

Mortalités d'huitres creuses

Crassostrea gigas

Étude de la présence de *Vibrio aestuarianus* dans
les huitres en affinage à Marennes-Oléron et des
paramètres induisant les mortalités.

Rapport

Suivi réalisé du 30 septembre au 15 décembre 2014
en claires et sur parcs.



Février 2015

Bouquet Anne Lise¹;

Brossard Nicolas², Ansart Félix², Guillaud Cédric², Sagnes Aline²

¹: CREA ; ²: CRC-PC

Table des matières

| | |
|--|-----------|
| I. Contexte de l'étude | 4 |
| II. Objectif du suivi | 4 |
| III. Partenaires du suivi en 2014 : | 5 |
| IV. Protocole de suivi | 5 |
| A. Paramètres suivis : | 5 |
| B. Les sites et conditions de suivi : | 5 |
| C. Les paramètres suivis en claires : | 6 |
| 1. Mortalités et croissance : | 6 |
| 2. La bactérie <i>Vibrio aestuarianus</i> | 6 |
| 3. Paramètres de l'eau..... | 6 |
| 4. Historique des huitres | 6 |
| D. Les analyses d'huitres | 7 |
| V. Résultats | 7 |
| A. Les conditions de milieu | 7 |
| 1. Conditions météorologiques | 7 |
| 2. Paramètres de référence : températures de l'eau | 9 |
| B. L'affinage en octobre | 9 |
| 1. Les paramètres de l'eau | 9 |
| 2. La mortalité | 10 |
| 3. La recherche de <i>Vibrio aestuarianus</i> | 12 |
| C. L'affinage en novembre | 13 |
| 1. Les paramètres de l'eau | 13 |
| 2. La mortalité | 14 |
| 3. La recherche de <i>Vibrio aestuarianus</i> | 15 |
| D. Commentaires | 16 |
| VI. Conclusions | 22 |
| VII. ANNEXES | 24 |
| VIII. Références bibliographiques | 26 |

Étude de la présence de *Vibrio aestuarianus* et des mortalités dans les huitres en affinage à Marennes-Oléron

I. Contexte de l'étude

En 2014, comme en 2013, les huitres adultes commercialisables sont fortement touchées par les mortalités sur parcs dès l'été (septembre 2013 : 25,1%¹ ; septembre 2014 : 29%), valeurs qui ont continué à évoluer en automne (Décembre 2013 : 34,7% ; Décembre 2014 : 30%). Toutes les analyses réalisées par IFREMER dans le cadre de REPAMO ont mis en évidence la présence d'une bactérie, *Vibrio aestuarianus*, dans les animaux de cette classe d'âge. A cette même période, les constats des professionnels rapportent de fortes mortalités des huitres en affinage en claires (octobre 2013 : 15,3%, de 5 à 50% selon les lots²).

Dans ce contexte de fortes mortalités d'huitres adultes, le CRC-PC³ et le Groupement Qualité Marennes-Oléron ont sollicité le CREAA pour accompagner la profession dans le suivi de ces mortalités en claires et celui de l'agent infectieux suspecté, *Vibrio aestuarianus*. Ces mortalités exceptionnelles semblaient être proportionnelles à la durée de passage en claires d'affinage. Les professionnels ont donc souhaité un travail leur permettant d'aboutir à une demande de modulation de temps de passage en claires en fonction des conditions de milieu, et de mieux comprendre les phénomènes en lien avec ces mortalités.

Ainsi dès 2013, un groupe de travail composé de professionnels, du CREAA et du CRC a permis la réalisation de suivis des huitres en claires et sur parcs durant ces deux derniers automnes.

II. Objectif du suivi

Les professionnels s'interrogeaient sur la présence de *Vibrio aestuarianus* dans les huitres en affinage en claires, ainsi que sur parcs. Les objectifs initiaux de ce suivi portent sur :

- Obtenir des données objectives afin de demander une modulation des durées d'affinage en période à risque pour les huitres dans le cadre de l'IGP Marennes-Oléron;
- L'amélioration des connaissances sur l'écologie de la bactérie *Vibrio aestuarianus* en marais et la recherche d'un lien entre les mortalités en claires et l'agent infectieux ;
- La détermination des mortalités des huitres en affinage selon le type d'huitres (3N et naturelles) et le site (claires et parcs).

