



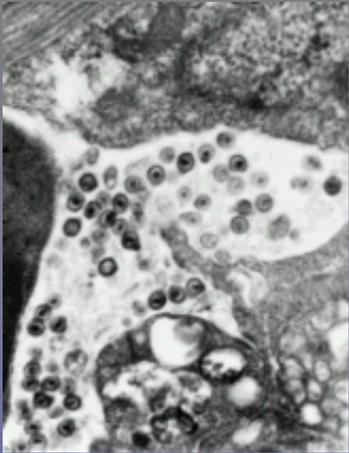
*Maladies infectieuses chez l'huître plate, *Ostrea edulis*, et les moules*

Laboratoire de Génétique et Pathologie (LGP)
Station IFREMER de La Tremblade
(Charente Maritime)

T. Renault



Toutes sortes de maladies chez les coquillages

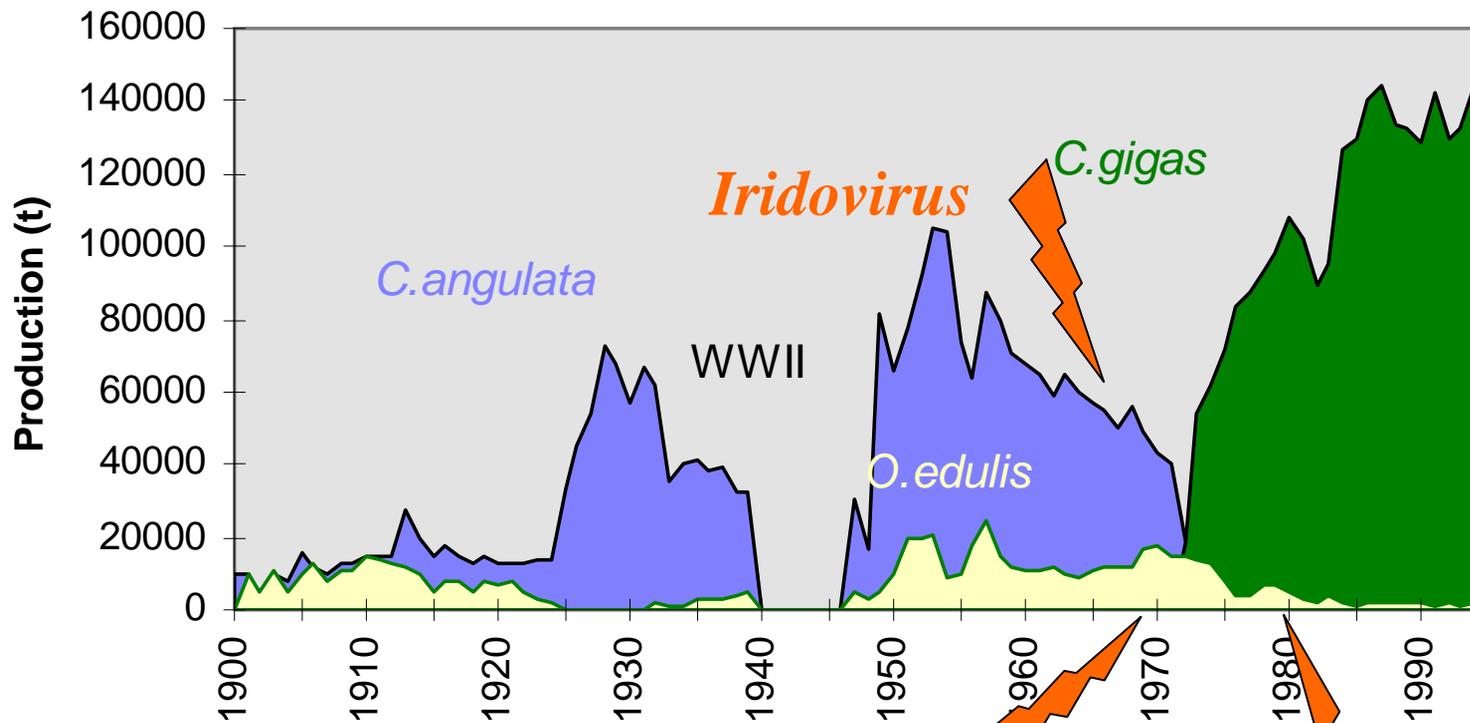


Des virus, des bactéries, des parasites protozoaires et métazoaires sont décrits chez les coquillages comme responsables de maladies.

Cependant, il faut différencier les agents infectieux propres aux coquillages des agents infectieux transmis par les coquillages.



Les effets des maladies sur les productions conchylicoles



Marteilia refringens

Bonamia ostreae

***Comment limiter
l'impact des maladies
infectieuses sur les
cheptels de
coquillages ?***

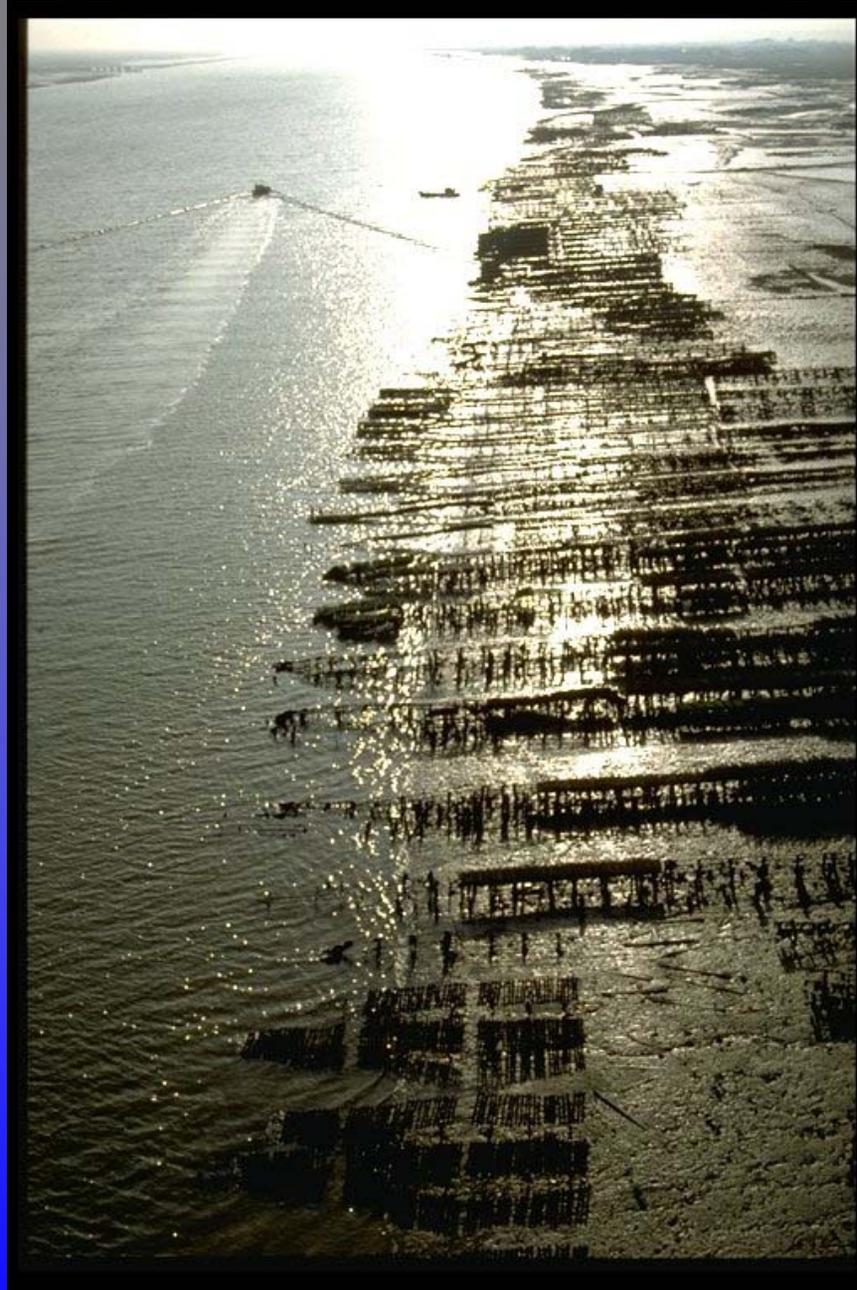
Les facteurs à prendre en compte : les caractéristiques de la conchyliculture

Animaux le plus souvent élevés en milieu ouvert

- **Risques élevés de contamination par des agents infectieux présents dans le milieu**
- **Influence de l'environnement sur la santé des animaux**



***Bassin de
Marennes
Oléron - Rive
de la Seudre***



Bassin de Marennes Oléron - Rive de la Seudre



Bassin de Marennes Oléron - Rive de la Seudre



Les facteurs à prendre en compte : les caractéristiques de la conchyliculture

Culture des mollusques bivalves

Activité traditionnelle liée à des échanges d'animaux entre zones d'élevage



Les facteurs à prendre en compte : les caractéristiques de la conchyliculture



Animaux sujets à des transferts

- *La culture des mollusques bivalves est une activité traditionnelle liée à des échanges d'animaux entre zones d'élevage géographiquement éloignées : risques importants de dissémination des maladies*



Les facteurs à prendre en compte : les caractéristiques des animaux

Les bivalves sont des invertébrés

- Absence de système de défense adaptatif inductible : pas de lymphocyte et pas de production d'anticorps**

Que ne peut-on pas faire ?

Traitements médicamenteux à proscrire en milieux ouverts (exception pour les systèmes confinés)

- Recontaminations très probables
- Grandes quantités de substances actives
- Accumulations de résidus dans le milieu

Vaccination sans objet

Diagnostic indirect impossible



Alors que faire ?



Contrôle des maladies par un contrôle des transferts et de l'état de santé des animaux : diagnostic rapide des maladies infectieuses pour limiter leur dissémination et établir des réglementations concernant les transferts





Alors que faire ?



Etudier et mieux comprendre les maladies affectant les coquillages

Obtention d'animaux plus résistants aux maladies infectieuses

- Selection massale
- Transgenèse ?



Les maladies des mollusques bivalves

Les principaux agents infectieux

Parasites métazoaires

Parasites protozoaires

Procaryotes

Virus



Les maladies des mollusques bivalves

Les principaux agents infectieux

Classification des maladies au niveau de l'Union Européenne : les deux maladies des mollusques de l'annexe A (liste II) de la directive 91/67/EEC sont des maladies à protozoaires (bonamiose et marteiliose chez l'huître plate, *Ostrea edulis*)



Les maladies des mollusques bivalves

Les principaux agents infectieux

Directive 91/67/EEC : "concerning the animal health conditions governing the placing on the market of aquaculture animals and products"



Les maladies des mollusques bivalves

Les principaux agents infectieux

Classification des maladies au niveau de l'Union Européenne : toutes les maladies des mollusques de l'Annexe D de la directive 95/70/EC (22 décembre 1995) sont des maladies à protozoaires



Les maladies des mollusques bivalves

Les principaux agents infectieux

Annexe D - Directive 95/70/EC



- Haplosporidiose : *Haplosporidium nelsoni* et *Haplosporidium costale* chez *Crassostrea virginica*
- Perkinsose : *Perkinsus marinus* chez *C. virginica* et *Perkinsus olseni* chez *Haliotis rubra*
- Mikrocytose : *Mikrocytos mackini* chez *C. gigas*, *Ostrea edulis*, *O. puelchana*, *O. denselomellosa* et *Tiostrea chilensis*) et *Mikrocytos roughleyi* chez *Saccostrea commercialis*

Les maladies des mollusques bivalves

Les principaux agents infectieux



Annexe D - Directive 95/70/EC

- Marteiliose : *Marteilia sydneyi* chez *Saccostrea commercialis*
- Iridovirose : Oyster Velar Virus chez *Crassostrea gigas*

Les maladies des mollusques bivalves

Les principaux agents infectieux

Parasites métazoaires

Rôle de ce type d'agents infectieux souvent surestimé dans les problèmes de mortalité : parasites facilement observables



Les maladies des mollusques bivalves

Les principaux agents infectieux



Les Copépodes (*Mytilicola intestinalis* chez les moules)

Ils n'induisent pas directement de mortalités (modifications de l'épithélium digestif sans incidence sur son fonctionnement)



Les maladies des mollusques bivalves

Les principaux agents infectieux

Parasites protozoaires

Agents infectieux responsables des principales
épizooties chez les bivalves



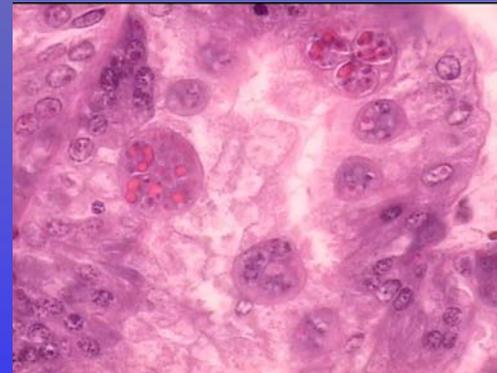
Les maladies des mollusques bivalves

Les principaux agents infectieux

Phylum des *Ascetospora*

Genre *Marteilia*

Agents responsables de maladies graves



Les maladies des mollusques bivalves

Les principaux agents infectieux

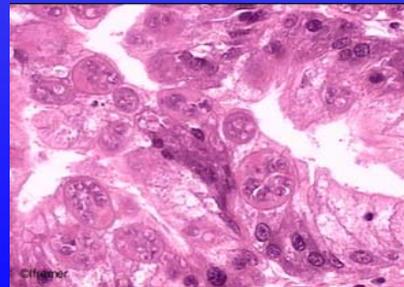
Marteiliose de l'huître plate européenne

Agent responsable : *Marteilia refringens*

Mortalités massives récurrentes depuis 1968

Espèce touchée : *Ostrea edulis*

Localisation géographique : France (Bretagne et littoral Atlantique)



Les maladies des mollusques bivalves

Les principaux agents infectieux

Marteiliose de l'huître plate européenne

Symptômes : amaigrissement, glande digestive jaunâtre et rétraction des tissus mous (manteau)

Sites d'infection : épithélium des tubules digestifs (sporulation)

Diagnostic : empreintes de tissus, histologie, anticorps et sondes nucléiques

Les maladies des mollusques bivalves

Les principaux agents infectieux

Marteiliose de l'huître plate européenne

Cycle biologique

Cellules primaires (5-8 μ m)

