

Mieux connaître l'état de santé des cheptels

Édito

Ces tables rondes « Recherche & Conchyliculture », coanimées par le CRCM et l'Ifremer sont nées d'une double volonté : casser le plafond de verre entre le monde de la R & D et les professionnels de la conchyliculture ; renforcer les échanges et la communication entre les conchyliculteurs, les porteurs de recherche, d'expérimentations techniques, d'innovation... Elles découlent d'une attente exprimée par les professionnels dans le cadre de la construction du Contrat de filière conchylicole Occitanie, et ont pour but de transmettre et valoriser la connaissance existante qui touche de près ou de loin la conchyliculture méditerranéenne et ses écosystèmes de production. En effet, les écosystèmes exploités en Occitanie, sentinelles du changement climatique, sont riches mais ils sont également sous pression et en évolution. La compréhension et l'anticipation de ces évolutions sont importantes pour le développement des filières. L'observation, la modélisation, la restauration, l'adaptation, la protection de ces écosystèmes structurent les projets que l'Ifremer mène avec les parties prenantes du contrat de filière. Ces tables rondes sont donc une opportunité de renforcer les échanges entre tous les acteurs du contrat de filière. Elles permettent de valoriser les projets de recherche, d'expertise et d'innovation, d'anticiper les enjeux à venir pour renforcer la résilience des écosystèmes et la durabilité de la filière conchylicole.

Bonne lecture !

Le CRCM et l'IFREMER

La rencontre

► Date : 16 mars 2022

► Lieu : Mèze

Le virus de l'herpès et différentes bactéries peuvent s'avérer pathogènes pour les coquillages, et provoquer de fortes mortalités avec des conséquences économiques importantes pour le secteur conchylicole. (crédit photo Jezper pour AdobeStock)

Ce qu'il faut retenir

Avec des taux de mortalité pouvant atteindre 100 % sur certaines tables et intervenant à des périodes très différentes du cycle de vie des huîtres, il est très important de comprendre les liens entre les pathogènes, l'environnement et les huîtres.

Au cours de cette rencontre Caroline Montagnani (IFREMER- UMR IHPE) a fait le point sur **l'état des connaissances des maladies des juvéniles liées au virus de l'herpès et à certaines bactéries du genre Vibrio**. Elle a montré toute la complexité de ces interactions.

Marie Agnès Travers (IFREMER – UMR IHPE), a pour sa part rappelé les résultats de différents projets de recherche qui se sont intéressés aux **maladies des huîtres adultes liées à certains types de Vibrio**.

Romain Pete (SMBT) a présenté les premiers résultats acquis grâce à **une sonde qui mesure la présence de l'herpès virus ostréide et de plusieurs Vibrio à l'aide de tests PCR réalisés en 24 heures**. Une innovation qui, couplée aux données environnementales acquises dans le cadre du réseau d'observation lagunaire (ROL), devrait permettre aux professionnels de mieux se protéger des crises.



Connaître et comprendre les maladies des juvéniles d'huîtres liées au virus de l'herpès

Plusieurs projets de recherche font avancer les connaissances sur le rôle du virus OsHV-1 (virus de l'herpès) dans les fortes mortalités des juvéniles d'huîtres. Parmi eux, le projet DECIPHER a permis de développer une approche globale.

Le contexte

Depuis 2008, les mortalités de juvéniles d'huîtres creuses ont fortement augmenté et touchent désormais tous les continents. La France et la lagune de Thau n'y échappent pas, avec des taux de mortalité allant jusqu'à 80 %. Deux pathogènes principaux ont été retrouvés dans les animaux morts : le virus OsHV-1 (virus de l'herpès) et des bactéries du genre *Vibrio*. Ces dernières, qui sont des bactéries couramment associées aux huîtres et la plupart du temps sans danger pour leur santé, peuvent parfois être pathogènes. Mais la présence du virus et des bactéries ne suffit pas à expliquer la mort très rapide des juvéniles d'huîtres, qui succombent à une septicémie fulgurante, en 72 heures.

DECIPHER : faire la part des causes et de leur enchaînement

Par son approche globale, le projet de recherche DECIPHER s'est attaché à faire la part entre les différents facteurs préalablement identifiés, leurs interactions à différentes échelles (de l'ADN aux populations en passant par les cellules et les individus), et à décrire la succession des événements conduisant à la mort des juvéniles. Il a impliqué plusieurs partenaires, dont l'Ifremer, pendant plus de quatre ans.



CAROLINE MONTAGNANI

Biologiste, spécialiste de l'huître creuse, et chercheuse à l'Ifremer depuis 16 ans, **Caroline MONTAGNANI** est Directrice adjointe de l'unité mixte de recherche IHPE.