¹ Huitres naturelles de 3^{ème} année, Source : Observatoire du CREAA.

² Réseau Conchylicole en Marais Salé, Enquête réalisée auprès des professionnels partenaires, CREAA.

³ Comité Régional de la Conchyliculture Poitou-Charentes

III. Partenaires du suivi en 2014 :

- Comité Régional de la Conchyliculture Poitou-Charentes – Service qualité ;
- 6 Professionnels
- CREEA

IV. Protocole de suivi

Le suivi mis en place par le CRC-PC et le CREEA a pour objectif de suivre l'évolution des mortalités des huitres dans le temps en conditions d'affinage selon la température de l'eau en lien avec la présence de la bactérie *Vibrio aestuarianus*.

A. Paramètres suivis :

- Type d'huitres : naturelles et triploïdes
- 2 périodes de suivi : **octobre et novembre**
- **Site** : affinage en **claires** et élevage sur **parcs** des mêmes huitres aux mêmes dates

B. Les sites et conditions de suivi :

Le suivi des huitres en claires d'affinage est réalisé sur 3 secteurs de Marennes-Oléron :

- Rive droite de la Seudre : Saint Just-Luzac : Feneau et Prise du Grand lilas.
- Rive gauche de la Seudre : Arvert : Coux,
- Oléron : Château d'Oléron : Terdoux (CREEA)

Tous les suivis se sont faits dans les mêmes conditions d'affinage, avec un lot par claire suivie. Le point à J0 permet de connaître l'état du lot avant l'affinage.

La densité maximale d'affinage en claire en octobre est de 1 kg/m² durant 14 jours.

La densité maximale d'affinage en claire en novembre et décembre est de 3 kg/m² durant 28 jours.

En octobre : Les mesures et prélèvements se sont déroulés le jour de préparation du lot (J0), avant la mise en claire, le 7^{ème} et 14^{ème} jour d'affinage (J7 et J14). Un point supplémentaire a été réalisé à J21 sur une partie des lots afin d'observer l'évolution des mortalités.

Des poches témoins de chaque lot d'huitre ont été placées sur parcs à raison de 3 poches à 130 huitres, aux mêmes dates, avec un point de suivi à J0 et à J14.

Novembre et décembre : Le même type de suivi est réalisé en novembre et décembre sur une durée d'affinage de 28 jours et un suivi hebdomadaire en claire, ainsi qu'un point à J0 et J28 sur parcs.

Le suivi des huitres sur parcs :

Chaque lot d'huitres affiné en claire est placé en même temps sur un parc par chaque professionnel et le CREEA.

C. Les paramètres suivis en claires :

1. Mortalités et croissance :

La mesure de la mortalité a été réalisée sur **3 poches témoins, ou casiers témoins**, marqués le jour de la mise en claire, destinés uniquement aux comptages des huitres : nombre total d'huitres, nombre total de mortes et nombre total de vivantes. Les mortes ont été remises dans chaque casier témoin (ou poche témoin).

Un poids moyen a été réalisé à J0, puis à J14 en octobre, ou J28 en décembre, afin d'observer l'évolution des huitres en affinage.

2. La bactérie *Vibrio aestuarianus*

Lors de chaque échantillonnage, des prélèvements de 15 huitres vivantes ont été réalisés dans un **casier (ou poche) spécifique** destiné(e) à cela, afin de ne pas impacter le suivi des mortalités.

Les analyses ont été réalisées par le LASAT sur la base de 3 pools de 5 huitres selon le protocole d'analyse transmis par IFREMER, par la technique de PCR en temps réel.

Le prélèvement à J0 a été fait avant la mise à l'eau des huitres, avant le contact avec l'eau des claires, sans trempage entre le parc d'élevage et la claire d'affinage. Il permet de connaître l'état sanitaire du lot d'huitres à l'arrivée du parc d'élevage.

Les autres analyses durant l'affinage permettent d'observer l'évolution de la détection des bactéries dans le temps, la charge bactérienne dans les huitres et de rechercher un lien avec l'évolution de la mortalité des animaux.