Maturation des spores

Cellules secondaires (8 par cellule primaire) : sporanges

Maturation et libération des sporanges dans la lumière des tubules digestifs

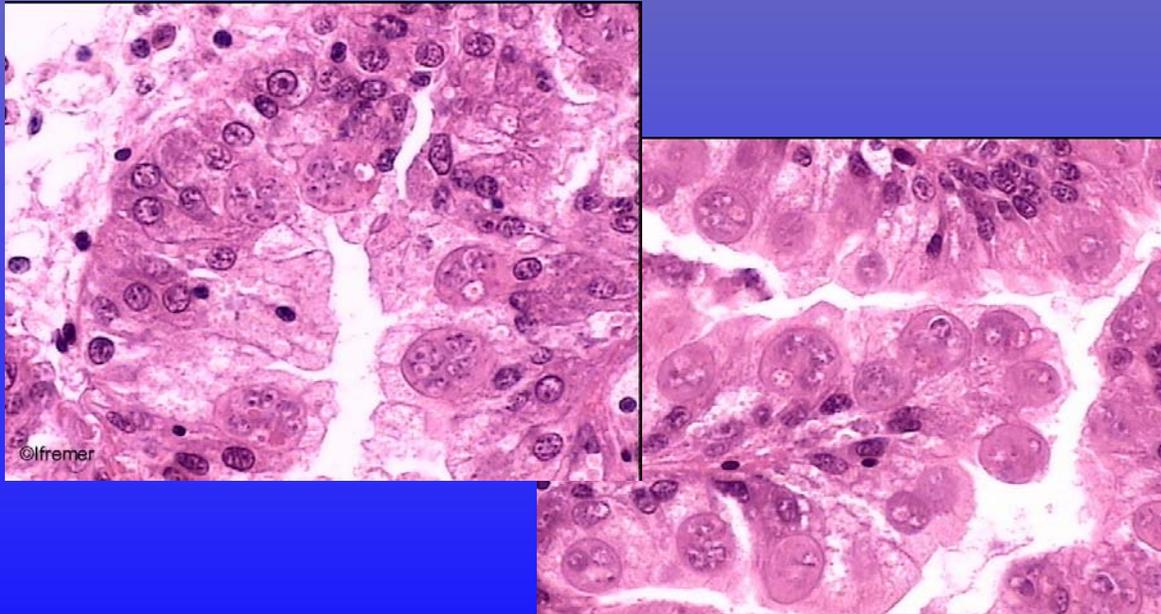
Cellules tertiaires (3 à 4 par cellule secondaire)



Les maladies des mollusques bivalves

Les principaux agents infectieux

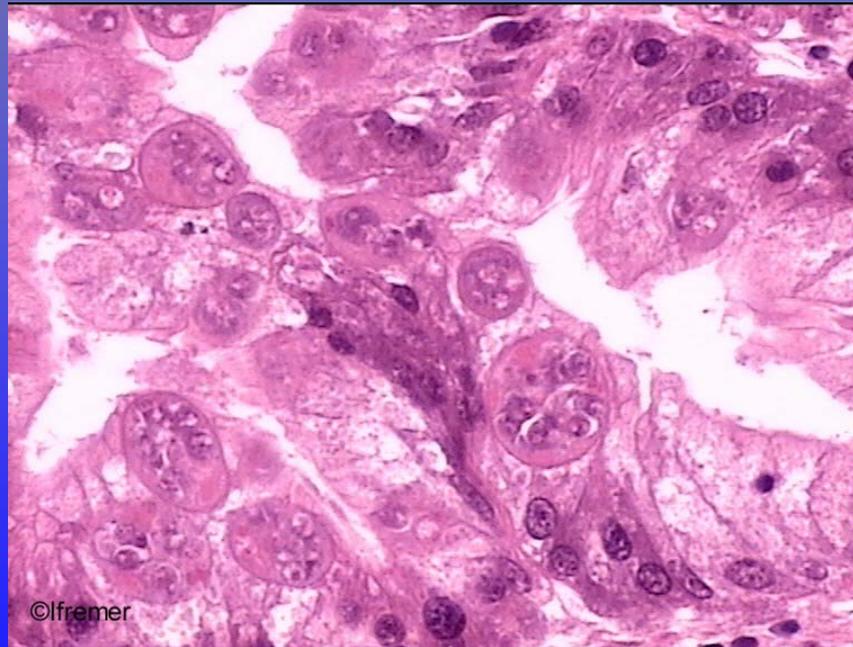
Marteillose de l'huître plate européenne, *Ostrea edulis*



Les maladies des mollusques bivalves

Les principaux agents infectieux

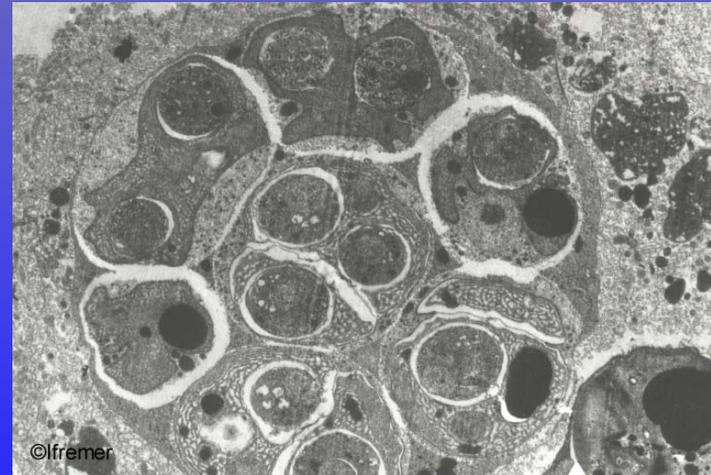
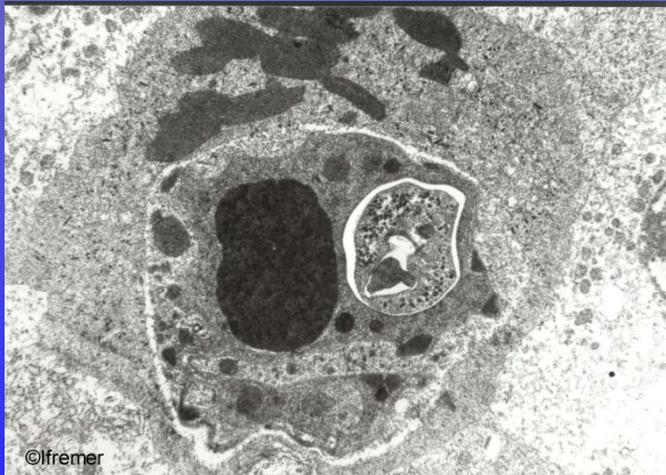
Marteiliose de l'huître plate européenne, *Ostrea edulis*



Les maladies des mollusques bivalves

Les principaux agents infectieux

Marteiliose de l'huître plate européenne, *Ostrea edulis*



Impact de la marteillose sur les productions

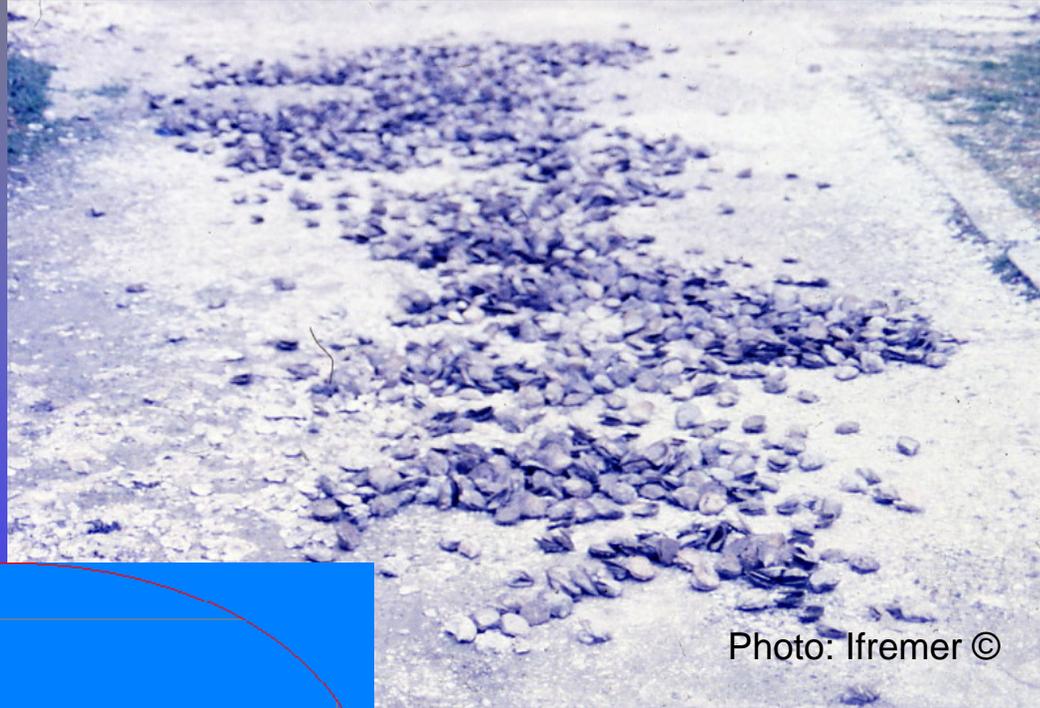
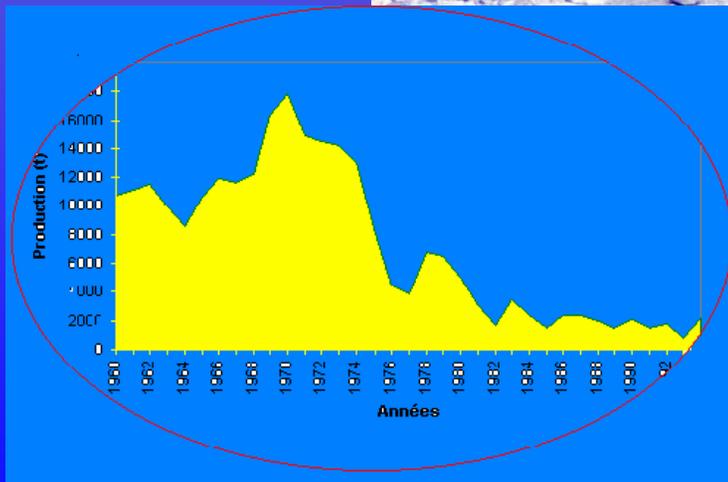


Photo: Ifremer ©



Impact de la marteiliose sur l'huître



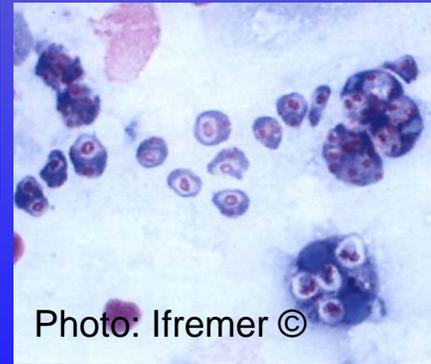
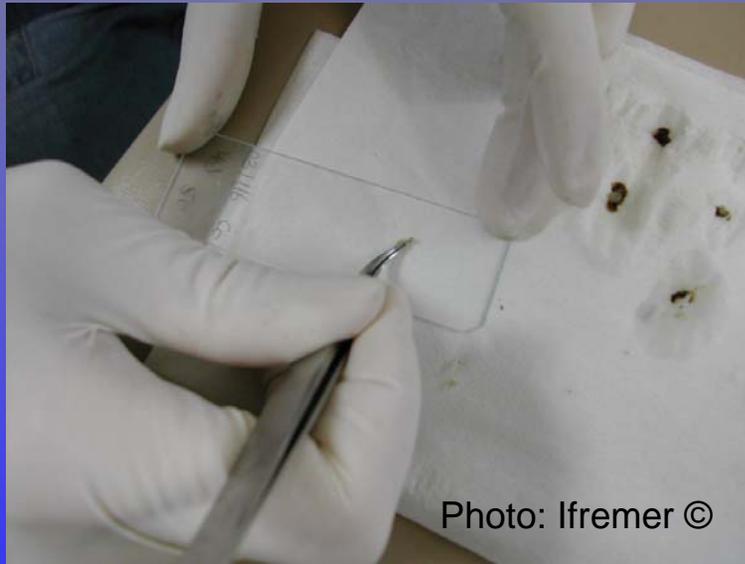
Huître saine

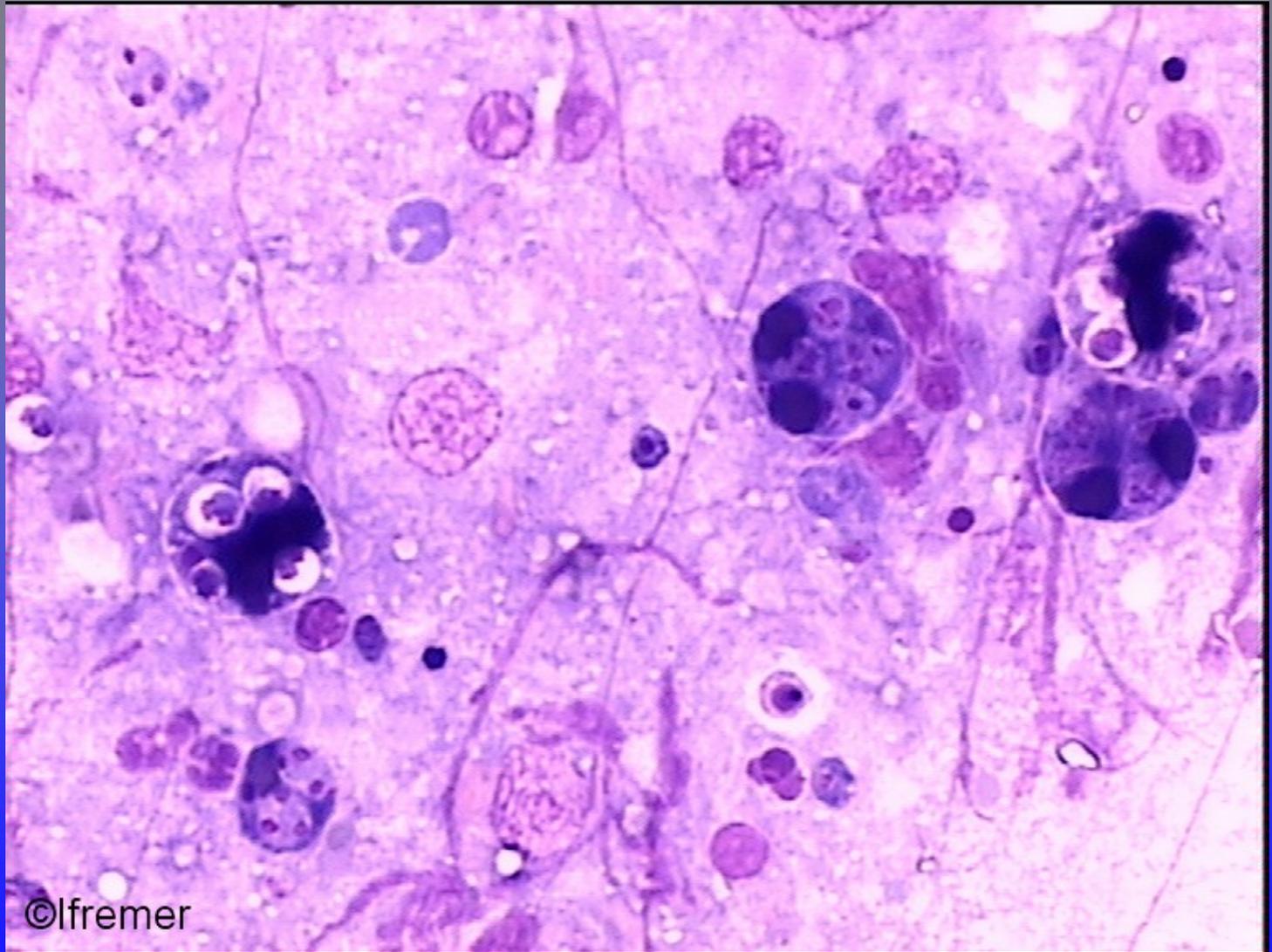


Huître malade

Les techniques de diagnostic

- Empreinte de tissus:





©lfremer

Histologie

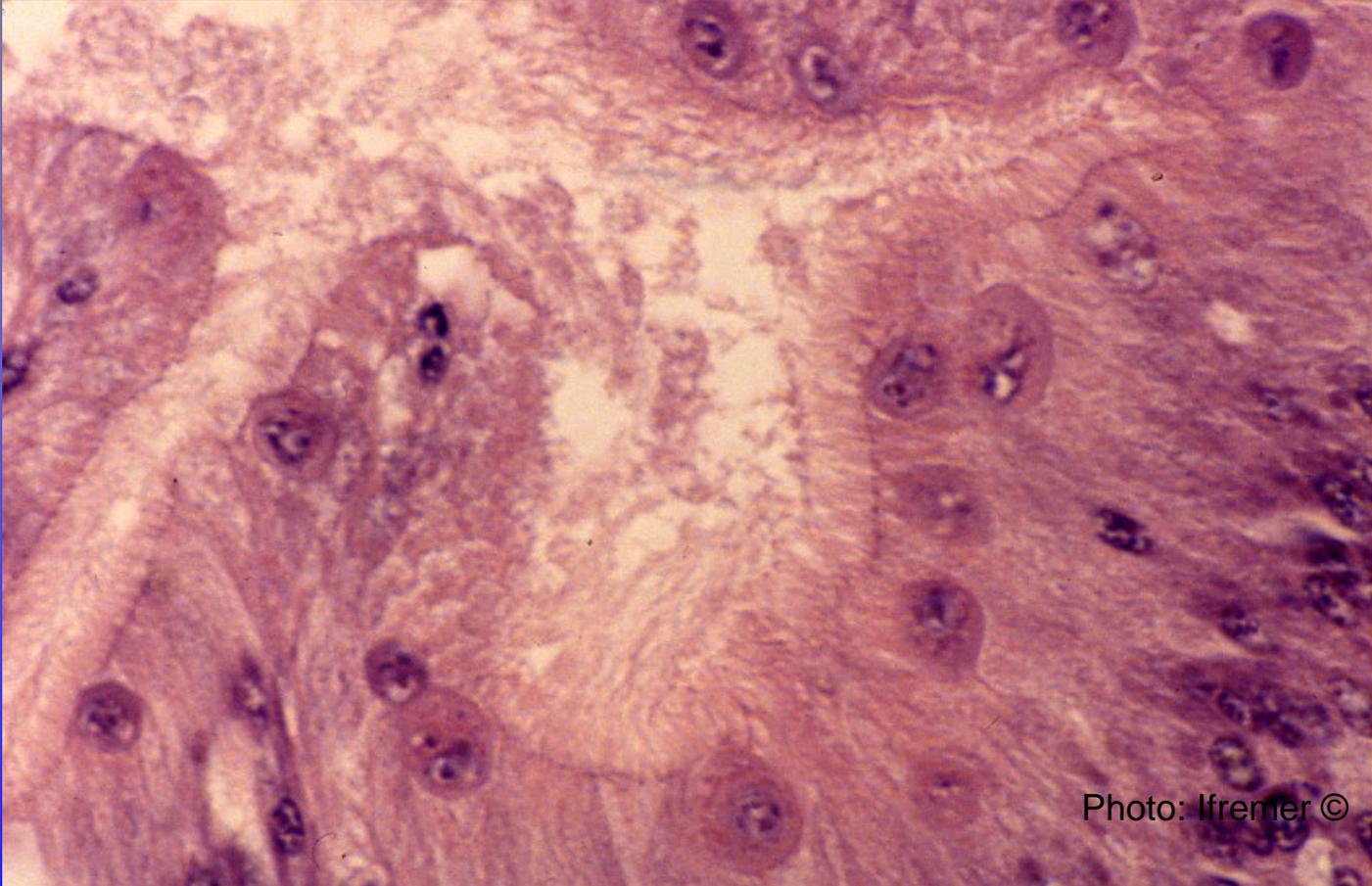


Photo: Ifremer ©

Histologie

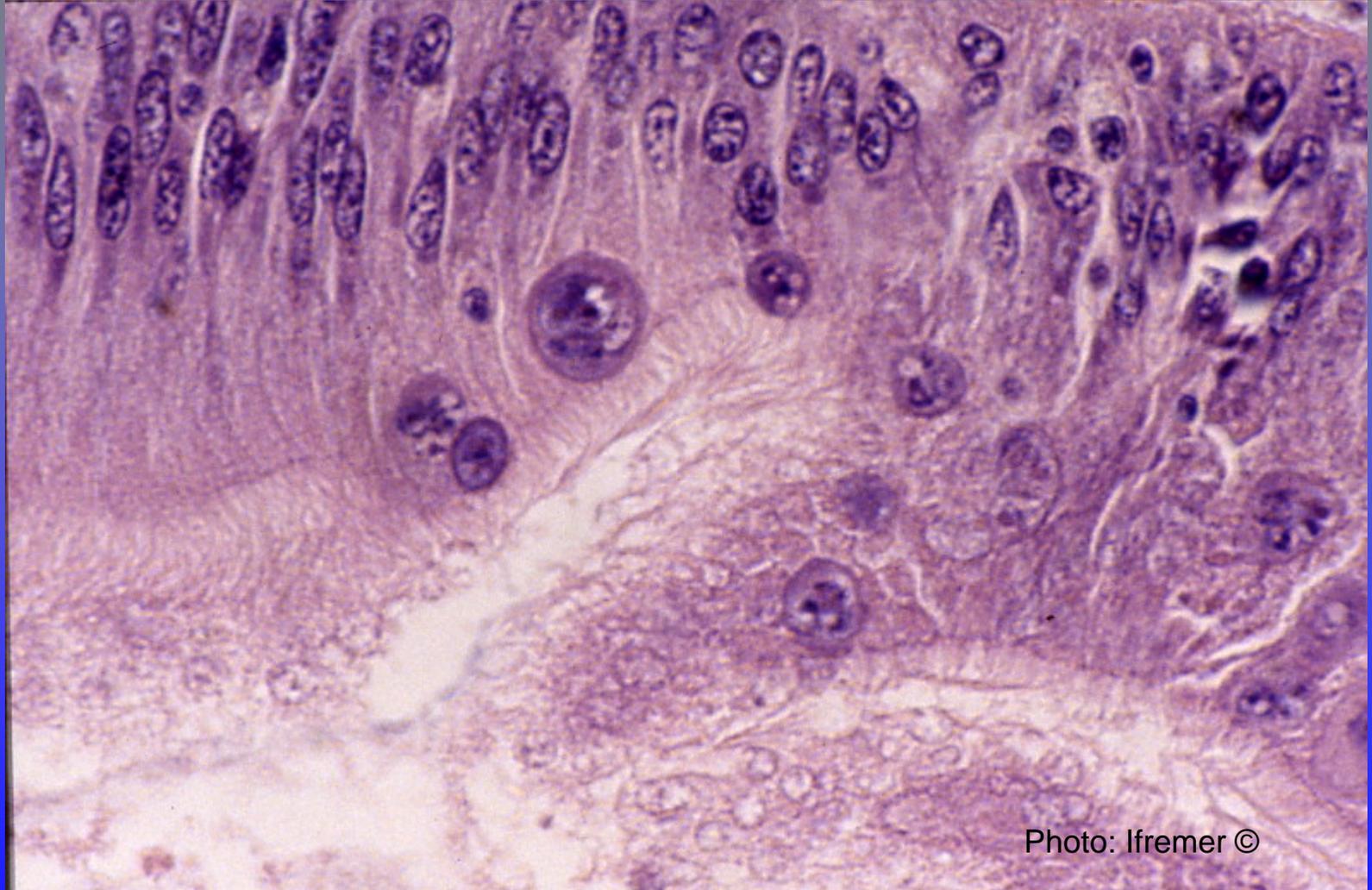


Photo: Ifremer ©

Histologie

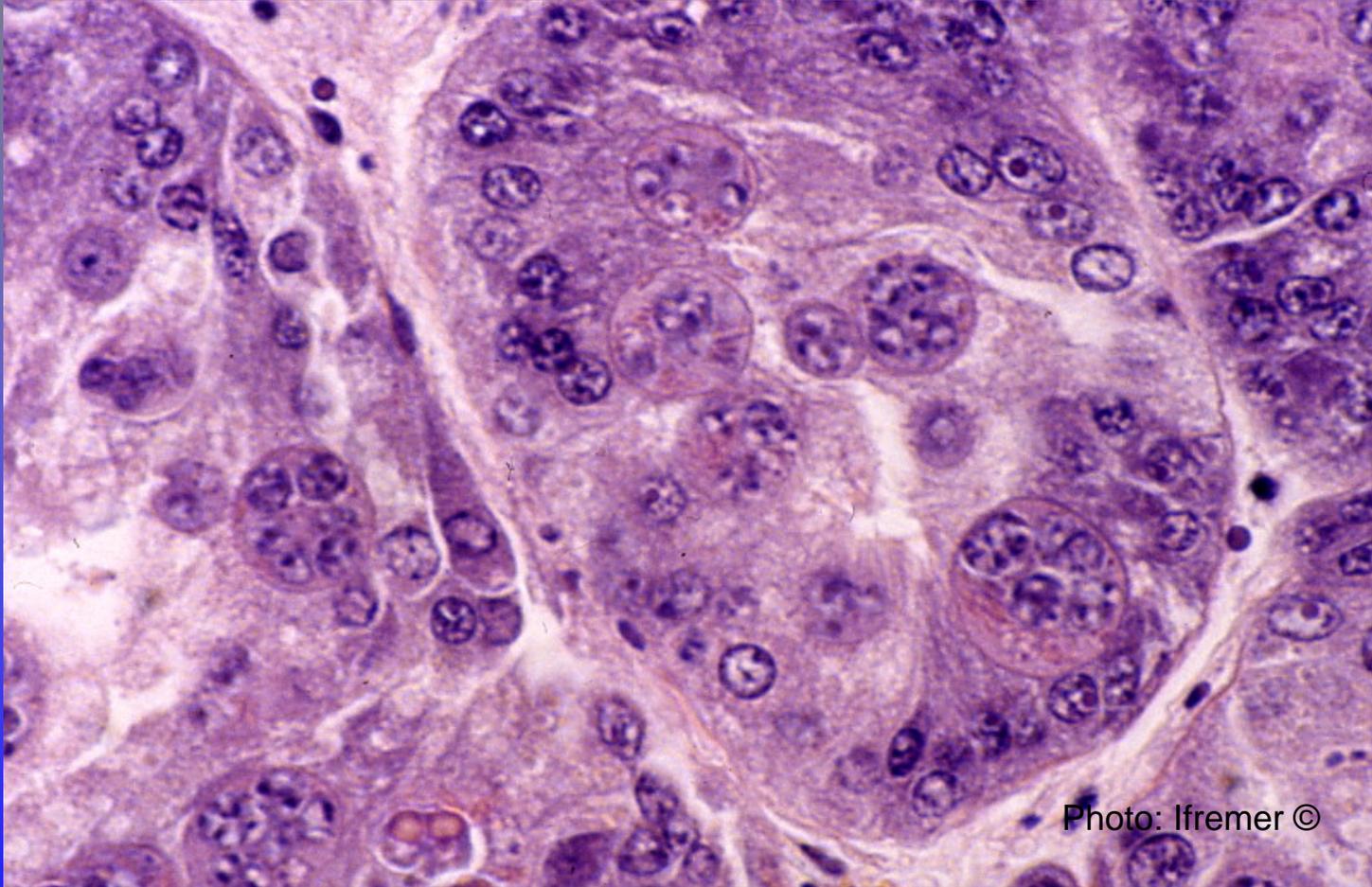
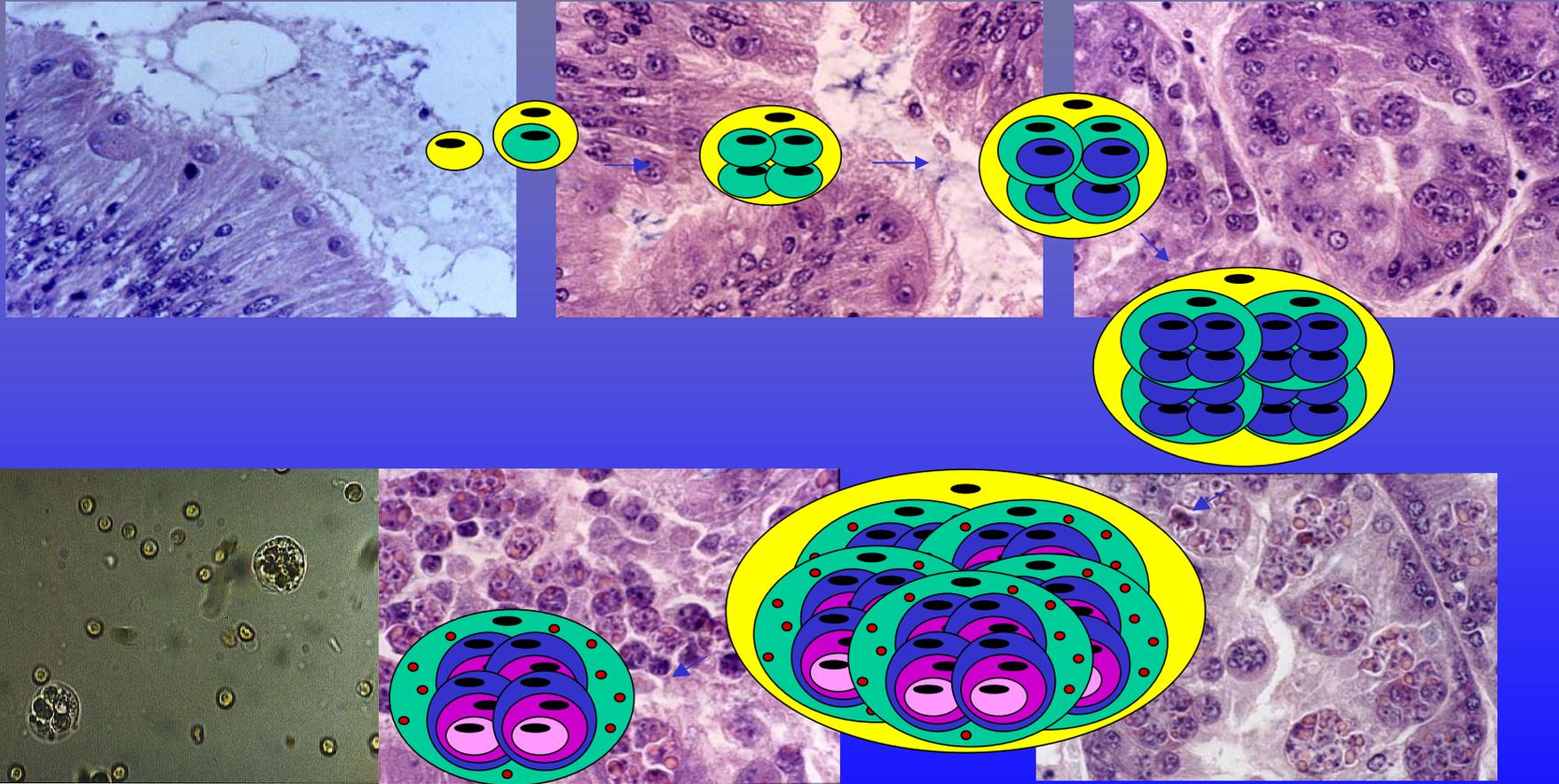