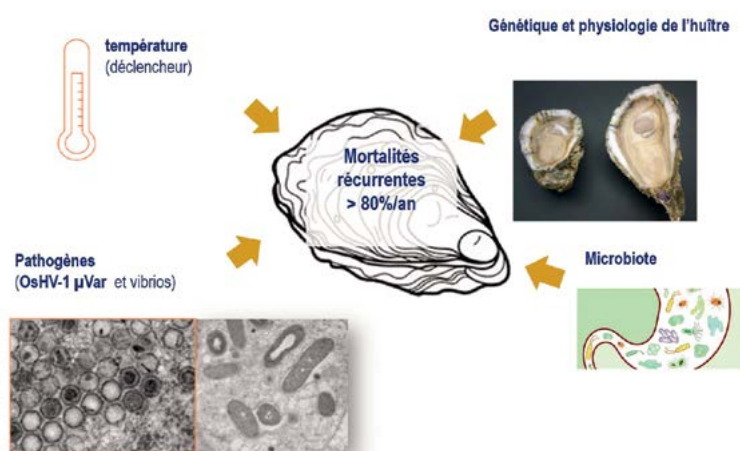
Au début des recherches, en 2014, certains éléments étaient déjà connus. Outre la présence de pathogènes dans les huîtres mortes (OsHV-1 μ Var et *Vibrio*), le rôle de la température de l'eau comme facteur déclencheur était établi. De même, après isolement et étude d'huîtres plus ou moins résistantes, un facteur génétique était avéré. Le microbiote (ensemble des micro-organismes associés à l'huître), était également impliqué. Cependant, le lien entre ces différents facteurs n'était pas connu et les mortalités, très rapides, restaient inexpliquées.

Parallèlement, plusieurs verrous scientifiques et techniques ont été levés. Le génome de l'huître a été séquencé en 2012. La baisse des coûts du séquençage a également permis de multiplier les analyses, dans l'huître ainsi que dans les pathogènes. Enfin, un modèle de pathogenèse expérimentale, écologiquement réaliste, capable de reproduire la maladie en laboratoire a été mis au point par les équipes de l'Ifremer à Argenton.

En laboratoire : une succession d'événements à la loupe

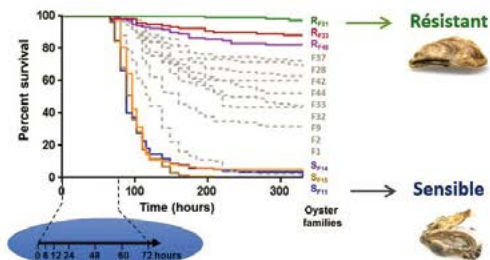
Des juvéniles « purs » ont été produits en éclosion à l'Ifremer, exempts de tout pathogène. Afin de reproduire l'infection, une partie de ces juvéniles a été exposée aux pathogènes dans des conditions naturelles lors d'un épisode de mortalité (printemps et été). Une fois contaminés, ces juvéniles (huîtres « donneuses ») ont été mis en contact avec des juvéniles non exposés (huîtres « receveuses ») en laboratoire. Les premiers pouvaient donc transmettre la maladie aux deuxièmes.

LA MALADIE DES NAISSAINS



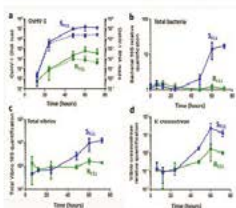
Le syndrome de mortalité des naissains (aussi appelé POMS pour « Pacific Oyster Mortality Syndrome ») a une origine multifactorielle, qui empêche aujourd'hui de disposer de traitements efficaces. Des facteurs ont été identifiés... mais leurs rôles et poids respectifs restent incompris.

DES EXPÉRIMENTATIONS À DIFFÉRENTS NIVEAUX

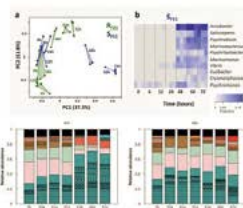


- ⇒ Comparaison de familles de sensibilité contrastées
- ⇒ Analyse de tous les compartiments pouvant influencer sur la maladie
- ⇒ Analyse des évènements successifs menant à la maladie et la mort des huîtres

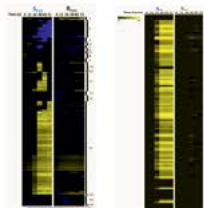
Suivi des pathogènes par qPCR



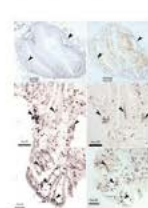
Caractérisation du microbiote



Analyse du transcriptome de l'huître et du virus



Histologie



Les expérimentations ont permis d'étudier la maladie des naissains à différents niveaux : familles d'huîtres plus ou moins résistantes, présence de pathogènes, caractérisation du microbiote, transcriptome de l'huître et du virus, histologie.

Plusieurs familles d'huîtres, toutes issues de l'écluse en laboratoire, ont été étudiées, ce qui a mis en évidence plusieurs niveaux de susceptibilité. Seules les familles les plus résistantes et les plus sensibles ont été analysées pour avoir un maximum de contrastes.

La maladie a été étudiée tout au long de son développement (depuis le premier contact jusqu'au début des mortalités, 72 heures plus tard), dans différents compartiments :

- ▶ Les pathogènes, grâce à des tests qPCR, quantifiant leur présence.
- ▶ Le microbiote, en séquençant toutes les bactéries présentes dans l'huître.
- ▶ Les gènes dans les familles sensibles et résistantes via l'analyse du transcriptome.
- ▶ Les tissus de l'huître, par l'observation au microscope de la présence des pathogènes.

Que se passe-t-il au cours de la maladie ?

Dans un premier temps, les juvéniles sont infectés par le virus. Chez les huîtres sensibles, ce dernier se réplique très rapidement et précocement et infecte les cellules immunitaires (les hémocytes), déstabilisant le bouclier antibactérien. D'autres dérégulations sont observées au niveau des réactions immunitaires qui retardent la réponse antivirale.

