alarmantes épizooties mettant en péril certaines espèces de mollusques et leurs exploitations. Face au développement

croissant des mouvements de coquillages vivants et de leurs produits dans l'Union Européenne, plusieurs textes réglementaires ont vu le jour avec comme objectif principal de permettre des échanges dans les meilleures conditions possibles de sécurité en matière de santé animale des mollusques.

* Texte de la communication orale présentée lors des Journées scientifiques AEEMA-AESA, 4-5 juin 2009

¹ Ifremer, Laboratoire génétique et pathologie, Avenue de Mus de Loup, 1730 La Tremblade, France

Considérant l'impact des maladies infectieuses et les exigences réglementaires, la Direction générale de l'alimentation (Ministère de l'agriculture et de la pêche) a chargé l'Ifremer

de l'assister dans le développement et la mise en place d'un système de surveillance de la santé des mollusques.

I - ORGANISATION DE LA SURVEILLANCE DE LA SANTE DES MOLLUSQUES

1. MAITRE D'OUVRAGE DE LA SURVEILLANCE DE LA SANTE DES MOLLUSQUES : DGAL

L'autorité compétente en matière de santé animale des mollusques est la Direction générale de l'alimentation (DGAL). L'autorité compétente est représentée localement par les services déconcentrés des Affaires maritimes les Directions départementales des affaires maritimes (DDAM). La DGAL a chargé Ifremer de mettre en place un système de surveillance de la santé des mollusques adapté à la situation française et répondant aux exigences réglementaires : Code sanitaire pour les animaux aquatiques de l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE), Directive 2006/88/CE et arrêté du 4 novembre 2008 relatif aux conditions de police sanitaire applicables aux animaux et aux produits d'aquaculture et relatif à la prévention de certaines maladies chez les animaux

aquatiques et aux mesures de lutte contre ces maladies.

2. MAITRE D'ŒUVRE DE LA SURVEILLANCE DE LA SANTE DES MOLLUSQUES : IFREMER

➤ Le Réseau de pathologie des mollusques (Repamo) a été créé en 1992 par l'Ifremer et est chargé officiellement de cette mission de surveillance. L'organisation du Repamo s'appuie sur un coordinateur (agent du Laboratoire de génétique et de pathologie, LGP La Tremblade), des pathologistes du LGP, des agents responsables de la base de données Repamo et des agents des Laboratoires environnement ressources (LER) répartis sur l'ensemble du littoral métropolitain (figure 1).

Figure 1
Organisation du Repamo



Correspondants titulaires/suppléants des LER (Laboratoires Environnement Ressources)

- Recueillir des commémoratifs,
- Réaliser des prélèvements.

Responsables de la base de données

Coordination au LGP La Tremblade (Laboratoire de Génétique et de Pathologie)

- Harmoniser les activités des différents acteurs du réseau (démarche qualité),
- Informer/former les acteurs du réseau,
- Elaborer la stratégie de surveillance du réseau et la réactualiser en fonction du contexte réglementaire, scientifique et socio-économique,
- Sous-traiter les analyses à la Cellule analytique du LGP et aux laboratoires experts,
- Diffuser les résultats.

➤ Le LGP (implantation de La Tremblade) assure différentes fonctions. Il est Laboratoire communautaire de référence (LCR) pour les maladies des mollusques depuis 1995 et laboratoire de référence pour l'Office international des épizooties (OIE) pour deux maladies parasitaires des coquillages (la bonamiose et la marteillose). Ce dernier mandat a été renouvelé en 2006. Dans un avenir proche, le LGP devrait être désigné Laboratoire national de référence (LNR) pour les maladies des coquillages.

La Cellule analytique du LGP réalise des analyses aussi bien pour le compte du LCR, du laboratoire de référence OIE, du LNR et du Repamo, pour des professionnels (analyses privées) ou enfin pour des projets de recherche.

3. PARTENAIRES DE LA SURVEILLANCE DE LA SANTE DES MOLLUSQUES

3.1. PROFESSIONNELS DE LA CONCHYLICULTURE ET DE LA PECHE

Les professionnels sont les premiers bénéficiaires de la surveillance de la santé des cheptels conchylicoles. A ce titre et en respect des réglementations européenne et française, tous les professionnels en relation avec la production et l'expédition de coquillages sont concernés. Ils sont tenus de signaler les premiers signes d'une maladie et de déclarer toute hausse de mortalité à l'autorité compétente et de tenir un registre d'élevage.