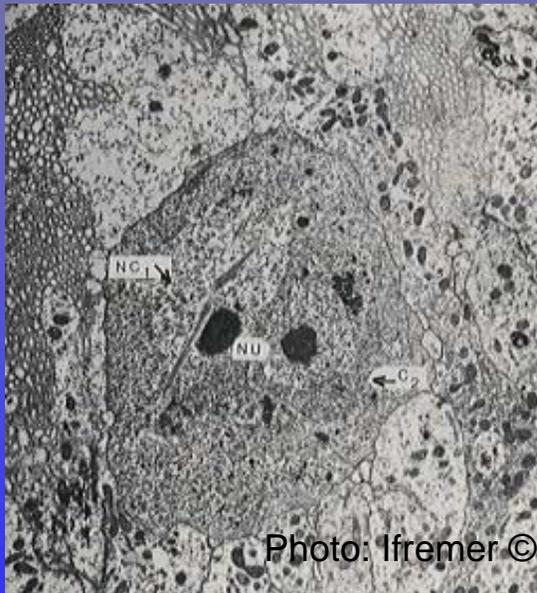
Photo: Ifremer ©

Sporulation

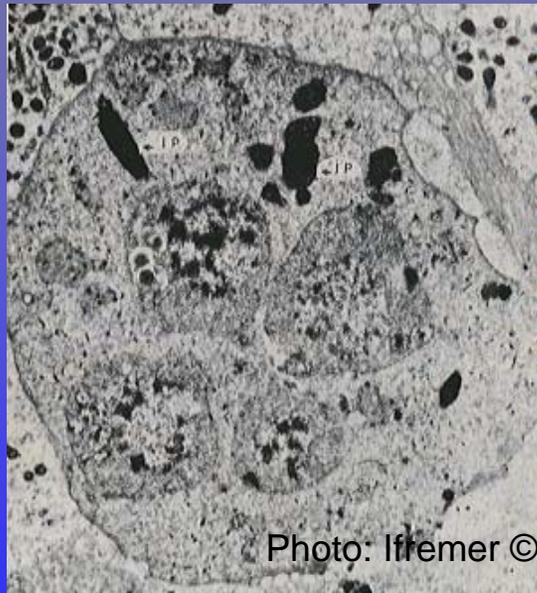


Infection with *M. refringens*

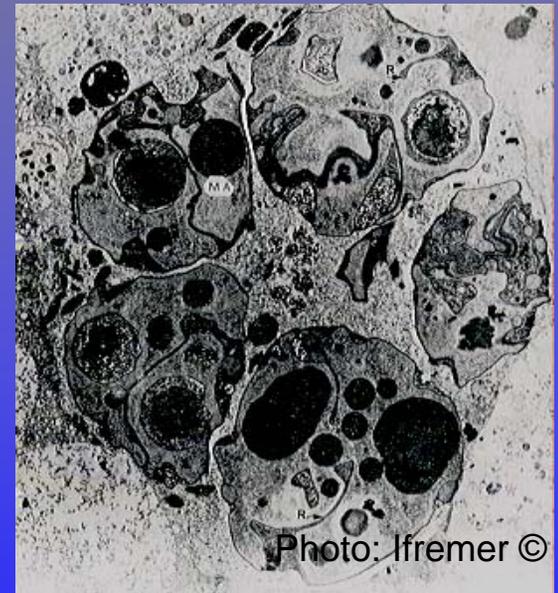
Microscopie électronique



Cellule primaire

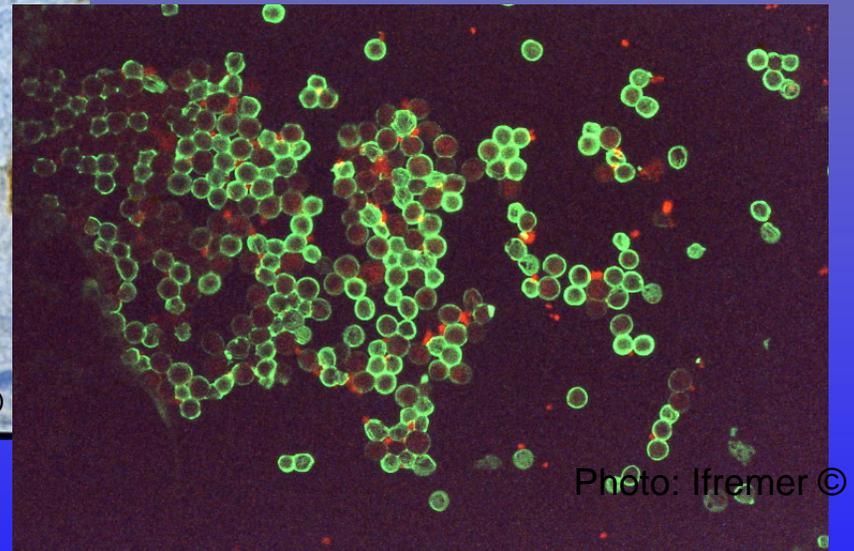
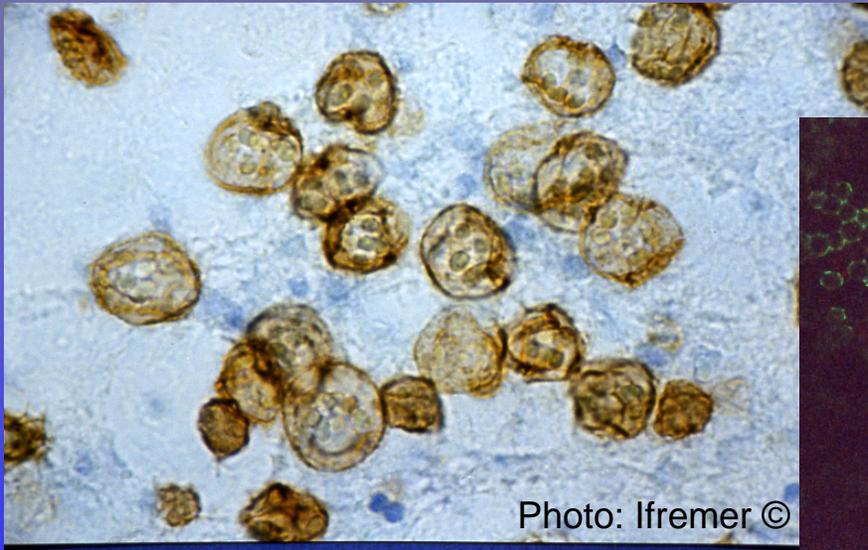


Cellule primaire
contenant 4 cellules
secondaires

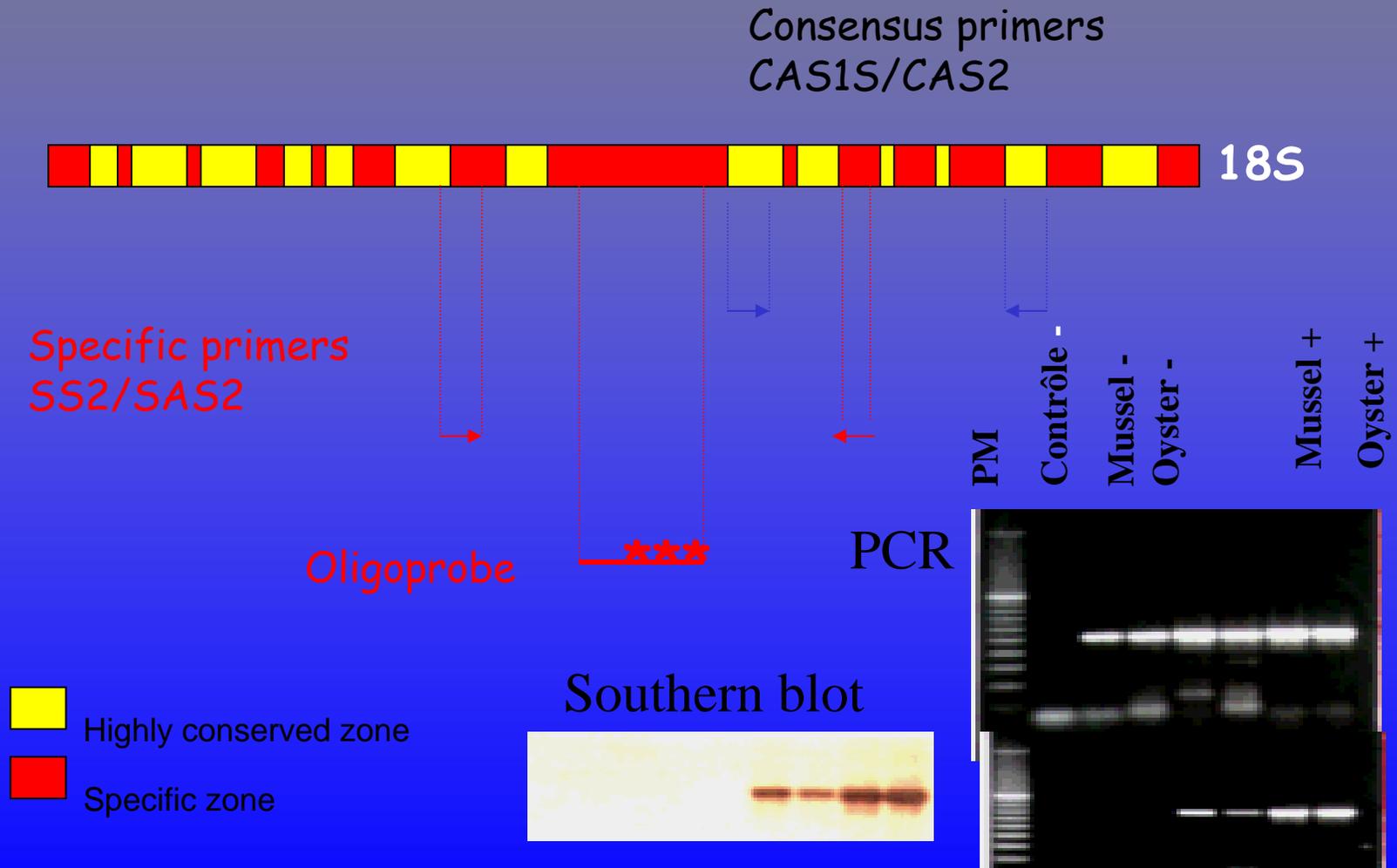


Sporange

Marquage immunologique



Diagnostic moléculaire : PCR



Diagnostic moléculaire : hybridation *in situ*

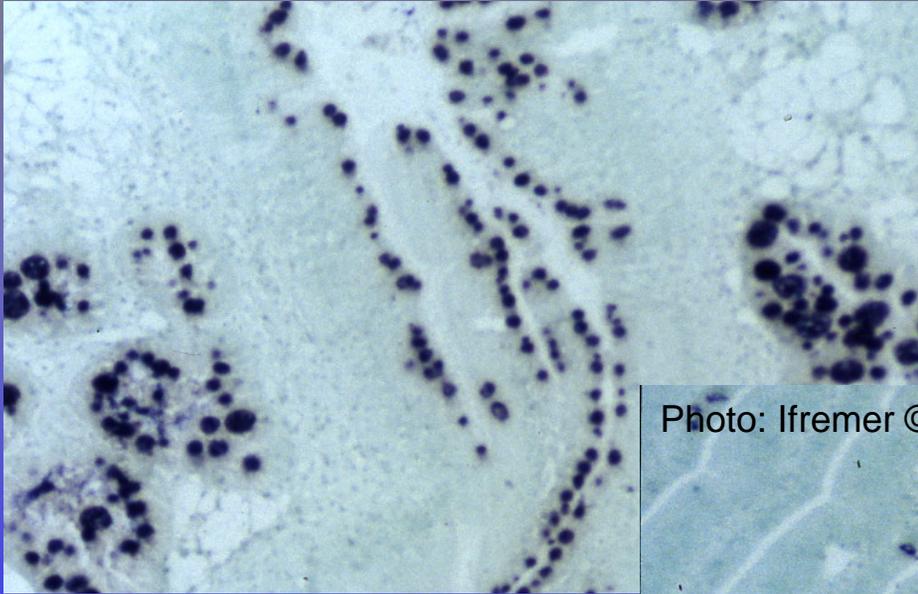
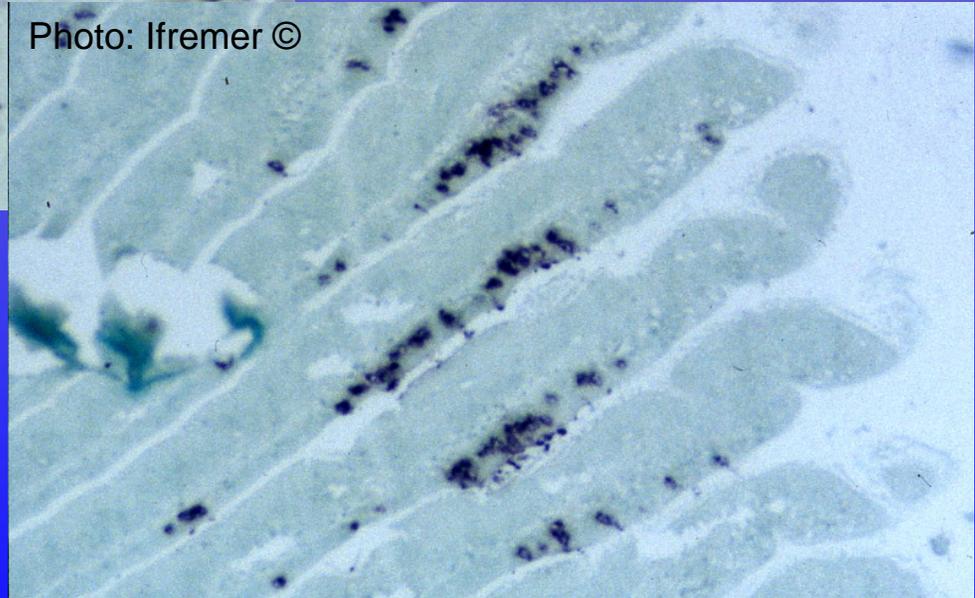