Cette infection entraîne alors une déstructuration du microbiote (dysbiose), qui comprend de nombreuses sortes de bactéries, en grande partie très bénéfiques. Ainsi, le microbiote change au cours de l'infection dans les familles sensibles, ce qui n'est pas le cas chez les huîtres résistantes.

L'infection, la déstructuration du microbiote et la baisse des défenses immunitaires entraînent une prolifération de certaines bactéries dans le microbiote et notamment des *Vibrio*, qui pénètrent les tissus de l'huître quand ils sont virulents. Les animaux finissent par faire une septicémie qui conduit à leur mort.

Ces observations ont été validées par différentes analyses menées en laboratoire, qui ont confirmé le rôle prépondérant du virus et des bactéries *Vibrio*. Ainsi, si la répllication du virus est bloquée, les huîtres ne sont pas infectées, même en présence de *Vibrio*. Inversement, quand on empêche les bactéries de proliférer grâce à un traitement antibiotique, les huîtres sont protégées, même si le virus se réplique. C'est donc bien l'interaction entre les facteurs viraux et bactériens qui entraîne la mortalité.

Grâce au séquençage génétique, il a été montré que les familles d'huîtres résistantes avaient un système immunitaire plus développé, qui s'exprimait d'avantage que chez les huîtres sensibles, bloquant la répllication du virus et enravant la maladie.

VALIDATION DES OBSERVATIONS



Expérience 1 : rôle du virus
Huîtres receveuses préalablement injectées avec du poly:IC pour bloquer la réplication virale

Ou

Expérience 2 : rôle des bactéries
Bacs traités aux antibiotiques pour limiter le développement bactérien

Plusieurs expérimentations ont permis de valider les hypothèses sur les rôles conjoints du virus et des bactéries.

Le laboratoire IHPE

Ces travaux ont impliqué plusieurs équipes de recherche, notamment le laboratoire IHPE « Interaction-hôtes-pathogènes-environnement » hébergé à l'université de Montpellier et à Perpignan, qui regroupe une soixantaine de personnes. Le laboratoire travaille notamment sur les espèces d'intérêt pour la conchyliculture, en essayant de mettre en évidence les nombreux facteurs qui interviennent lors du développement des maladies, grâce notamment à des expériences menées en laboratoire, qui reproduisent les conditions de développement des différents pathogènes étudiés.

Le scénario de la maladie peut alors se résumer ainsi :

1. Infection précoce par le virus OsHV-1
2. Modification des cellules immunitaires
3. Diminution de l'immunité anti microbienne
4. Dysbiose : déstructuration des communautés bactériennes associées à l'huître
5. Colonisation des huîtres par des bactéries opportunistes (notamment les Vibrio virulents)
6. Infection bactérienne secondaire
7. Septicémie
8. Mort

Les perspectives

Malgré ces avancées, il reste encore de nombreux sujets à étudier afin de faire notamment la part entre génétique et environnement.

Un nouveau projet est ainsi en cours afin de mieux comprendre ce qui conduit une famille d'huîtres à être résistante ou sensible en analysant notamment les bases génétiques et épigénétiques de la résistance.

Des travaux sont menés sur la diversité des variants OsHV-1, associés à différents environnements, plus ou moins infectieux, ainsi que sur la fonction des consortiums de bactéries composant le microbiote et leurs rôles dans la maladie, au-delà des Vibrio.

Les conditions de développement de la maladie sont également à l'étude. Pourquoi ne touche-t-elle que les juvéniles ? Pourquoi se développe-t-elle à partir d'une certaine température ? Quel rôle joue la nourriture, puisqu'il semble que les juvéniles nourris à volonté soient moins résistants que ceux qui jeûnent ? Comprendre comment ces différents facteurs influencent la maladie dans les conditions réelles devrait permettre d'établir des cartes de risques.

D'autres mécanismes de stimulation de la réponse antivirale ont été mis en évidence (sorte de mémoire immunitaire) et seront présentés lors d'une prochaine table ronde.

Enfin, l'étude du microbiote a ouvert des perspectives sur la compréhension des bactéries bénéfiques à l'huître, et pourrait ouvrir la voie à l'utilisation de probiotiques afin d'améliorer la protection des huîtres face à la maladie.

ALLER PLUS LOIN : les remarques des auditeurs

► Les bactéries qui composent le microbiote sont-elles toujours les mêmes suivant la saison, l'environnement ?