3.2. LABORATOIRES SOUS-TRAITANTS

Depuis 2009 des laboratoires non Ifremer ont été formés par le LGP La Tremblade pour la réalisation en sous-traitance d'analyses en biologie moléculaire visant l'herpès virus OSHV-1 et les bactéries *Vibrio splendidus* et *V. aestuarianus*, agents infectieux non listés dans la réglementation mais reconnus d'importance en France au regard de leur implication dans les mortalités d'huîtres creuses *Crassostrea gigas*.

II - OBJECTIFS DU RESEAU DE PATHOLOGIE DES MOLLUSQUES

Les objectifs du réseau sont les suivants :

- suivre l'évolution des maladies des mollusques réputées contagieuses (MRC) et des maladies des mollusques à déclaration obligatoire (MDO) présentes en France (tableau 1) ;
- détecter l'apparition de maladies exotiques et émergentes des mollusques puis suivre leur évolution ;
- établir une surveillance minimale de l'état sanitaire des coquillages.

III - TROIS PROTOCOLES D'EPIDEMIOSURVEILLANCE

Pour répondre à ces objectifs, trois protocoles d'épidémiologie ont été établis (tableau 2) :

1. le suivi de l'évolution des maladies réglementées présentes en France,
2. l'étude des hausses de mortalité,
3. la surveillance de la santé des populations de mollusques hors période de mortalité.

1. POPULATIONS CIBLES

La surveillance s'applique à des populations de coquillages d'intérêt commercial, à savoir principalement les huîtres creuses, les huîtres plates, les moules, les palourdes, les coques, les coquilles Saint-Jacques et les ormeaux, que ce soient des populations d'élevage ou des populations sauvages du littoral français.

Tableau 1
Maladies réglementées affectant les mollusques marins

MRC (1) MDO CE (2) MDO OIE (3)	Mollusque(s) sensible(s) (souligné : espèce présente en France)
Infection à <i>Bonamia ostreae</i> (1) (2) (3)	<u><i>Ostrea edulis</i></u> (huître plate européenne), <i>Ostrea angasi</i> , <i>O. chilensis</i> , <i>O. conchaphila</i> , <i>O. denselammellosa</i> , <i>O. puelchana</i>
Infection à <i>Marteilia refringens</i> (1) (2) (3)	<u><i>Ostrea edulis</i></u> (huître plate européenne), <u><i>Mytilus edulis et Mytilus galloprovincialis</i></u> (moules), <i>Ostrea angasi</i> , <i>O. chilensis</i> , <i>O. puelchana</i>
Infection à <i>Bonamia exitiosa</i> (1) (2) (3)	<i>Ostrea chilensis</i> , <i>O. angasi</i> Détectée également chez <u><i>Ostrea edulis</i></u> (huître plate européenne), même si cette espèce n'est pas listée comme sensible dans la réglementation
Infection à <i>Perkinsus marinus</i> (1) (2) (3)	<u><i>Crassostrea gigas</i></u> (huître creuse du Pacifique), <u><i>Mercenaria mercenaria</i></u> (clam commun), <u><i>Macoma balthica</i></u> (telline de la baltique), <u><i>Mya arenaria</i></u> (mye des sables) <i>Crassostrea virginica</i> , <i>C. ariakensis</i>
Infection à <i>Mikrocytos mackini</i> (1) (2)	<u><i>Crassostrea gigas</i></u> (huître creuse du Pacifique), <u><i>Ostrea edulis</i></u> (huître plate européenne), <i>Crassostrea virginica</i> , <i>Ostrea conchaphila</i>
Infection à <i>Perkinsus olseni</i> (3)	<u><i>Ruditapes decussatus</i></u> (palourde européenne), <u><i>Ruditapes philippinarum</i></u> (palourde japonaise), <u><i>Crassostrea gigas</i></u> (huître creuse du Pacifique), <u><i>Venerupis pullastra</i></u> (palourde bleue), <u><i>Venerupis aurea</i></u> (palourde jaune) <i>Austrovenus stutchburyi</i> , <i>Haliotis rubra</i> , <i>H. laevigata</i> , <i>H. cyclobates</i> , <i>H. scalaris</i> , <i>Anadara trapezia</i> , <i>Barbatia novaezelandiae</i> , <i>Macomona liliana</i> , <i>Paphies australis</i> , <i>Crassostrea ariakensis</i>
Infection à <i>Candidatus Xenohaliotis californiensis</i> (3)	<u><i>Haliotis tuberculata</i></u> (ormeau tuberculeux) <i>Haliotis cracherodii</i> , <i>H. sorenseni</i> , <i>H. rufescens</i> , <i>H. corrugata</i> , <i>H. fulgens</i> , <i>H. wallalensis</i> , <i>H. discus-hannai</i>