Photo: Ifremer ©

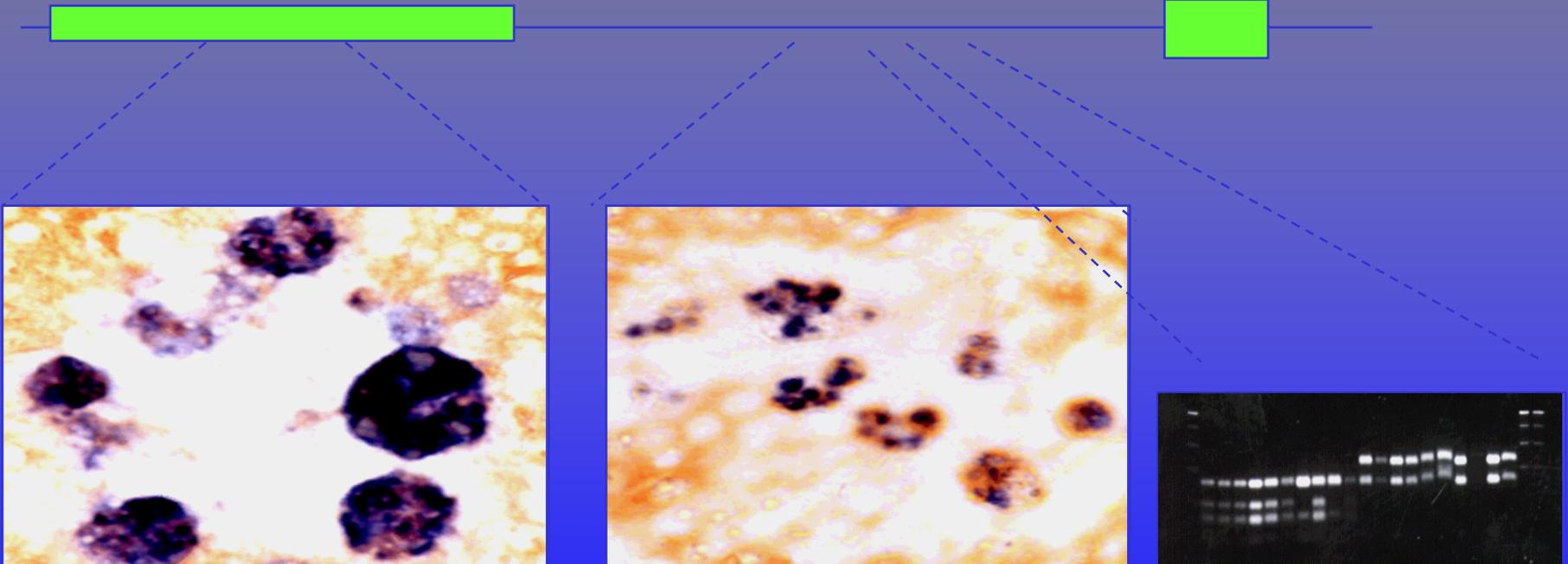


Diagnostic moléculaire

18S

ITS

5.8S



Genus (or more)
Marteilia refringens
Marteilia maurini
Marteilia sydneyi

Species
Marteilia refringens
Marteilia maurini

PCR-RFLP
Marteilia refringens

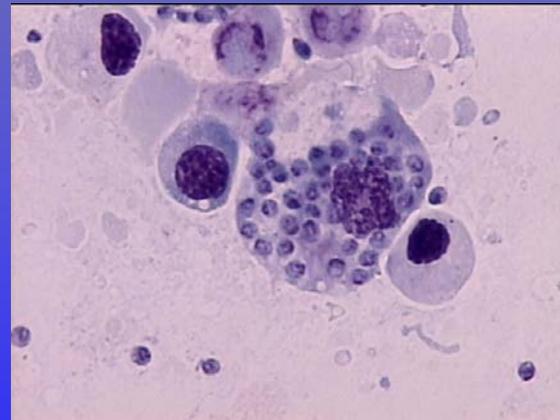
Les maladies des mollusques bivalves

Les principaux agents infectieux

Phylum des *Ascetospora*

Genre *Bonamia*

Agents responsables de maladies graves



Les maladies des mollusques bivalves

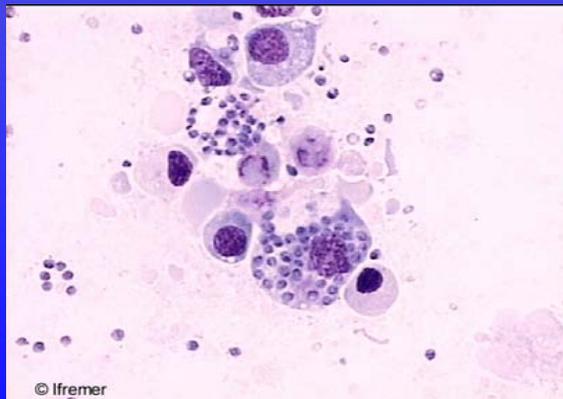
Les principaux agents infectieux

Bonamiose de l'huître plate européenne

Agent responsable : *Bonamia ostreae*

Mortalités massives depuis 1979

Espèce touchée : *Ostrea edulis*



Les maladies des mollusques bivalves

Les principaux agents infectieux

Bonamiose de l'huître plate européenne

Localisation géographique : France, puis Pays Bas,
Espagne, Angleterre, Irlande

Maladies à « microcells » aux USA depuis 1969

Symptômes : indentations et perforations
des branchies

Les maladies des mollusques bivalves

Les principaux agents infectieux

Bonamiose de l'huître plate européenne

Sites d'infection : tissus conjonctifs dans tous les organes

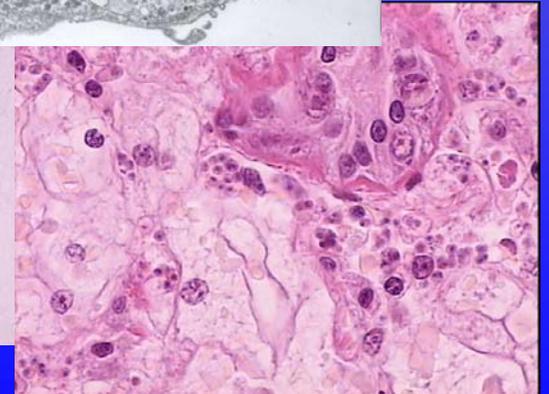
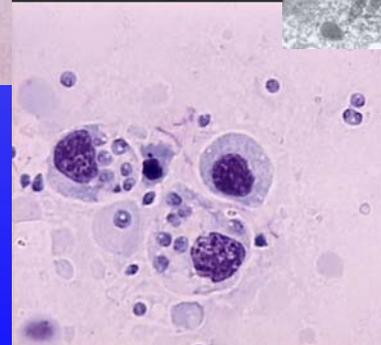
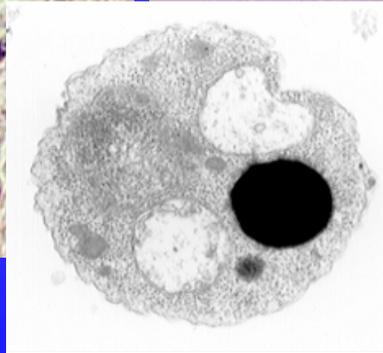
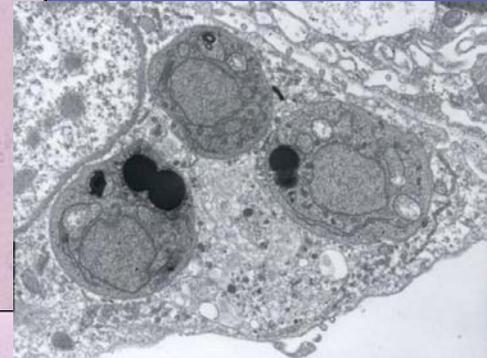
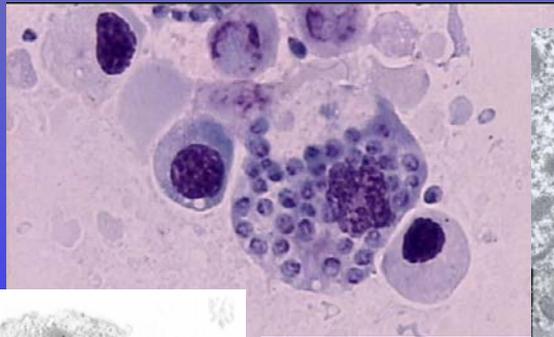
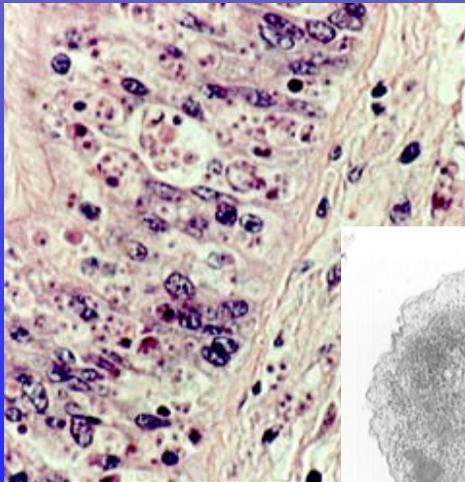
Diagnostic : empreintes de tissus, histologie, anticorps et sondes nucléiques

Cycle biologique : le parasite se multiplie par scissiparité dans les hémocytes

Les maladies des mollusques bivalves

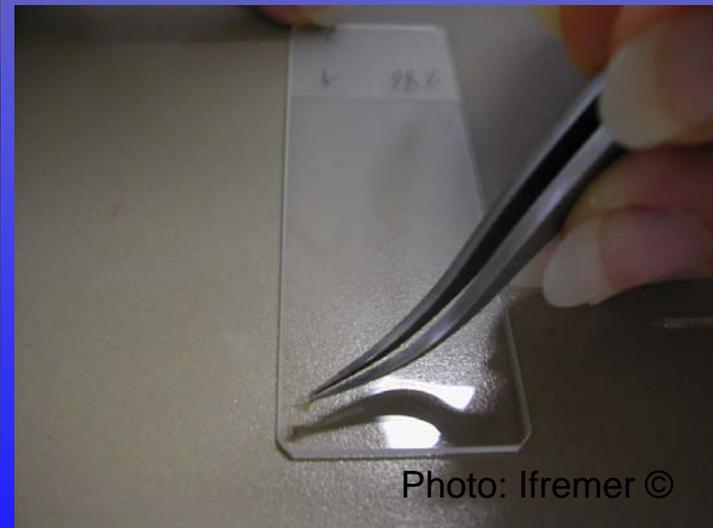
Les principaux agents infectieux

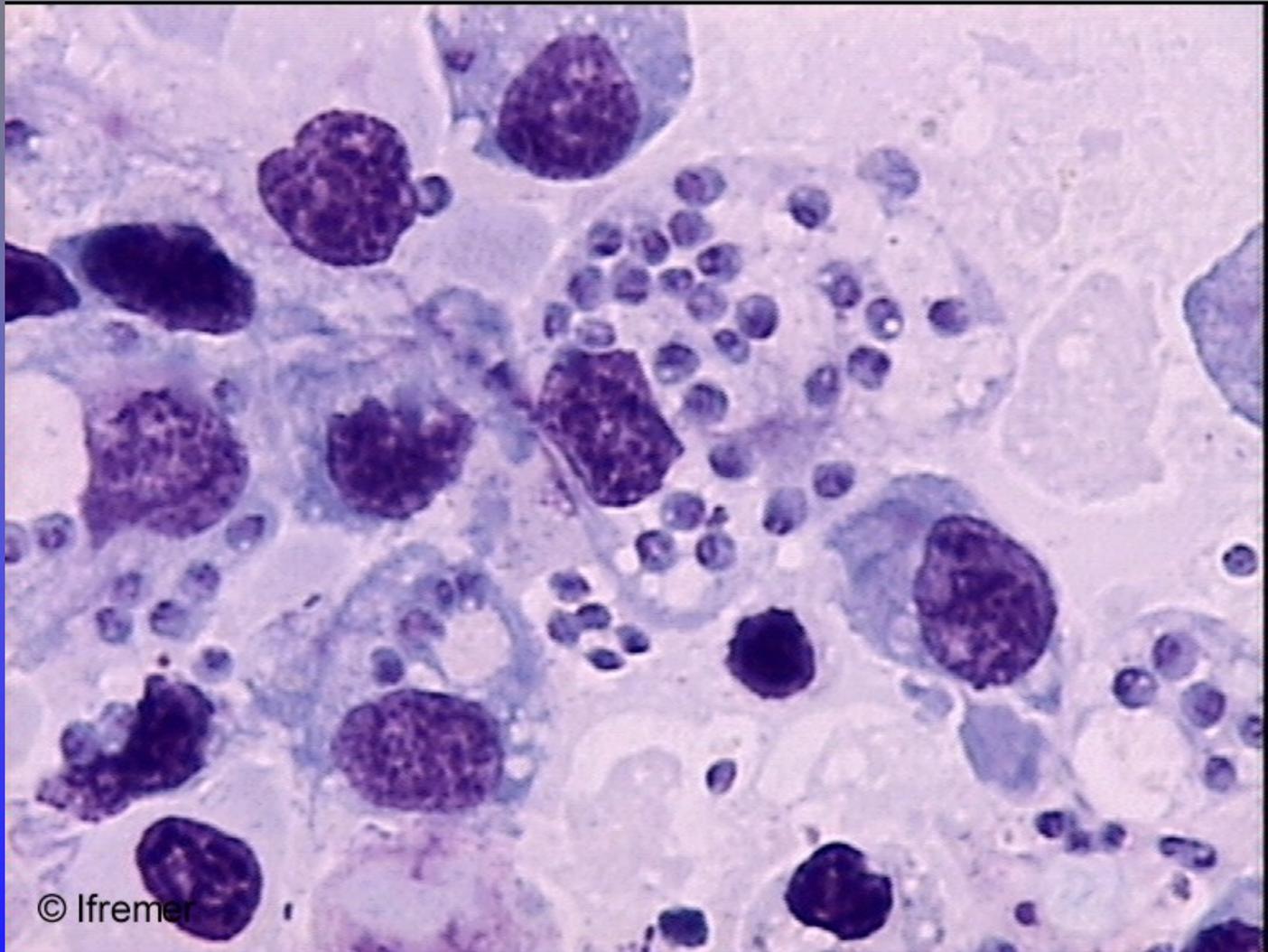
Bonamiose de l'huître plate européenne, *Ostrea edulis*