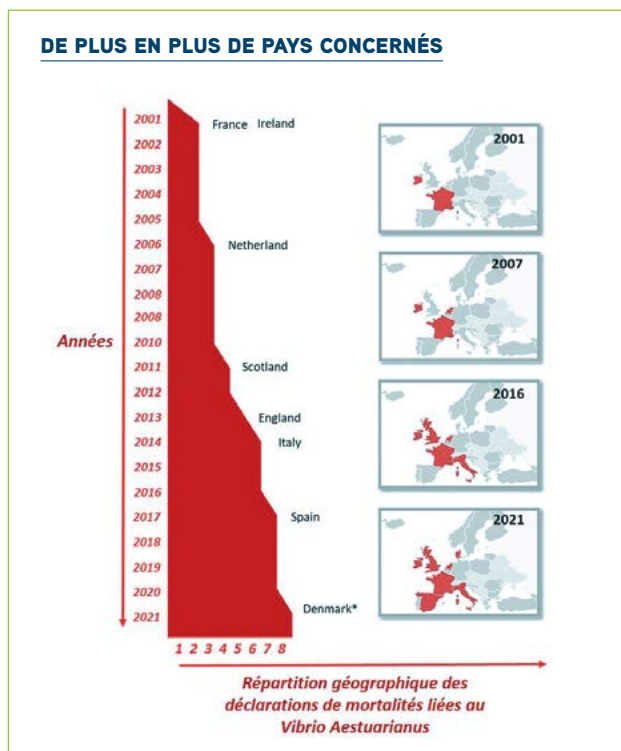
La composition du microbiote varie effectivement selon l'environnement. Les observations ont cependant mis en évidence que c'est avant tout la déstructuration du microbiote (la dysbiose) qui joue un rôle, même si sa composition peut varier selon les saisons et l'environnement.

Maladies des huîtres creuses au stade adulte liées à *Vibrio aesturianus*: synthèse des connaissances

Les ostréiculteurs font face à des épisodes de mortalité massive des huîtres de taille commerciale, dans la lagune de Thau mais également partout en Europe. Les recherches montrent le rôle d'une bactérie, *Vibrio aesturianus*, dans cette maladie, qui se développe lentement mais sûrement. Marie-Agnès Travers fait le point sur l'état des connaissances et les projets de recherche en cours.

Une bactérie détectée depuis plus de vingt ans

Détectée chez les huîtres en France dès les années 2000, l'impact de la bactérie *Vibrio aesturianus* sur les mortalités d'huîtres adultes n'a été reconnu que depuis 2011-2012, et touche aujourd'hui plusieurs pays.



EN 2012, des mortalités liées à cette bactérie ont également été observées sur des coques en Hauts-de-France, faisant d'abord penser à un passage de la bactérie des huîtres aux coques. Mais l'analyse génétique a montré qu'il existait en fait de trois sous-groupes différents.

- ▶ *Vibrio aesterianus* présent dans l'environnement
- ▶ *Vibrio aesterianus cardii* présent dans les coques
- ▶ *Vibrio aesterianus francensis* présent dans les huîtres

Ces souches ont été étudiées en pathologie expérimentale afin de comprendre leur impact sur les huîtres. 150 souches européennes de *Vibrio aesterianus francensis* ont ainsi été testées : 96 % d'entre elles se sont avérées virulentes (capables de se reproduire) et en mesure de tuer les



MARIE AGNÈS TRAVERS

Cadre de recherche en microbiologie marine, **Marie Agnès TRAVERS** travaille sur les maladies des coquillages depuis 17 ans, en décrivant à la fois les maladies et les conditions qui les favorisent. Elle a réalisé sa thèse auprès d'un professionnel de l'aquaculture et a rejoint l'Ifremer en 2011.

huîtres en injectant à peine 10 bactéries par animal. À l'inverse, ces mêmes souches étaient inoffensives pour les coques, qui n'étaient impactées que par les *Vibrio aesterianus cardii*. Il s'agit donc bien de deux pathogènes différents, spécifiques à leur hôte.

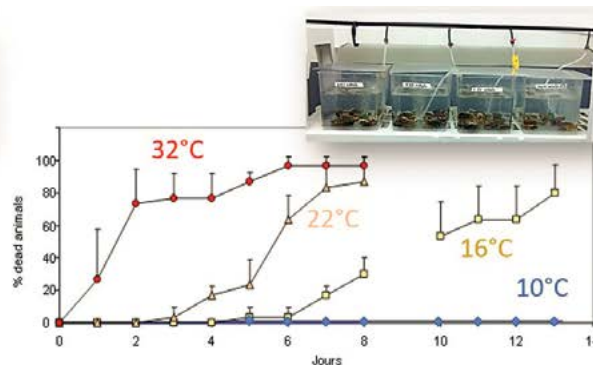
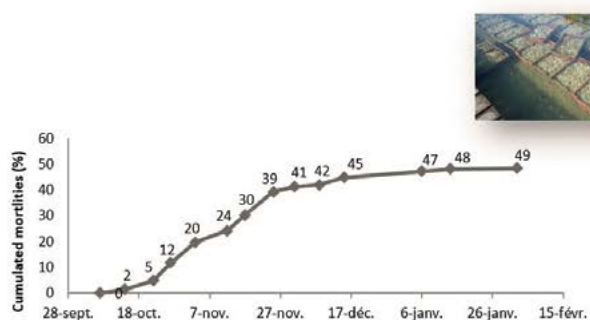
Maladie et mortalités

Les chercheurs ont suivi le pathogène dans une claire ostréicole, un milieu où le flux d'eau est moindre, ce qui augmente la probabilité de le retrouver dans l'environnement. En 2014, les mortalités ont été enregistrées de septembre à décembre, révélant la mort de quelques individus chaque jour, mais aboutissant à un taux de mortalité de 50 % en quatre mois.

Où se trouvait la bactérie ? 212 souches ont été isolées dans les huîtres elles-mêmes, mais une seule dans leur environnement (eau de mer, sédiment, algues, petits animaux), montrant bien l'adaptation de la bactérie à son hôte.