Chaque lot affiné étant placé sur un parc durant la période d'affinage, un prélèvement est réalisé lors de l'échantillonnage final (J14 pour le suivi d'octobre et J28 pour le suivi de novembre-décembre) pour l'envoi au laboratoire.

3. Paramètres de l'eau

Des sondes enregistreuses de la température en continu ont été placées dans 1 claire de chaque site, ainsi que sur un parc.

Lors des prélèvements et mesures de la mortalité, les paramètres physico-chimiques ont été mesurés manuellement :

- Température, en complément des sondes, permettant la validation des données.
- Salinité, afin d'observer une éventuelle évolution dans le temps
- Oxygène dissous, afin de détecter une éventuelle sous-oxygénation du bassin qui pourrait influencer les mortalités.

4. Historique des huitres

Chaque professionnel doit fournir les informations nécessaires pour connaître l'historique du lot : type d'huitres, parcours zootechnique, parcs d'origine, âge des huitres.

D. Les analyses d'huitres

Les analyses ont été réalisées par le LASAT (Laboratoire départemental de Charente Maritime) selon la méthode transmise par IFREMER.

Les huitres sont analysées en pools par la technique de qPCR, à raison de 3 pools de 5 animaux par prélèvement.

V. Résultats

Une première phase d'affinage dite « en période chaude » s'est déroulée du 28 septembre au 21 octobre, sur 6 lots d'huitres placés dans 6 claires, répartis sur 3 secteurs (Rive droite de la Seudre, Rive gauche de la Seudre et Oléron) sur la base de passage en claire durant 14 jours.

Une seconde phase d'affinage dite « en période froide » s'est déroulée du 28 octobre au 4 décembre, dans 6 claires sur les 3 secteurs précédents, sur la base de l'affinage hivernal, soit durant 28 jours.

Tableau 1 : Description des lots d'huitres suivis en affinage en octobre et novembre 2014 :

| Mois suivi | Type d'huitres | Site | Parcours avant affinage | | | | |
|----------------------|----------------|-------------------|-------------------------|-----------------------|-----------|-----------------------------|---|
| | | | Age des huitres | Origine zone de Parcs | Nom parc | Parcours zootechnique | % Mortalité finale sur parcs avant affinage |
| Octobre 14 jours | 3N | Coux | 2/3 ans | Marenes Oléron | ADE | Ecloserie/ élevage paimpol | |
| | | Feneau | 2/3 ans | Marenes Oléron | CHEVALIER | Achat courtier | |
| | | Terdoux | 3 ans | Ré | | Achat courtier (Origine Ré) | Faible selon le professionnel |
| | Naturelles | Coux | 2/3 ans | Marenes Oléron | BARAT | La Goelette | |
| | | Feneau | 2/3 ans | Marenes Oléron | LA CASSE | Achat courtier | |
| | | Terdoux | 3 ans | Marenes Oléron | LA CASSE | MO | 30% au retour de parc |
| Novembre 28 jours | 3N | Prise Grand Lilas | | Paimpol | | | Faible |
| | | Feneau | | Irlande | | 72H en claire de stockage | lot déjà trié |
| | | Terdoux | | Ré | | Achat courtier (Origine Ré) | |
| | Naturelles | Coux | 2/3 ans | Marenes Oléron | LA CASSE | origine Paimpol | pas de coquilles fraîches |
| | | Feneau | 2/3 ans | Finistère | | purification dans le 29 | |
| | | Terdoux | 3 ans | Marenes Oléron | | | |

A. Les conditions de milieu

1. Conditions météorologiques

Les conditions météorologiques d'octobre ont présenté un mois relativement doux, et novembre doux et pluvieux pour la saison.