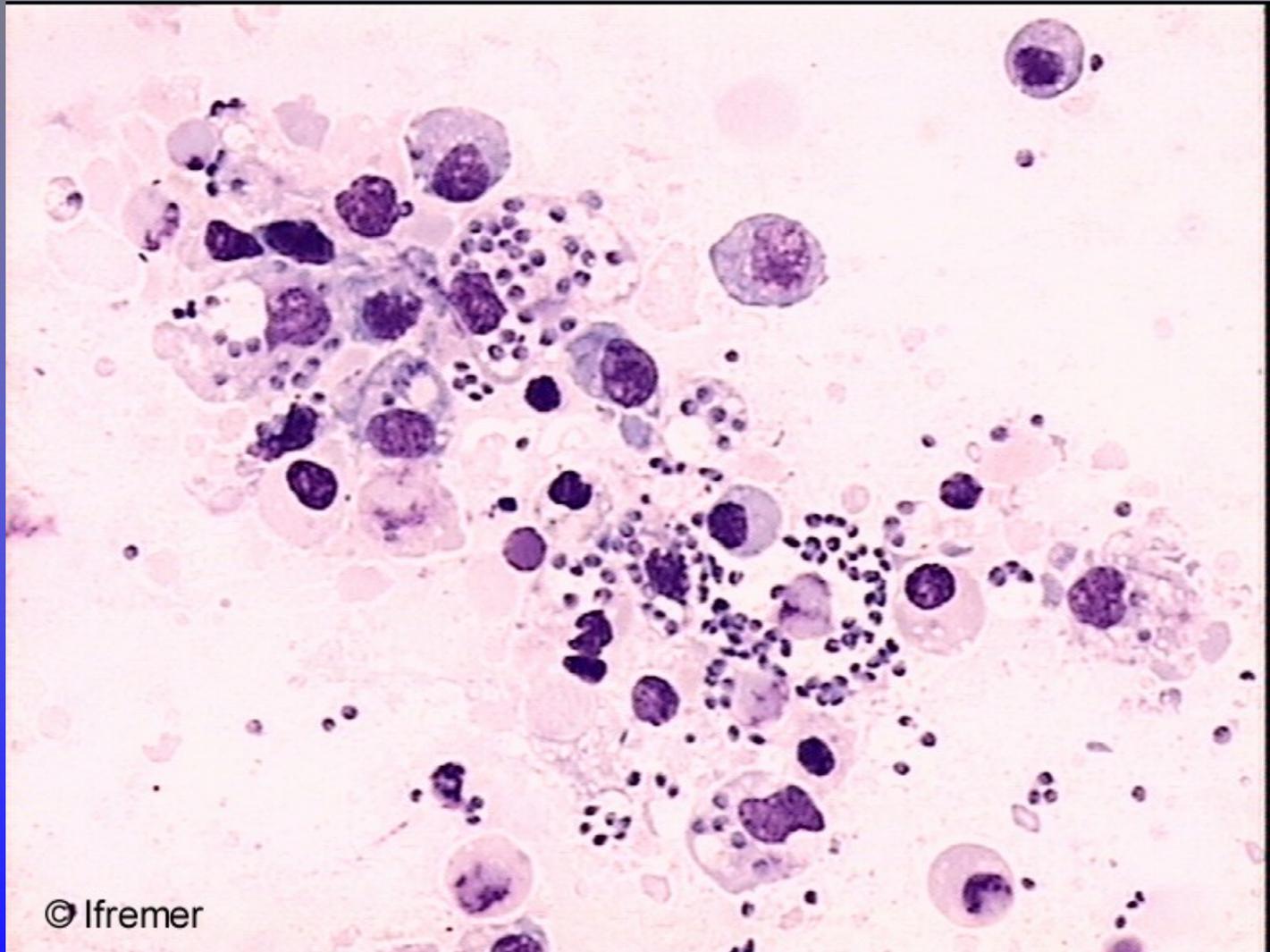
Les techniques de diagnostic

- Empreintes de tissus

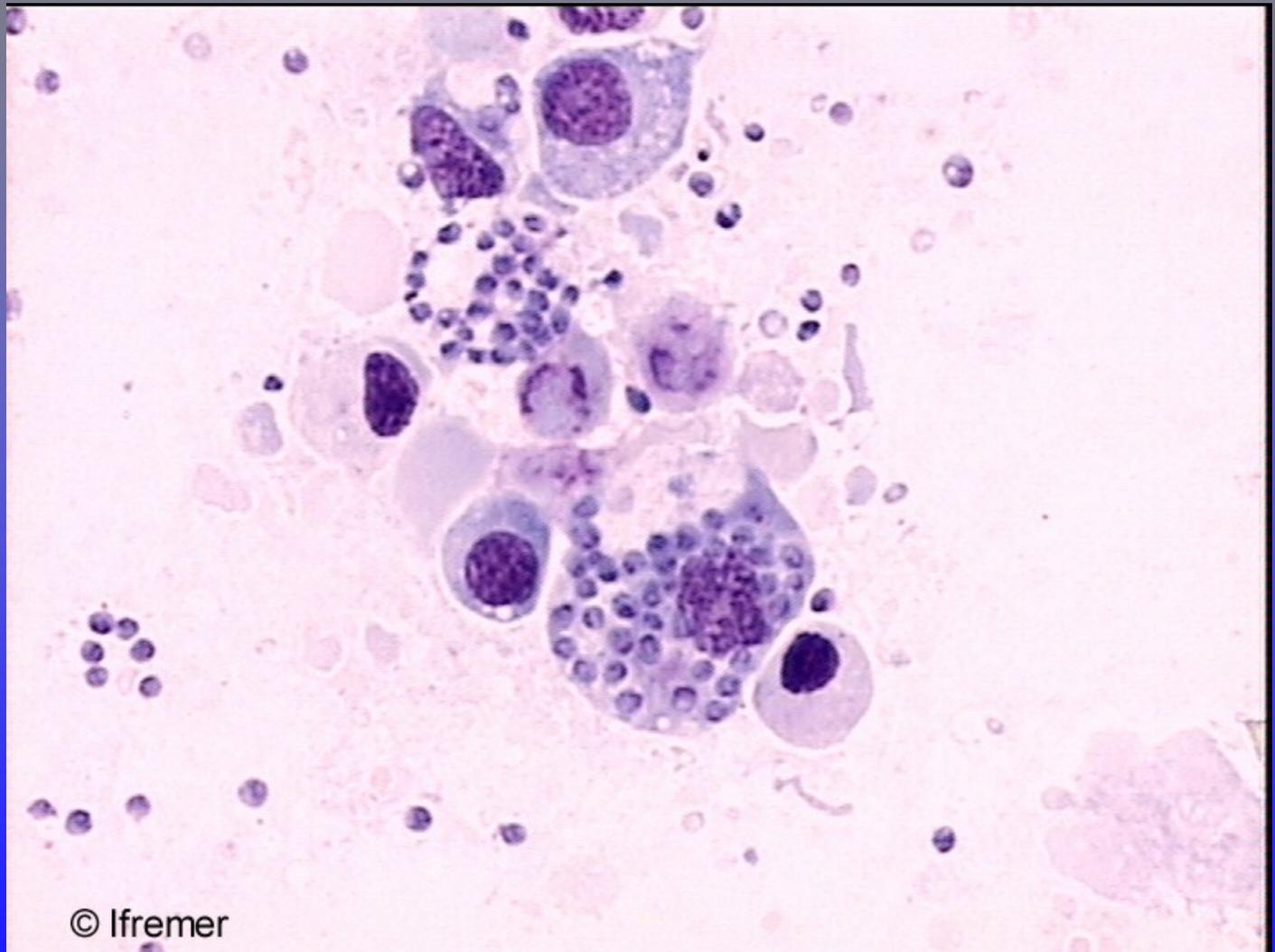




© Ifremer

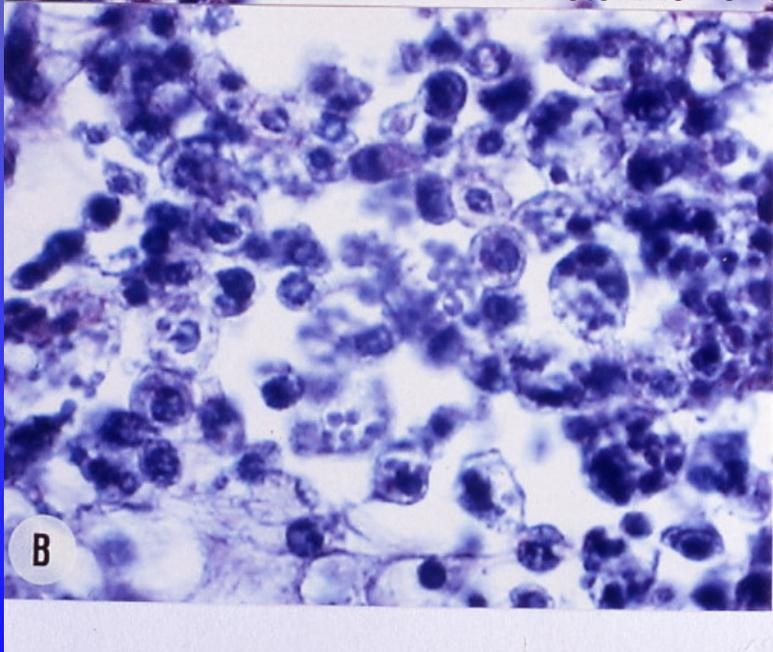
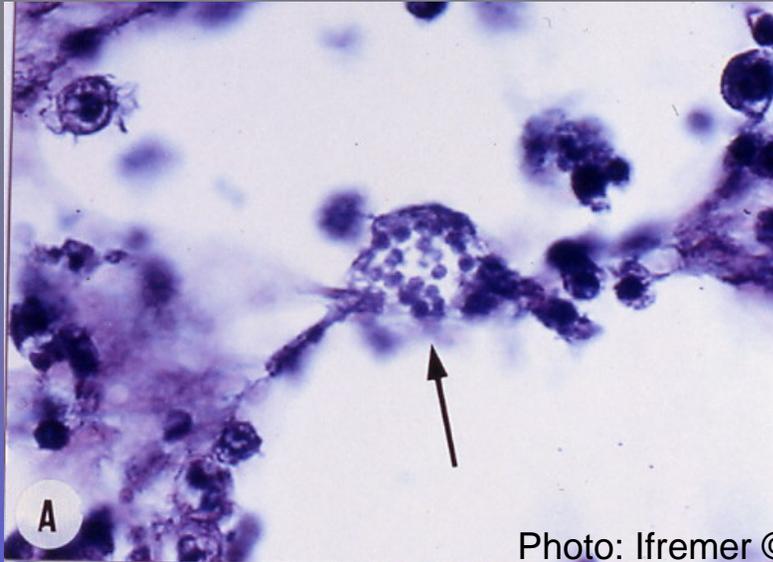


© Ifremer



© Ifremer

Histologie



Histologie

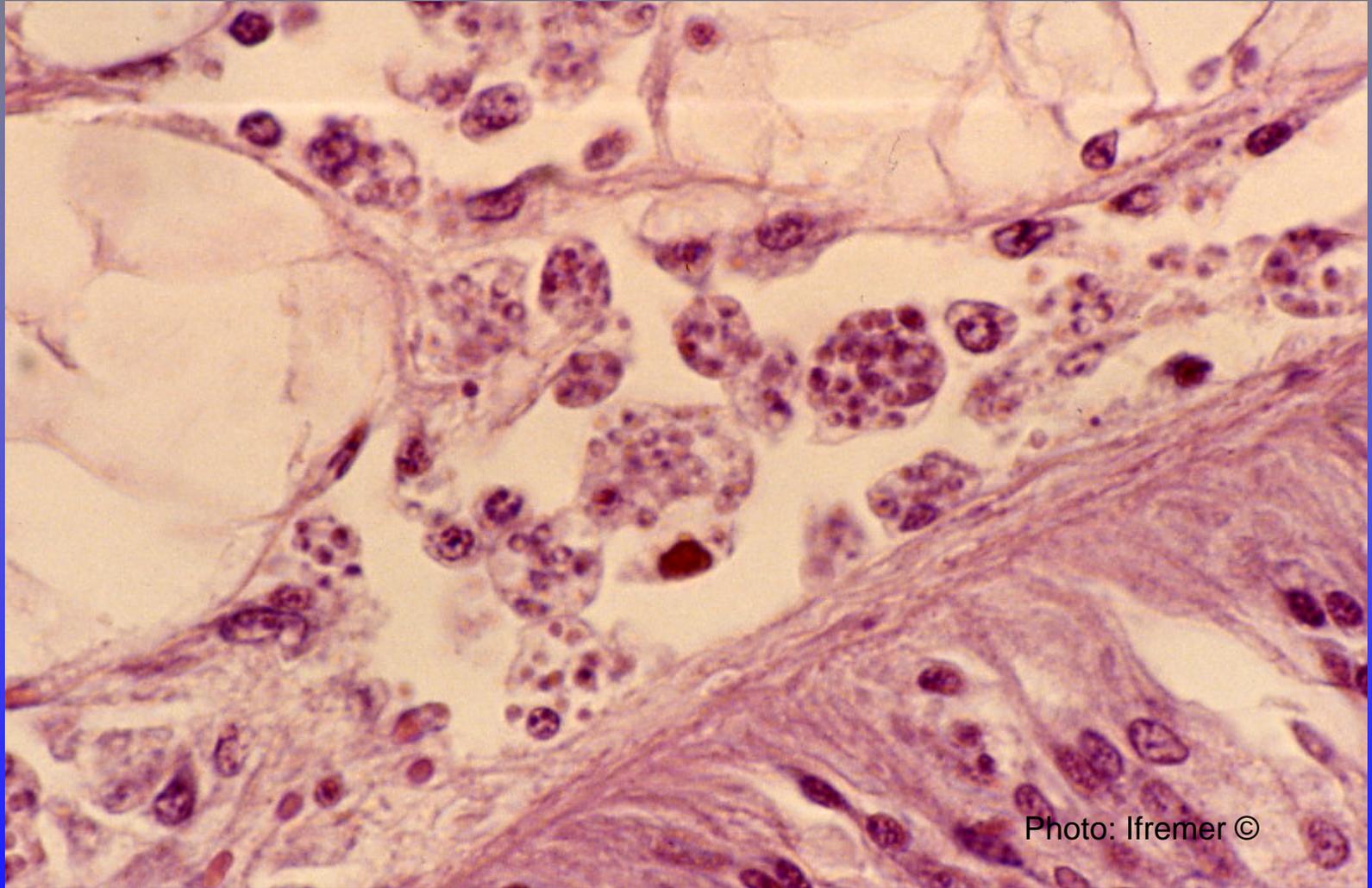
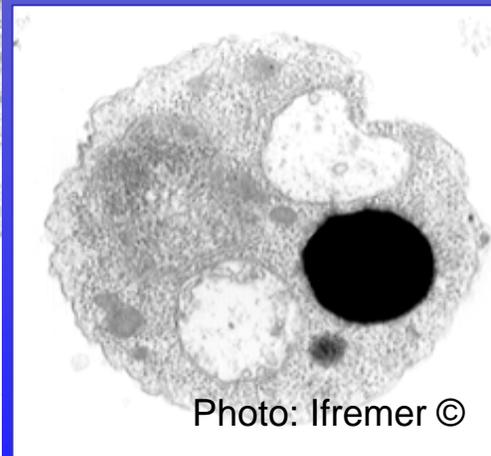
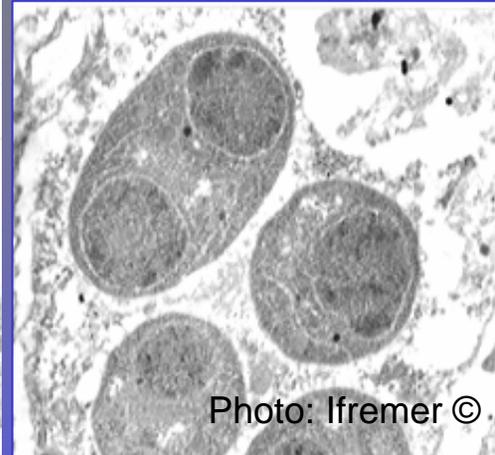