Les populations de coquillages soumises à l'échantillonnage sont celles présentes dans le milieu marin ou les estuaires du littoral français. La surveillance s'exerce aussi dans quelques cas particuliers comme les claires ostréicoles et dans des structures semi-ouvertes telles que les écloséries-nurseries. La modalité de la surveillance est de type actif ou passif ou les deux en fonction de ses objectifs (tableau 2).

2. STRATEGIES D'ECHANTILLONNAGE

L'unité épidémiologique peut être une concession ou un parc ostréicole, une éclosérie - nurserie, un gisement naturel, une zone ou une partie de zone. Toutes les unités épidémiologiques peuvent faire l'objet d'un échantillonnage en fonction du protocole d'épidémiosurveillance considéré (tableau 2).

2.1. PROTOCOLE I : SURVEILLANCE DES MALADIES REGLEMENTEES PRESENTES EN FRANCE : LA BONAMIOSE ET LA MARTEILIOSE

Un plan de zonage a été mis en place le long du littoral français dans le cadre du protocole I de Repamo. Les zones ont été déterminées selon différents critères : fréquence de transferts, cohérence hydrologique (le bassin d'Arcachon par exemple), unité administrative de décision, données sur la production des espèces, données sur les variations de prévalence des agents infectieux, compatibilité avec des activités de contrôle (figure 2).

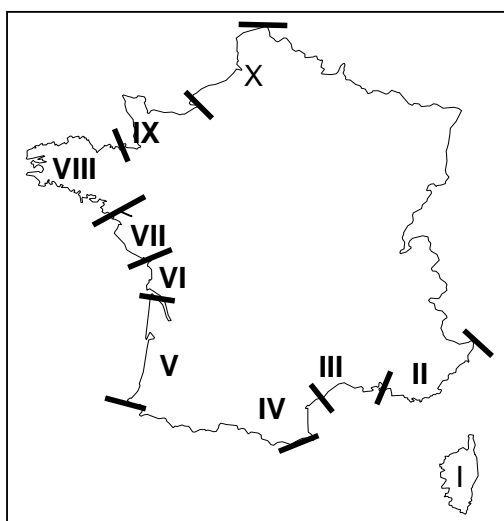
Il s'agit de repérer plusieurs organismes pathogènes, les protozoaires *Bonamia ostreae* et *Marteilia refringens*, dont les prévalences peuvent être fortes ou faibles. Le nombre d'animaux prélevés pour caractériser une unité épidémiologique à un moment donné est de 150 individus minimum pour l'espèce suivie *Ostrea edulis* (huître plate européenne). La fréquence temporelle minimale requise pour cet échantillonnage a été fixée à deux fois par an, au printemps et en automne. Les points d'échantillonnage concernent à la fois des sites exploités et des sites de populations sauvages.