Le rôle de la température a également été étudié. En effet, en décembre au moment où la température de l'eau chute à 10 degrés, les mortalités cessent. Afin de vérifier le lien de cause à effet, les bactéries ont été injectées dans des huîtres en laboratoire, puis placées à différentes températures. Il s'avère que la température contrôle vraiment la maladie : comme sur le terrain, à 10 degrés, la maladie s'arrête. Mais le suivi a également mis en évidence que les huîtres restaient porteuses de la maladie, prête à se redévelopper lors d'une augmentation de la température en laboratoire. En l'absence de ce « choc chaud », la bactérie reste impossible à dépister.

LES MORTALITÉS SONT LIÉES À LA TEMPÉRATURE



Le lien entre mortalité et température a été établi, aussi bien en milieu naturel qu'en laboratoire.

En effet, 24 heures avant de mourir, les huîtres excrètent la bactérie dans l'eau de mer, où celle-ci survit pendant une journée, voire une journée et demie, un temps suffisant pour contaminer d'autres huîtres (chaque huître a la capacité d'en contaminer deux environ), mais qui la rend peu observable dans le milieu naturel. Les mortalités, elles, apparaissent cinq jours plus tard. C'est ce qui explique la lenteur de la propagation et sa diffusion de proche en proche. En laboratoire, en maintenant la température des bacs à 20°, des plateaux de mortalité ont été observés tous les cinq jours, qui aboutissent à 100 % de mortalité si les conditions restent permissives. C'est sans doute la présence de ces porteurs sains qui explique la propagation de la maladie dans toute l'Europe, puisque c'est en hiver que les huîtres sont principalement déplacées. Cependant, il faut rappeler que la bactérie en elle-même n'est pas dangereuse pour la consommation humaine, puisqu'elle ne se transmet pas à l'Homme.

Les travaux ont également porté sur la sensibilité des animaux. En laboratoire, 40 familles d'huîtres ont été testées à plusieurs âges. Les observations ont montré que la sensibilité augmentait avec l'âge et le poids. Certaines familles résistent mieux que d'autres (les pertes vont de 20 % à

60 % selon les familles), ce qui indique un facteur génétique. Ce dernier est cependant peu héritable, c'est-à-dire qu'il faudra plusieurs générations pour qu'il soit transmis aux descendants. Enfin, d'autres coquillages traditionnellement élevés à proximité des huîtres ont été suivis en laboratoire (huîtres plates et creuses, moules, coques... tous nés en éclosérie) afin de vérifier s'ils hébergeaient le pathogène. Là encore, l'expérience a montré que le *Vibrio aesterianus cardii* ne se retrouvait que dans les coques et que le *Vibrio aesterianus francensis* n'affectait que les huîtres.

Focus sur la lagune de Thau

Des mortalités massives sur les tables de stockage et dans le mas après détroquage ont été observées sur la lagune de Thau en 2015, 2016 et 2017.

Un suivi a été mis en place par les chercheurs de l'Ifremer (UMR Marbec) et du LDV34 afin de caractériser les animaux touchés. Les mortalités se sont avérées plus faibles au large que sur les tables à terre. Elles interviennent surtout dans les périodes les plus chaudes et d'hypoxie. En juin 2020, un professionnel de Bouzigues →

DES MORTALITÉS OBSERVÉES SUR LA LAGUNE DE THAU



Huîtres qui baillent, cloques dans les sacs... les mortalités sur les huîtres adultes par le *Vibrio aesterianus* affectent les ostréiculteurs de la lagune de Thau (photos UMR Marbec)

a perdu 64 % de ses huîtres de taille commerciale. Les analyses ont révélé la présence de *Vibrio aesterianus francensis* dans les huîtres moribondes. Dans le cadre du REPAMO, 29 fiches de mortalité ont été déposées par des professionnels de Bouzigues, Mèze et Marseillan, portant sur des huîtres triploïdes et diploïdes de captage.

Projets passés et en cours : Vivaldi et Mirage 2

Ces observations ont amené au lancement en 2020 du projet MIRAGE-2, porté par l'Ifremer, mené en Occitanie et dans les Hauts-de-France. Il s'agit de comprendre les facteurs qui contrôlent le développement de cette maladie en milieu naturel, d'essayer d'identifier les niches écologiques de *Vibrio aesterianus* mais également de continuer à écrire l'histoire évolutive de cette bactérie et de sa diversité génétique.



Dans le cadre d'un autre projet européen baptisé Vivaldi, scientifiques, décideurs, éclosiers, producteurs de différents pays européens ont rassemblé leurs connaissances et conseils techniques pour limiter l'impact de ces maladies au sein d'un guide

librement téléchargeable : [VIVALDI-Manuel de gestion des maladies des mollusques bivalves et de biosécurité](#).

Leurs conseils, qui ont fait leur preuve dans diverses régions, touchent différents domaines : le traitement de l'eau, le calendrier et les techniques d'élevage... Ainsi, le guide recommande de ne pas manipuler les huîtres pendant les périodes très chaudes, d'utiliser des trieurs à eau, de contrôler la température des bassins de stockage avant commercialisation, comme cela se fait sur la lagune de Thau (bassins réfrigérés), etc.