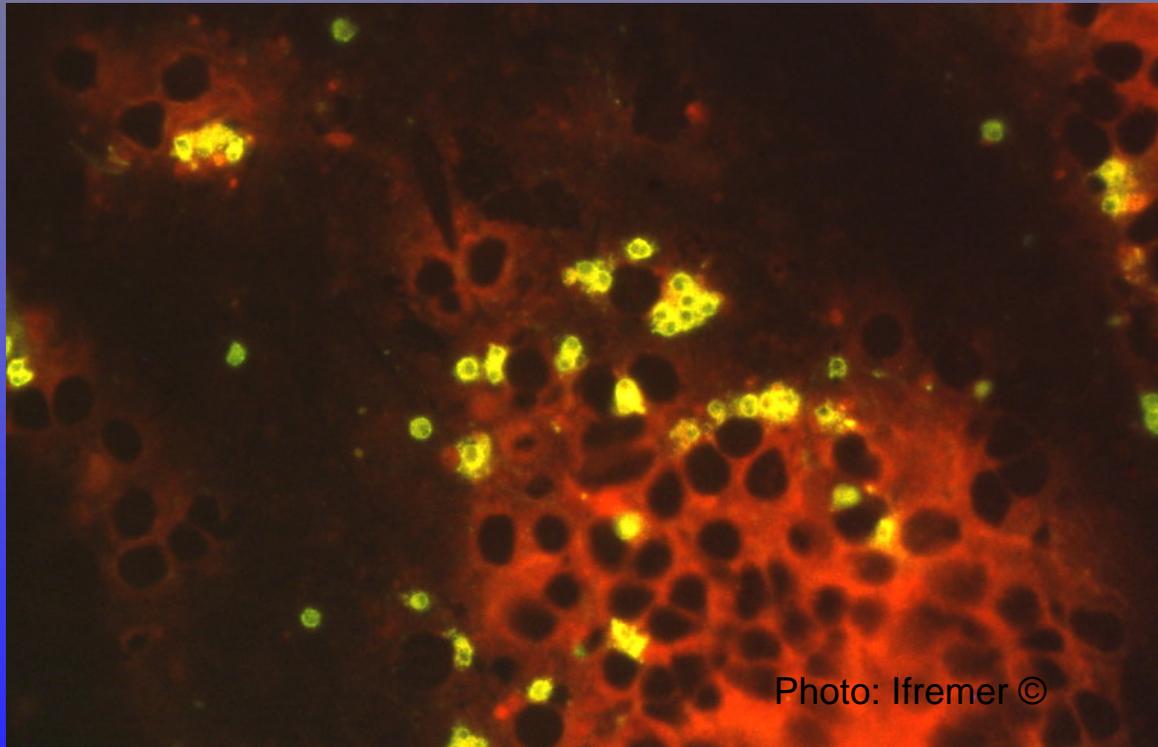
Photo: Ifremer ©

Infection with *Bonamia ostreae*

Microscopie électronique



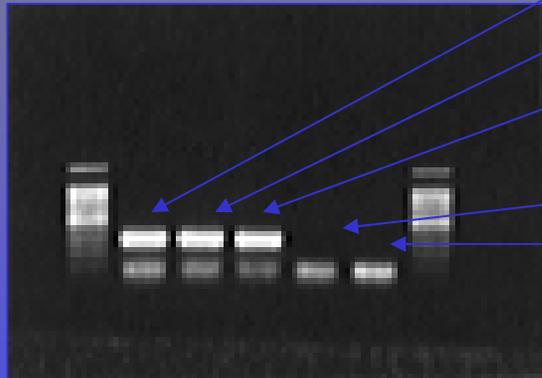
Marquage immunologique



15 C 2

Photo: Ifremer ©

Diagnostic moléculaire : PCR RFLP



B. ostreae

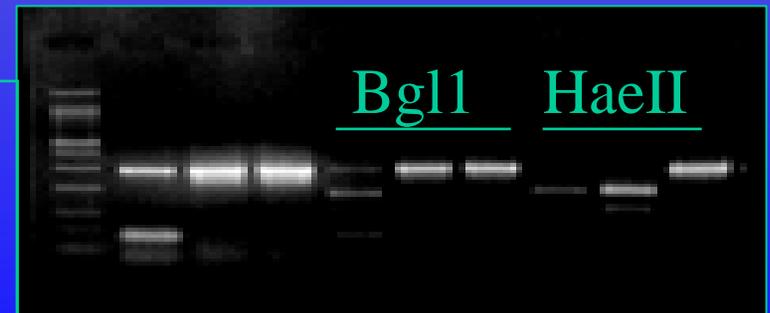
B. exitiosa

B. roughleyi

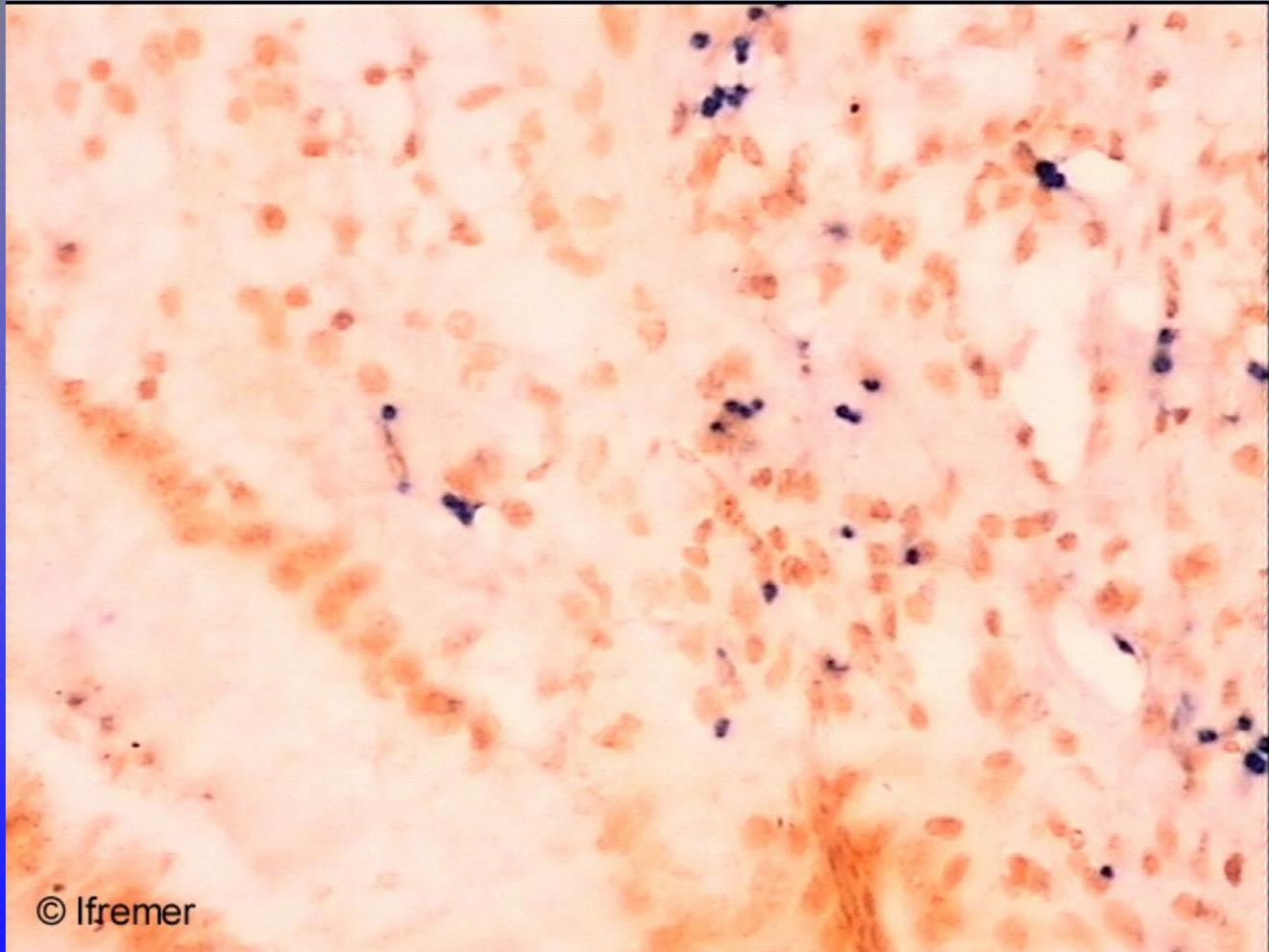
M. mackini

negative controle

	<i>B. ostr</i>	<i>B. ex</i>	<i>B. roughl</i>
PCR	300pb	304pb	304pb
Bgl1	+	-	-
HaeII	+	+	-



Diagnostic moléculaire : hybridation *in situ*



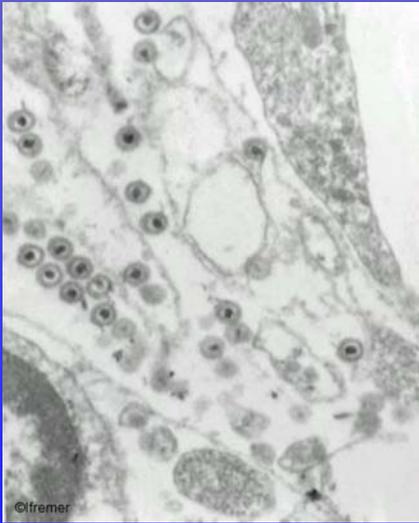
Les maladies des mollusques bivalves

Les principaux agents infectieux

Virus de type herpès

Agents responsables : virus de type herpès responsables de mortalités massives de larves et de juvéniles de bivalves

Espèces touchées : *Crassostrea virginica*,
C. gigas, *Ostrea edulis*, *Tiostrea chilensis*,
Ruditapes philippinarum, *R. decussatus*,
Pecten maximus

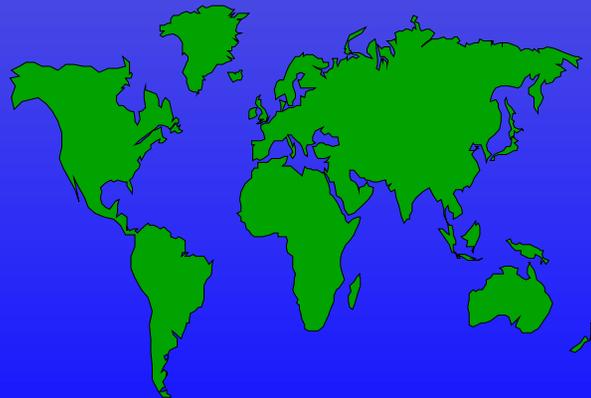


Les maladies des mollusques bivalves

Les principaux agents infectieux

Virus de type herpès

Localisation géographique : USA, Europe, Australie,
Nouvelle Zélande, Mexique



Les maladies des mollusques bivalves

Les principaux agents infectieux

Virus de type herpès

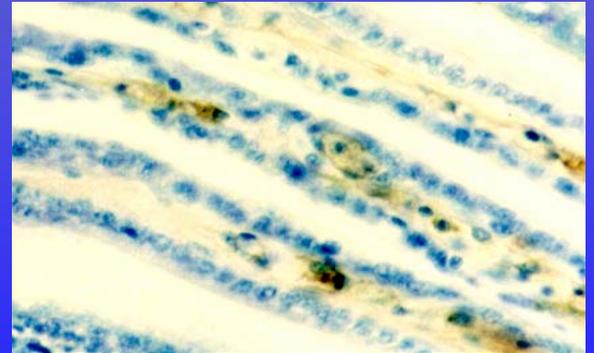
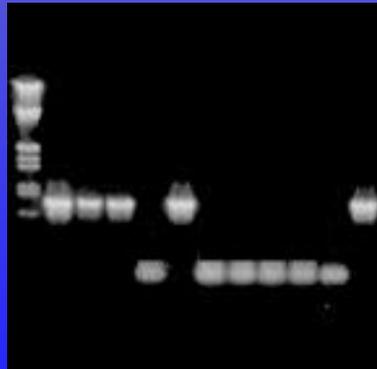
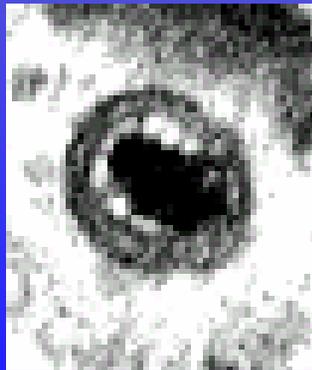
Symptômes : mortalités massives soudaines, le plus souvent pendant la période chaude de l'année

Les maladies des mollusques bivalves

Les principaux agents infectieux

Virus de type herpès

Diagnostic : histologie, microscopie électronique, anticorps spécifiques, PCR et hybridation *in situ*