Tableau 2
Protocoles d'épidémiosurveillance du Repamo

Protocoles	Mode de surveillance	Objectif principal	Organismes pathogènes visés	Populations cibles de mollusques
I : surveillance des maladies réglementées présentes en France : la bonamiose et la marteillose	Active planifiée	Décrire le statut officiel du littoral français à l'égard de ces deux MDO, en s'appuyant sur un zonage du littoral reconnu par la CE (Décision 94/722/CE)	<i>Bonamia ostreae</i> <i>Marteilia refringens</i>	<i>Ostrea edulis</i> (huître plate européenne), Élevée et sauvage
II : étude des hausses de mortalité	Passive sur la base des déclarations des professionnels conchyliculteurs/pêcheurs Depuis 2008, mixte (passive-active) pour les huîtres creuses, en lien avec l'Observatoire conchylicole *	Maintenir un état de veille à l'égard de toute maladie infectieuse affectant les mollusques	Tout organisme pathogène, en particulier ceux responsables de MRC, MDO et les agents infectieux émergents	Toute espèce de mollusque, élevée et sauvage
III : surveillance de la santé des populations de mollusques, hors période de mortalité	Active planifiée	Obtenir un complément d'informations à l'égard d'une maladie ayant un impact sur les mollusques (étude de la relation hôte/agent infectieux, développement de méthodes de lutte)	Un organisme pathogène donné pour une durée déterminée en fonction de son cycle épidémiologique et du cycle d'élevage (étude de 2-3 ans en moyenne)	Toute espèce de mollusque, élevée et sauvage

* populations d'animaux sentinelles disposées par Ifremer sur des sites ateliers instrumentés le long du littoral.

Figure 2
Zonage du littoral français dans le cadre du protocole I de Repamo



2.2. PROTOCOLE II : ETUDE DES HAUSSES DE MORTALITE

L'étude des hausses de mortalité est adaptée au cas par cas. Généralement, plus la suspicion infectieuse est forte, plus l'effort d'échantillonnage est important. La taille de l'échantillon est de 50 individus minimum à plusieurs centaines d'individus, répartis sur différents sites présentant différents taux de mortalité à un instant donné. Le prélèvement peut s'appliquer à plusieurs espèces de coquillages.

En 2008, les mortalités de juvéniles d'huîtres creuses *Crassostrea gigas*, en raison de leur intensité, ont constitué la crise la plus importante pour cette espèce depuis son introduction en France à la fin des années 60. Un observatoire conchylicole a été établi par Ifremer avec la mise en place d'animaux sentinelles de cette espèce sur plusieurs sites ateliers instrumentés. Il s'agit de suivre les performances biologiques (croissance, reproduction, survie, qualité) de lots d'huîtres composés selon des critères de représentativité de la filière ostréicole nationale. Sur le plan environnemental, chaque site atelier est progressivement instrumenté à l'aide de sondes d'acquisition de mesures à haute fréquence, permettant la récupération en temps réel des paramètres physicochimiques tels que la température et la salinité. Une description des caractéristiques du phytoplancton est aussi menée grâce aux suivis opérés par le réseau Rephy (Réseau phytoplancton Ifremer), ainsi qu'une analyse macro-environnementale des masses d'eau de chaque site en liaison avec Previmer (système de prévisions à court terme de paramètres météo-océanologiques intéressant l'environnement côtier).

2.3. PROTOCOLE III : SURVEILLANCE DE LA SANTE DES POPULATIONS DE MOLLUSQUES, HORS PERIODE DE MORTALITE

Il consiste aujourd'hui en un suivi d'un couple mollusque hôte / agent infectieux présent sur le territoire français pendant une période déterminée sur la base des connaissances du cycle épidémiologique de l'agent infectieux et du cycle d'élevage de l'espèce hôte. Il permet de compléter le système de surveillance passive des hausses de mortalité et apporte des informations sur la relation hôte/agent infectieux, qui peuvent être utilisées dans le

développement de méthodes de lutte. Le nombre d'animaux prélevés est fonction du statut de l'unité épidémiologique vis-à-vis de l'agent infectieux ; il est au maximum de 150 individus lorsque la prévalence de l'organisme pathogène est inconnue. Les échantillons sont réalisés sur plusieurs points pour couvrir un bassin exploité ou un gisement naturel de l'espèce suivie, et prélevés au moins une fois par an à la période la plus favorable pour la détection de l'agent infectieux, déterminée sur la base de données bibliographiques et d'études antérieures menées par Ifremer.

3. COLLECTE ET GESTION DES DONNEES

Les données collectées dans le cadre du réseau sont de deux types : des informations concernant le prélèvement (commémoratifs) et des résultats d'analyses (figure 3).