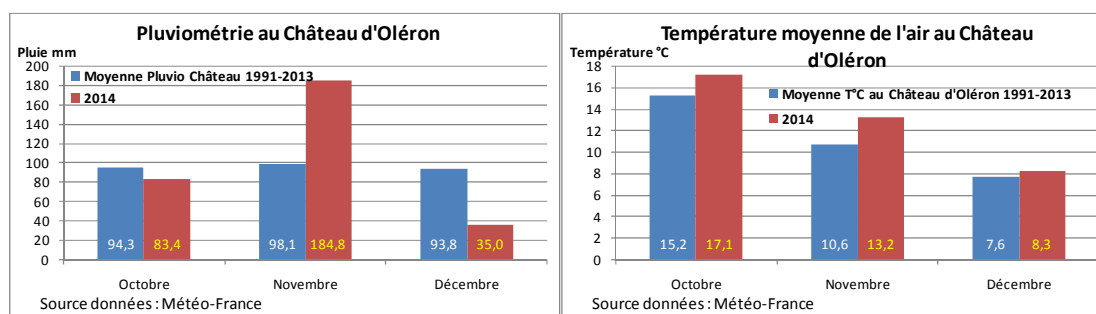


Figure 1 : Pluviométrie et température de l'air, au Château d'Oléron, des mois d'octobre, novembre et décembre 2014 comparées aux valeurs de référence (source données : Météo-France).

L'automne 2014 était particulièrement doux et humides avec les mois d'octobre et novembre plus chaud que la normale (octobre : 17,1°C en moyenne, soit +2,1°C au dessus de la moyenne de

référence ; Novembre : 13,2°C en moyenne, soit +2,6°C au dessus de la moyenne de référence). La pluviométrie de novembre a représenté le double de la normale mesurée au Château d'Oléron depuis 23 ans par Météo-France (185 mm).

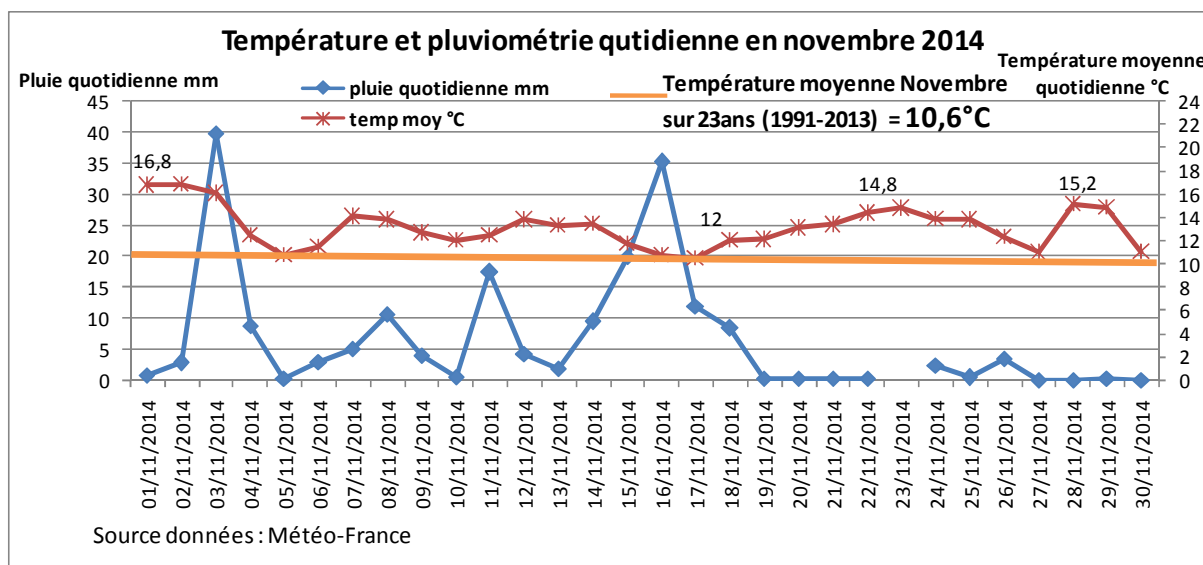
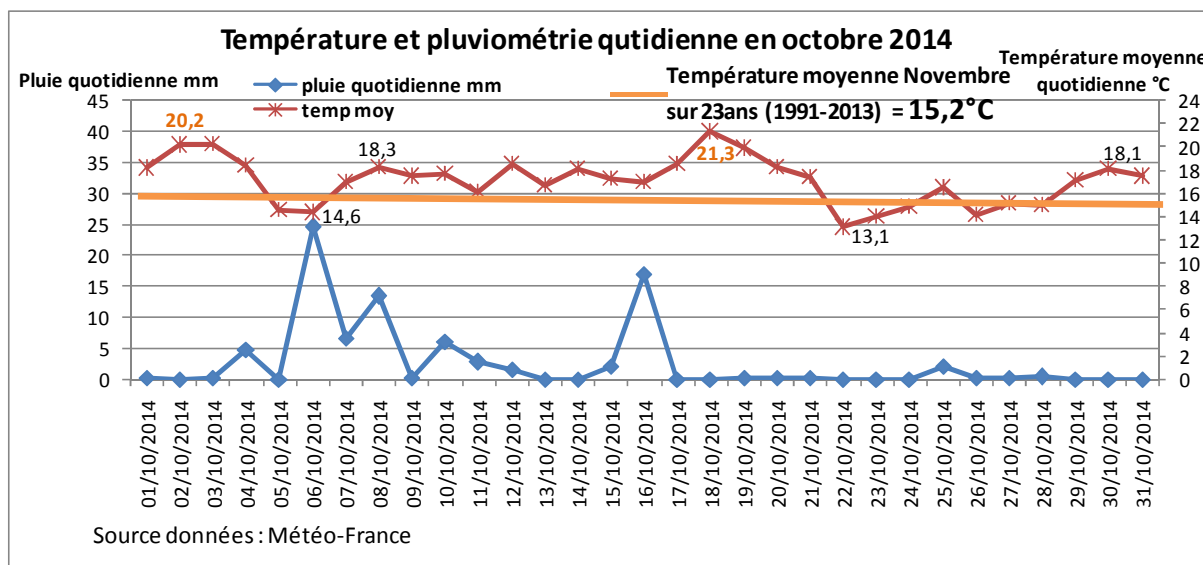