Des fiches pédagogiques présentant les pathogènes ont également été produites par l'Ifremer. https://wwwz.ifremer.fr/sante_mollusques/content/download/117233/file/Fiches%20p%C3%A9dagogiques.pdf

ALLER PLUS LOIN : les remarques des auditeurs

- **La maladie est-elle vraiment liée aux températures élevées ? En 2020 et 2021, nous avons observé des mortalités foudroyantes en quelques jours sur nos tables (jusqu'à 100 %), au mois de septembre, qui n'est pas le plus chaud. De plus, il y a de grandes différences entre des tables situées à quelques dizaines de mètres les unes des autres. Certaines tables sont indemnes ; sur d'autres, la maladie met un mois à se développer.**

Les observations en laboratoire montrent que plus la température est élevée (jusqu'à 32°), plus la maladie se développe rapidement, et qu'elle ne s'arrête qu'à 10 degrés. En milieu naturel, il peut y avoir des compétitions entre agents infectieux, ce qui pourrait expliquer l'aspect foudroyant observé. De plus, la bactérie ne survit pas bien dans l'eau de mer.

- **Le *Vibrio aesterianus* a été décrit initialement dans les estuaires, d'où son nom. C'est un milieu où il y a plus d'eau douce. L'apport d'eau douce par les pluies amplifie-t-il le phénomène ?**

La salinité joue également sur la vitesse de la maladie, tout comme la température. Mais nous avons à ce jour moins de données sur l'impact de la salinité et des fortes pluies.

- **Y a-t-il des différences de résistance en fonction de l'origine naturelle ou en écloserie des huîtres ? Nous avons fait des essais sur des triploïdes et constaté 90 % de mortalité. Sur des diploïdes d'écloserie, nous observons 70 à 80 % de mortalité. En milieu naturel, il y a moins de mortalité mais nous atteignons quand même 50 à 60 % Nous observons également certains « points noirs » du bassin, toujours au même endroit.**

Nous n'avons pas testé spécifiquement l'origine. Les expériences en laboratoire ont été menées sur des animaux provenant d'éclosiers de recherche. L'analyse des déclarations effectuées dans le cadre de REPAMO ne fait pas ressortir de différences entre les origines des animaux. Il faudrait sans doute étudier l'hydrodynamique et les courants sur ces zones particulièrement touchées.

- **Les différents compartiments alimentaires tels que le plancton font-ils l'objet de recherches ?**

Nous n'avons pas trouvé *Vibrio aesterianus* associé à la fraction planctonique sur le terrain et nous n'avons pas mené de tests en laboratoire sur le plancton. Mais des travaux de recherche ont montré que d'autres *Vibrio* peuvent s'associer à des zooplanctons. Des collègues italiens ont creusé cette piste mais leurs résultats sont limités, que ce soit dans les sédiments ou dans le phytoplancton.

Rechercher les pathogènes de l'huître creuse dans la lagune de Thau : le projet Pathogènes

Porté par le Syndicat Mixte du Bassin de Thau (SMBT), le projet expérimental Pathogènes a mis au point un test de détection rapide des principaux pathogènes qui affectent les huîtres creuses. À terme, il pourra alimenter un système d'alerte.

Le contexte

Dans la lagune de Thau, les épisodes de surmortalité des huîtres creuses sont récurrents. Les « mauvaises années », ils conduisent à 90 voire 100 % de pertes sur certaines tables et touchent les 3 zones d'élevage. Ils sont liés à la présence de pathogènes, dont les plus connus sont OsHV-1 (virus de l'herpès) et des *Vibrio*, notamment *Vibrio splendidus* et *Vibrio aesturianus*, qui peuvent se combiner. Les maladies qu'ils entraînent sont liées à des facteurs environnementaux et interviennent à différents stades de croissance (naissains et huîtres adultes). Elles entraînent des pertes économiques importantes pour un secteur d'environ 400 entreprises qui représentent 40 millions d'euros de chiffre d'affaires et quelque 2 000 à 3 000 emplois directs et indirects.

Comment aider les ostréiculteurs dans leurs stratégies d'adaptation ? Au-delà de l'étude des relations entre les hôtes et les pathogènes présentés en début de table-ronde, le SMBT, sollicité par les professionnels, mène une expérimentation afin de faciliter l'identification des virus et bactéries responsables de ces mortalités. Le projet Pathogènes, démarré en 2020 avec l'appui des services de l'État, l'avis de l'Ifremer, et le concours du CRCM et du Cepralmar, s'appuie sur les compétences techniques de la société IAGE, spécialisée en biologie moléculaire, qui maîtrise la technique des tests PCR digitaux et a bâti son expérience autour du Covid.

Premier objectif : mettre au point une méthode de détection simple et rapide

Afin de détecter rapidement et de manière fiable la présence des principaux pathogènes connus, une sonde multicibles a été mise au point. Dans un premier temps, le génome des pathogènes et de leurs variants a été utilisé afin de définir une sorte d'empreinte digitale permettant de les identifier via un test PCR. Six sondes spécifiques ont été réalisées sur :

- ▶ Le *Vibrio aesturianus* et ses variants *francensis* et *cardii*
- ▶ Le *Vibrio splendidus* et ses variants *crassostrea* et *tasmaniensis*
- ▶ Le plasmide de virulence de *Vibrio splendidus* (pGV1512)
- ▶ L'*Ostreid Herpesvirus-1* (OsHV-1)

Chaque sonde a été validée avec des souches des pathogènes, acquises auprès de laboratoires.