Pour chaque protocole d'épidémiosurveillance, les commémoratifs sont collectés de manière systématique par des correspondants de terrain Ifremer en s'appuyant sur des questionnaires élaborés sous démarche qualité.

Les animaux prélevés sont analysés par la cellule analytique du Laboratoire de pathologie et de génétique Ifremer de La Tremblade.

La méthode analytique de référence préconisée pour la détection des organismes pathogènes des maladies réglementées est l'histo-pathologie. L'effectif analysé permet de compenser la faible sensibilité et spécificité de cet outil, notamment sur des agents infectieux autres que parasitaires. D'autres outils de diagnostic sont utilisés en complément, principalement des techniques de biologie moléculaire telles que la PCR mais également la culture (bactérienne par étalement – isolement de souches majoritaires, parasite en milieu thioglycollate), l'hybridation *in situ*, la microscopie électronique à transmission, la caractérisation d'espèces par séquençage.

Dans le cadre du protocole II étude des hausses de mortalités, des laboratoires sous-traitants secondent depuis 2009 le LGP pour la réalisation d'analyses en biologie moléculaire visant l'herpès virus OsHV-1 et les bactéries *Vibrio splendidus* et *V. aestuarianus*. Le diagnostic final est finalement porté à l'échelle de l'unité épidémiologique (concession, gisement) et non de l'individu.

Les données des questionnaires, incluant l'estimation de la mortalité, et les résultats d'analyses sont stockés dans une base de données Ifremer propre au Repamo. Une partie des informations est soumise à confidentialité. Cette base de données est en relation avec une autre base de données Ifremer (Quadrige) contenant des données environnementales, ce qui facilite l'analyse des résultats. Les données sont géo-référencées, permettant une interprétation cartographique sous SIG (système d'information géographique).

4. COMMUNICATION DES RESULTATS DE LA SURVEILLANCE DE LA SANTE DES MOLLUSQUES

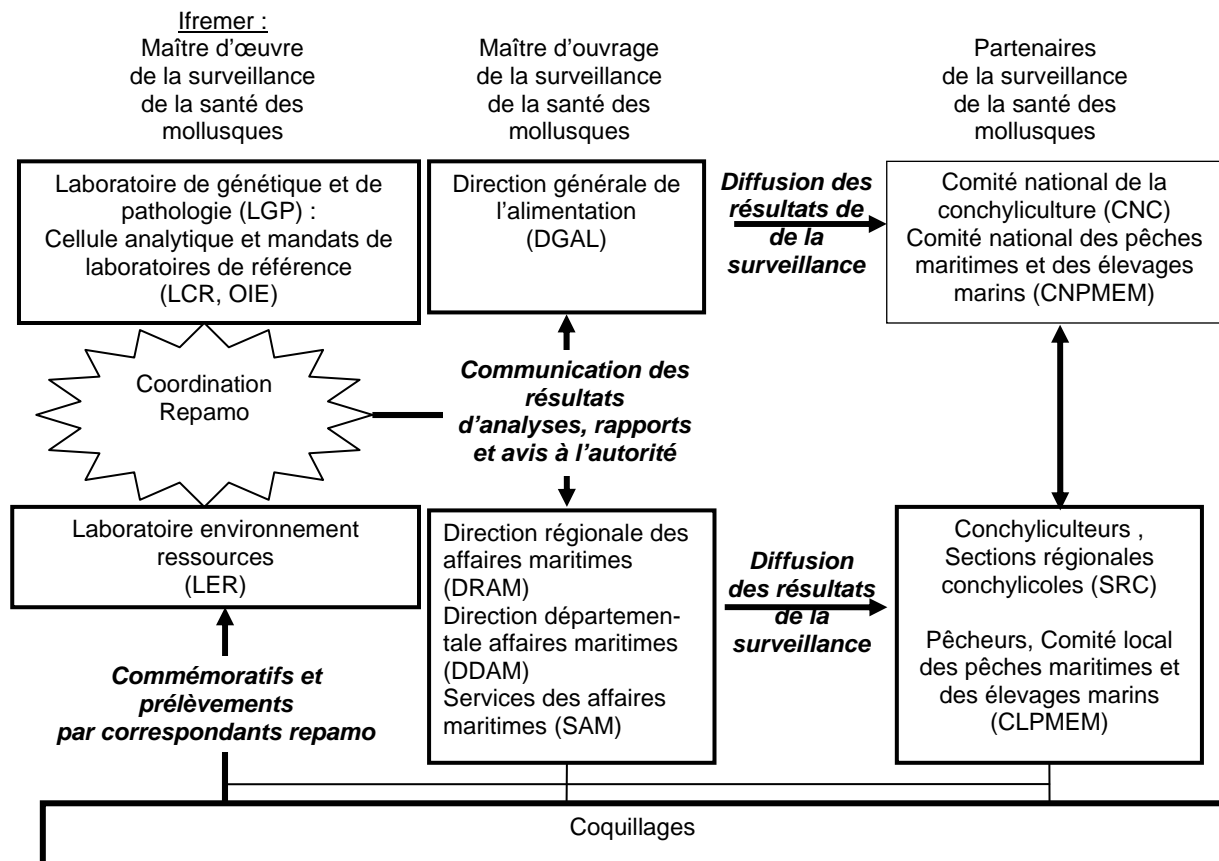
L'autorité compétente reçoit les résultats de la surveillance sous trois formes : avis et rapports analytiques individuels (protocole II étude des hausses de mortalités), rapport annuel d'activités du repamo (ensemble des résultats