La réglementation et le contrôle des maladies

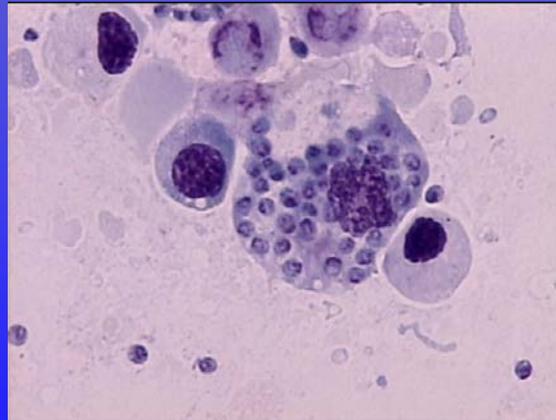
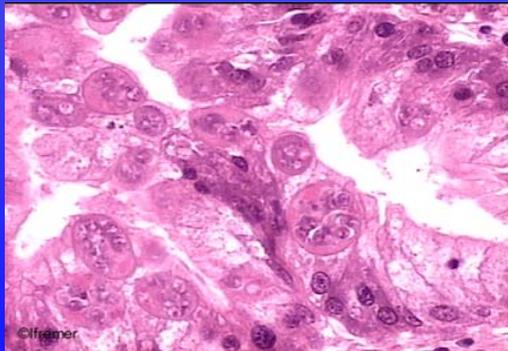
Les Directives Européennes (Directive 91/67/CEE
et Directive 93/54/CEE) :



suivi et contrôle de la santé des animaux
aquatiques et des produits d'aquaculture

La réglementation et le contrôle des maladies

Deux maladies à recherche et déclaration obligatoire au sein de l'Union Européenne : la bonamiose et la marteiliose de l'huître plate



La réglementation et le contrôle des maladies

Réglementation des transferts : définition de zones indemnes et non indemnes de bonamiose et de marteiliose et contrôles assurés par des Laboratoires Nationaux de Référence pour les maladies des mollusques (LGP : LNR français)



Directive 91/67/EEC

- Couvre la mise sur le marché
- S'applique aux animaux d'aquaculture
- Règles minimales de santé animale (Art 3)
- Principe de déclaration d'une zone/ferme indemne d'une maladie de la Liste II (Bonamiose et Marteiliose) (Arts 5-10 + Annexes B et C)
- Principe de garanties additionnelles (maladies de la liste III) (Arts 12-13)
- Problème des espèces non sensibles (Art 14)
- Harmonisation de la stratégie d'échantillonnage et des méthodes diagnostiques (Art 15)
- Règles d'importation depuis des pays tiers (Arts 19-23)

Catégories de maladies

Liste I:

Exotiques à l'UE.

(doivent être éradiquées selon la Directive 93/53/EEC).

Liste II:

Présentes dans certains endroits.

Zones pouvant justifier leur statut indemne peuvent obtenir un agrément.

Zones agréées vis à vis de maladies de la liste II sont soumises à des restrictions d'échanges (possibles avec des régions de statut zoosanitaire au moins équivalent)

Liste III:

Les États Membres peuvent exiger des garanties additionnelles pour le contrôle des importations s'ils justifient une étude nationale et un programme de contrôle pour ces maladies de la liste III.

Directive 95/70/EEC

- Mesures minimales de contrôle de certaines maladies des mollusques
- Nécessité d'un registre consignait les entrées, les sorties et les mortalités dans toutes les fermes conchylicoles (Art 3)
- Programme de surveillance minimum dans toutes les exploitations et gisements naturels exploités (Art 4)
- Mesures minimales de contrôle lorsque détection de maladies listées dans l'Annexe D (Arts 5)
 - Investigation épidémiologiques
 - Restrictions de mouvements
- Nomination de LNR et de LCR (Arts 6+7)

Décision 2002/878/EC diagnostic échantillonnage et méthodes pour le diagnostic de Bonamiose et Marteiliose

- L'échantillonnage et les méthodes diagnostiques devant être appliqués pour la détection et la confirmation de la bonamiose (*Bonamia ostreae*) et la marteiliose (*Marteilia refringens*) dans le cadre de mortalités anormales et dans le cadre de demande d'agrément doivent être conformes à ceux spécifiés dans le Manuel aquatique OIE 3ème édition, 2000, Partie 3 Maladies des mollusques: Chapitre I.2 (General information), Chapitre 3.1.1 (bonamiosis) et Chapitre 3.1.3 (marteiliosis).

Décision 2003/83/EC modifiant l'Annexe D de la Directive 95/70/EC

Disease	Pathogen	Susceptible host species
Bonamiosis	<i>Bonamia exitiosus</i>	<i>Tiostrea chilensis</i> and <i>Ostrea angasi</i>
	<i>Mikrocytos roughleyi</i>	<i>Saccostrea (Crassostrea) commercialis</i>
Marteiliosis	<i>Marteilia sydneyi</i>	<i>Saccostrea (Crassostrea) commercialis</i>
Microcytosis	<i>Mikrocytos mackini</i>	<i>Crassostrea gigas</i> ; <i>C. virginica</i> ; <i>Ostrea edulis</i> ; <i>O. conchaphila</i>
Perkinsosis	<i>Perkinsus marinus</i>	<i>Crassostrea virginica</i> and <i>C. gigas</i>
	<i>Perkinsus olseni/atlanticus</i>	<i>Haliotis ruber</i> ; <i>H. cyclobates</i> ; <i>H. scalaris</i> ; <i>H. laevigata</i> ; <i>Ruditapes philippinarum</i> and <i>R. decussates</i>
MSX disease	<i>Haplosporidium nelsoni</i>	<i>Crassostrea virginica</i> and <i>C. gigas</i>
SSO disease	<i>Haplosporidium costale</i>	<i>Crassostrea virginica</i>
Withering syndrome of abalones	<i>Candidatus Xenohaliotis californiensis</i>	Members of the genus <i>Haliotis</i> including black abalone (<i>H. cracherodii</i>), red abalone (<i>H. rufescens</i>), pink abalone (<i>H. corrugata</i>), green abalone (<i>H. fulgens</i>) and white abalone (<i>H. sorenseni</i>).

Decision 2003/390/EC

LIST OF AQUACULTURE ANIMAL SPECIES CONSIDERED NOT SUSCEPTIBLE TO AND NOT RESPONSIBLE FOR TRANSMISSION OF CERTAIN DISEASES

Mollusc disease (pathogen)	Mollusc species
Bonamiosis (<i>Bonamia ostreae</i>)	Pacific oyster <i>Crassostrea gigas</i> Mussels <i>Mytilus edulis</i> and <i>M. galloprovincialis</i> European native clam <i>Ruditapes decussatus</i> , Manila clam <i>Ruditapes philippinarum</i>
Marteiliosis (<i>Marteilia refringens</i>)	Pacific oyster <i>Crassostrea gigas</i>

Pour éviter la dissémination d'un agent pathogène

(*Bonamia ostreae* et *Marteilia refringens*)

Directive 91/67/EEC Article 8 :

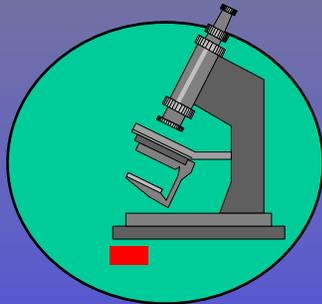
L'immersion d'huîtres plates :

- ➡ dans une zone indemne de *Bonamia ostreae* et *Marteilia refringens* est possible si un **certificat** atteste qu'elles proviennent d'une zone indemne
- ➡ dans une zone non indemne *Bonamia ostreae* et *Marteilia refringens* est possible depuis une zone indemne ou d'une zone présentant un statut équivalent

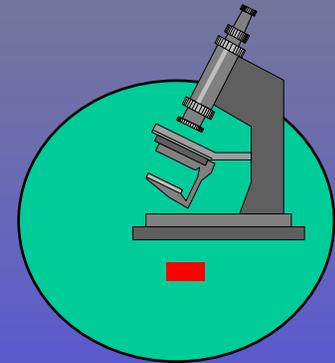
Pour éviter la dissémination d'un agent pathogène

(*Bonamia ostreae* et *Marteilia refringens*)

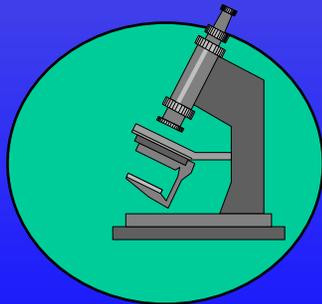
Immersion d'huîtres plates:



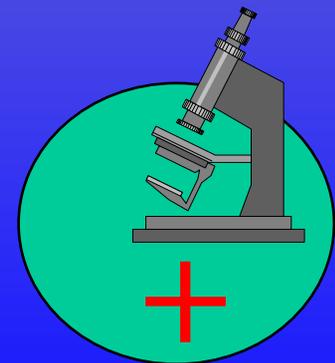
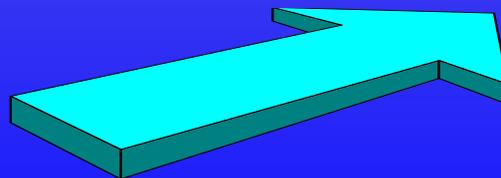
Zone A



Zone B



Statut au moins
équivalent



Pour éviter la dissémination d'un agent pathogène

(Bonamia ostreae et Marteilia refringens)



Merci de votre attention

Règles d'importation harmonisées

Décision 2003/804/EC

1 - Mollusques vivants, œufs ou gamètes aux fins d'élevage, d'engraissement, ou de reparquage dans la Communauté

2 - Mollusques vivants pour la consommation humaine

3 - Produits de mollusques (non-viables) pour la consommation humaine

1 - Mollusques vivants, œufs ou gamètes aux fins d'élevage, d'engraissement ou de repaillage dans la Communauté

Certificat Annexe II

Territoire indemne (OIE) Annexe D/non sensible*
[Territoire indemne (OIE) Liste II/non sensible]
+ Programmes de surveillance (95/70)
pas de prohibition santé animale
Pas de mortalité anormale
Pas de contact avec des animaux de statut zoosanitaire inférieur

Pays tiers

OUI A TOUT

SINON

BIP

Non indemne de ANNEXE D

Non indemne de Liste II

*** Mais l'exploitation n'est pas en contact avec des eaux côtières ou estuariennes et l'exploitation ne contient pas d'espèce sensible**

Communauté Européenne

Introduction dans l'ensemble de la CE y compris des zones agréées vis à vis de Bonamia et/ou Marteilia

Introduction dans des zones non agréées pour Bonamia et/ou Marteilia

2 - Mollusques vivants pour la consommation humaine

**MOLLUSQUES
VIVANTS**

**répondent à toutes les exigences
d'importation pour l'élevage,
l'engraissement et le reparquage
(indemne/non sensible*)**

Annexe II

+

91/493

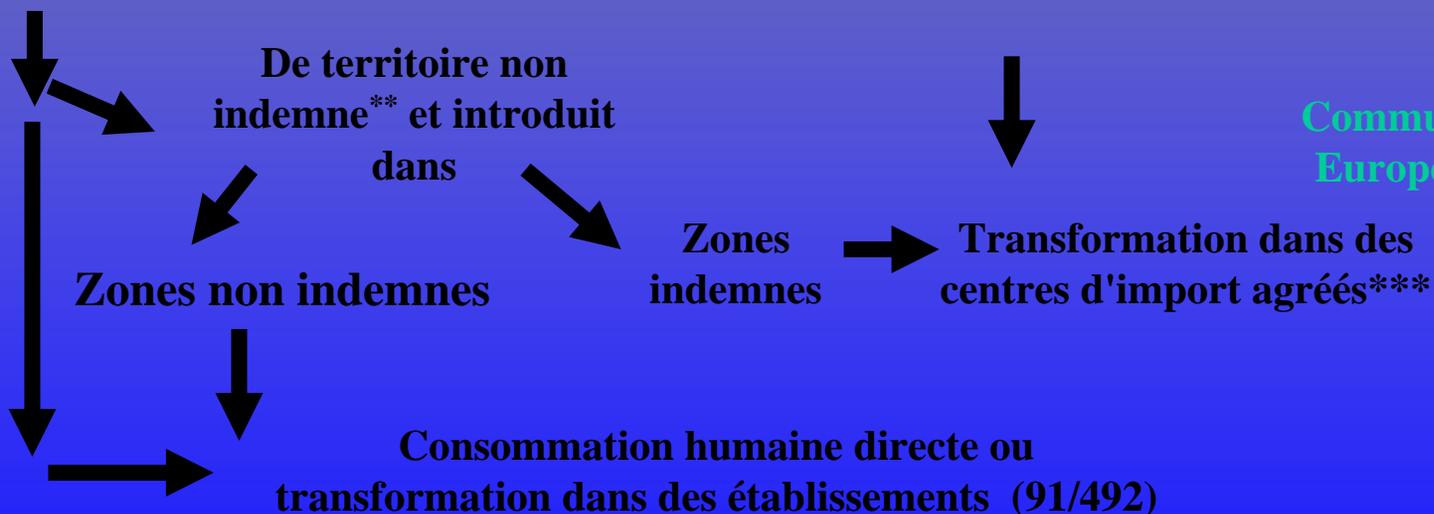
**MOLLUSQUES
VIVANTS**

**ne répondent pas aux exigences
d'importation pour l'élevage,
l'engraissement et le reparquage
(indemne/non sensible*)**

91/493

Pays tiers

BIP



Communauté Européenne

*Exploitation sans contact avec eaux côtières ou estuariennes et ne contenant pas d'espèce sensible

** Indemne d'Annexe D et Liste II ou non sensible

*** = Etablissement (91/492) avec traitement des effluents

3 - Produits de mollusques
(non-viables)
pour la consommation humaine

**PRODUITS de MOLLUSQUES
(non-viables)
Pas de mortalité anormale ou
d'autres signes de maladie**

Pays Tiers

91/493



BIP

Communauté
Européenne

**Autre transformation dans
des centres d'importation
agréés***

**Consommation humaine
directe**

* = Etablissement (91/492) avec traitement des effluents

Methods of control

- Oysters from areas known to be infected (currently or historically) should not be transferred to areas with no record of *M. refringens*.
- Mussels, *M. galloprovincialis* or *M. edulis* , from areas where oysters are infected by *M. refringens* should be treated with similar caution.
- Oysters from areas where *M. galloprovincialis* or *M. edulis* are infected by *Marteilia* spp. (*M. maurini* or *M. refringens*) could be treated with similar caution.
- Results of experimental studies (Berthe et al. 1998, Audemard et al. 2000 & 2001) provide evidence of an intermediate hosts in the life cycle of *M. refringens*. A copepod, *P. grani*.
- In enzootic areas, control is attempted by curtailing the planting of European oyster seed during the period of transmission (July and August) and by growing European oysters in areas with high salinities (35-37 ppt) to limit the development of *M. refringens*.