ROMAIN PETE

Chercheur en écologie marine et modélisation, **Romain PETE** a rejoint le Syndicat Mixte du Bassin de Thau (SMBT) en 2020. Il est chargé du réseau d'observation lagunaire (ROL).

Il a fallu ensuite vérifier que les différents pathogènes étaient bien identifiés quand ils étaient intégrés dans le même test.

Les tests PCR effectués par IAGE mesurent la quantité absolue de pathogènes (détection à partir de 500 copies par millilitre), après une étape dite de concentration, dans l'eau ainsi que dans les huîtres (pool d'une dizaine d'huîtres broyées). La détection de virus OsHV-1 dans l'eau ne signifie pas forcément que ce dernier est vivant en l'absence d'hôte.

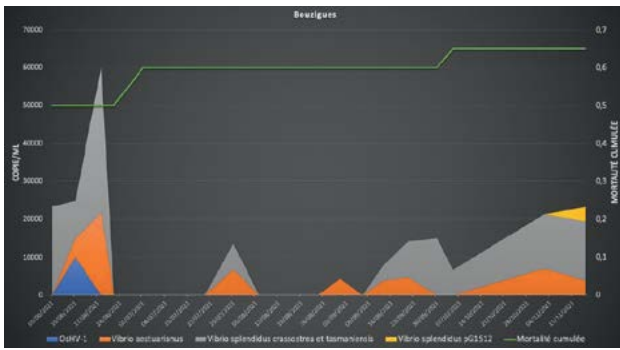
Dans le cadre du Réseau d'Observation Lagunaire (ROL), des prélèvements ont ainsi été menés sur trois tables à Mèze, Bouzigues et Marseillan, mises à disposition par les services de l'État (DDTM) et utilisées pour les suivis et expérimentations (ROL, Cepralmar). Ils ont été réalisés sur des huîtres en lanterne pour les naissains, sur cordes pour les adultes ainsi que dans l'eau à proximité, toutes les semaines entre fin mai et fin octobre 2021, puis tous les quinze jours. Les premiers résultats sont présentés jusqu'au 11 novembre 2021, mais le travail sur les échantillons se poursuit jusqu'en mai 2022.

Premiers résultats

Les premiers résultats sur les échantillons d'eau valident la technique de détection. Ainsi, en 24 heures, et pour moins de 100 €, il est possible d'avoir une mesure précise de la présence de 3 pathogènes et 6 cibles grâce à un seul dispositif.

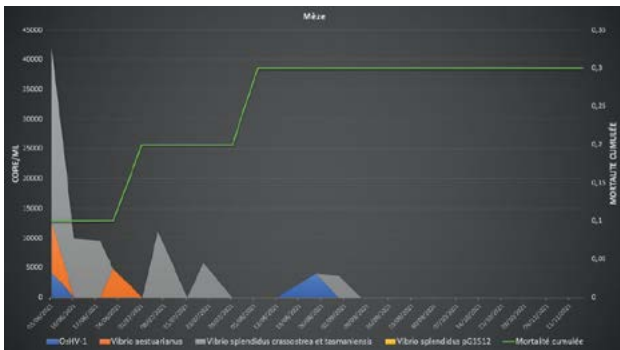
Il apparaît que les résultats sont assez différents selon les zones. Il est à noter que le taux de mortalité représenté par le trait vert (*graphiques page suivante*) est pour l'instant global et ne différencie pas les naissains des adultes, les diploïdes des triploïdes. Ces différences seront prochainement suivies dans le cadre du ROL. →

ANALYSE DES PRÉLÈVEMENTS DANS L'EAU SUR BOUZIGUES



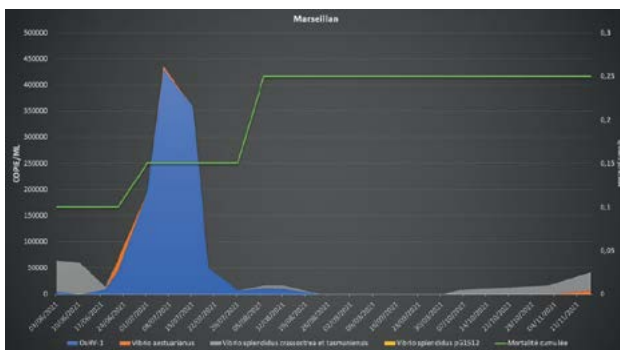
Zone de Bouzigues : à partir de juin, OshV-1, Vibrio aestuarianus, Vibrio splendidus et ses variants sont détectés. Le plasmide de virulence émerge en novembre (Vibrio splendidus pG1512). De début septembre jusqu'en novembre, on note la présence de Vibrio aestuarianus et de Vibrio splendidus dans l'eau, ce qui n'apparaît pas dans les autres zones. La zone a vécu une mortalité globale allant jusqu'à 65 % (trait vert).

ANALYSE DES PRÉLÈVEMENTS DANS L'EAU SUR MÈZE



Sur Mèze, qui n'a vécu une mortalité que de 35 %, le profil est différent, avec absence des pathogènes depuis septembre.