des trois protocoles) et participation à la réunion annuelle du réseau où l'ensemble des résultats de l'exercice sont exposés sous forme de présentations orales. L'autorité compétente dispose des résultats de la surveillance et décide de sa diffusion aux professionnels conchyliculteurs et pêcheurs (figure 3).

Dans le cadre du protocole II, un message d'information « infomortalité » est édité par le coordinateur du Repamo dès qu'une hausse de mortalité est déclarée, que les affaires maritimes ont saisi Ifremer à ce propos et qu'une intervention Repamo est entreprise. Un bulletin mensuel d'information sur les analyses effectuées lors de hausse de mortalité pendant le mois considéré est également édité. Ces informations sont diffusées par messagerie électronique à l'autorité compétente, aux correspondants Repamo, aux responsables de laboratoires LER et du LGP. Les « bulletins mortalités » sont également disponibles sur le site intranet Repamo.

Figure 3

Relations fonctionnelles entre les acteurs de la surveillance de la santé des mollusques



IV - CONCLUSION

Le Repamo est le réseau de surveillance de coquillages le plus important d'Europe en termes de répartition nationale, de nombre total d'analyses, de nombre de personnes impliquées et de nombre d'espèces suivies. Les analyses effectuées dans le cadre du réseau ont permis dans certains cas de découvrir de nouveaux agents infectieux directement associés à de la mortalité (*Vibrio harveyi* sur *Haliotis tuberculata* par exemple) et de mettre en évidence la présence en France d'agents infectieux considérés jusqu'alors comme exotiques (*Perkinsus olseni*, *Haplosporidium nelsoni*, *Bonamia exitiosa*). Des différences de sensibilité vis-à-vis d'un agent pathogène ont pu être mises en évidence entre populations d'une même espèce. Le réseau permet également de tester de nouveaux outils diagnostiques et de

disposer de matériel pour améliorer la taxonomie d'agents infectieux.

Le lien étroit avec la recherche est indispensable. Des études épidémiologiques locales sont nécessaires pour optimiser la stratégie d'échantillonnage et pour mieux comprendre les résultats du réseau. La production conchylicole évolue rapidement, les transferts intra-communautaires et extracommunautaires d'animaux vivants pour réimmersion sont en constante augmentation, ainsi que la part des éclosures sur celle du captage naturel dans la production de naissain. Dans un tel contexte, le réseau doit évoluer en appliquant une stratégie préventive adaptée, afin d'éviter la propagation de maladies graves pour les mollusques le long des côtes françaises et européennes par transfert d'animaux infectés, comme cela s'est produit par le passé.



<http://wwz.ifremer.fr/repamo>
<http://www.ifremer.fr/drvlgp/>
http://wwz.ifremer.fr/observatoire_conchylicole
<http://wwz.ifremer.fr/aquaculture/>