ANALYSE DES PRÉLÈVEMENTS DANS L'EAU SUR MARSEILLAN



À Marseillan, la mortalité globale n'a pas dépassé 25 %, malgré un pic de présence en juin et juillet d'OshV-1 et de Vibrio aestuarianus allant jusqu'à 40 000 copies par millilitre. À l'automne, en revanche, peu de pathogènes ont été identifiés dans les échantillons d'eau.

Deuxième objectif : alimenter un modèle épidémiologique afin d'aider les professionnels dans leur gestion

Le deuxième objectif est de coupler les résultats de ces détections aux données environnementales recueillies dans le cadre du ROL. En effet, la température, la salinité et la turbidité sont mesurées grâce à des stations situées en zone d'élevage et en dehors. Ces deux types d'information viendront alimenter un modèle épidémiologique, qui permettra de mieux comprendre comment se développent ces pathogènes dans l'environnement, d'identifier des seuils critiques malgré les cinétiques différentes des maladies (en fait, plusieurs modèles épidémiologiques seront combinés). À terme, les professionnels disposeront ainsi d'indicateurs de risques, les aidant à adapter leurs pratiques d'élevage.

ALLER PLUS LOIN : les remarques des auditeurs

► Les mortalités sont très variables d'une table à l'autre. Est-ce que vous allez prendre en compte cette localisation ?

Le couplage avec un modèle représentant l'hydrodynamique de la lagune n'est pas prévu pour l'instant, car les animaux sont régulièrement déplacés. Mais il pourra être envisagé plus tard.

► Faites-vous le lien avec la teneur en chlorophylle de la lagune ?

Dans le cadre du ROL, seuls la température, la salinité, la turbidité et le niveau d'oxygène sont mesurés. Aujourd'hui, nous disposons de peu de mesures de chlorophylle, car le niveau est assez bas et nécessiterait des appareils plus sophistiqués. Ce sont les stations de mesure haute fréquence temps réel de SENSITHAU, que l'on va tenter de pérenniser dans le cadre du ROL, qui sont aujourd'hui utilisées.

► Comment accéder aux données ?

Tous les ostréiculteurs ont dû recevoir des identifiants pour accéder aux données SENSITHAU. Si ce n'est pas le cas, ils peuvent se rapprocher du SMBT. De plus, dans le cadre du ROL, une nouvelle plateforme de diffusion de l'ensemble des mesures est en cours de montage.

Les organisateurs et intervenants

IFREMER

Reconnu dans le monde entier comme l'un des tout premiers instituts en sciences et technologies marines, l'Ifremer s'inscrit dans une double perspective de développement durable et de science ouverte. Il mène des recherches, produit des expertises et crée des innovations pour protéger et restaurer l'océan, exploiter ses ressources de manière responsable, partager les données marines et proposer de nouveaux services à toutes les parties prenantes.

Présent sur toutes les façades maritimes de l'hexagone et des outremer, l'Ifremer est implanté sur une vingtaine de sites dans les trois grands océans : l'océan Indien, l'Atlantique et le Pacifique. Pour le compte de l'État, il opère la Flotte océanographique française au bénéfice de la communauté scientifique nationale. Il conçoit ses propres engins et équipements de pointe pour explorer et observer l'océan, du littoral au grand large et des abysses à l'interface avec l'atmosphère.

Ouverts sur la communauté scientifique internationale, ses 1 500 chercheurs, ingénieurs et techniciens font progresser les connaissances sur l'une des dernières frontières inexploitées de notre planète ; ils contribuent à éclairer les politiques publiques et à l'innovation pour une économie bleue durable. Leur mission consiste aussi à sensibiliser le grand public aux enjeux maritimes.



CRCM

Le Comité régional de la conchyliculture de Méditerranée (CRCM) est un organisme professionnel reconnu de droit public dont les missions sont définies dans le Code rural et de la pêche maritime. Il représente l'ensemble des 600 professionnels qui se livrent aux activités de production, distribution et de transformation des produits de la conchyliculture des 7 bassins de production de Méditerranée répartis dans 5 départements (Aude, Hérault, Bouches du Rhône, Var et Corse). Le CRCM est ainsi en interaction perpétuelle avec les entreprises conchylicoles de Méditerranée, les Services de l'état et les nombreux partenaires de la filière (collectivités, recherche, enseignement...) pour accompagner, défendre, représenter, communiquer et valoriser le métier et les produits de la conchyliculture méditerranéenne.

Citation recommandée : Ruysen Maria, Grillon-Gaborit Fabrice, Montagnani Caroline, Travers Marie-Agnès, Pete Romain.
Table Ronde Recherche & Conchyliculture #2/2022 : Mieux connaître l'état de santé des cheptels. IFREMER-CRCM, Mèze, 2022, 10 p.



Station IFREMER de Sète,
Avenue Jean Monnet, CS 30171, 34203 Sète Cedex
Maria RUYSEN
Responsable de la station IFREMER de Sète
04 99 57 32 75 / maria.ruysen@ifremer.fr



Comité régional de conchyliculture de Méditerranée
Quai Baptiste Guitar 34140 Mèze
Fabrice GRILLON-GABORIT,
Chargé de stratégie de la filière conchylicole
06 70 52 99 73 / fgg.crcm@gmail.com