Figure 2 : Conditions météorologiques (pluviométrie et température de l'air au Château d'Oléron), pour les mois d'octobre et de novembre 2014 (source données : Météo-France).

La pluie était importante du 3 au 17 octobre ainsi que du 1^{er} au 19 novembre, avec des quantités quotidiennes élevées, jusqu'à 40mm/jour (3/11 et 16/11).

La température de l'eau était majoritairement plus élevée que la moyenne de référence, avec des pics de températures moyennes quotidiennes au dessus de 20°C début octobre, et des températures maximales dans la journée de 25 à 26°C, les 2 et 3/10, ainsi que les 18 et 19/10).

2. Paramètres de référence : températures de l'eau

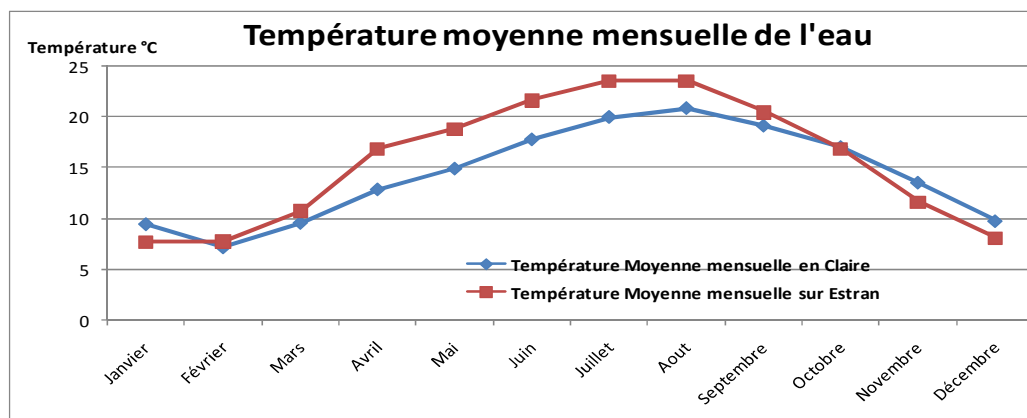


Figure 3 : Températures moyennes mensuelles de référence⁴ de l'eau en claires et sur parc, à Marennes-Oléron.

Octobre est normalement un mois de transition entre les températures observées en marais et sur parc : il y a inversion des écarts de températures à partir de cette période.

B. L'affinage en octobre

Trois lots d'huitres naturelles et trois lots d'huitres triploïdes ont été mis en affinage, tous d'origine charentaise.

1. Les paramètres de l'eau

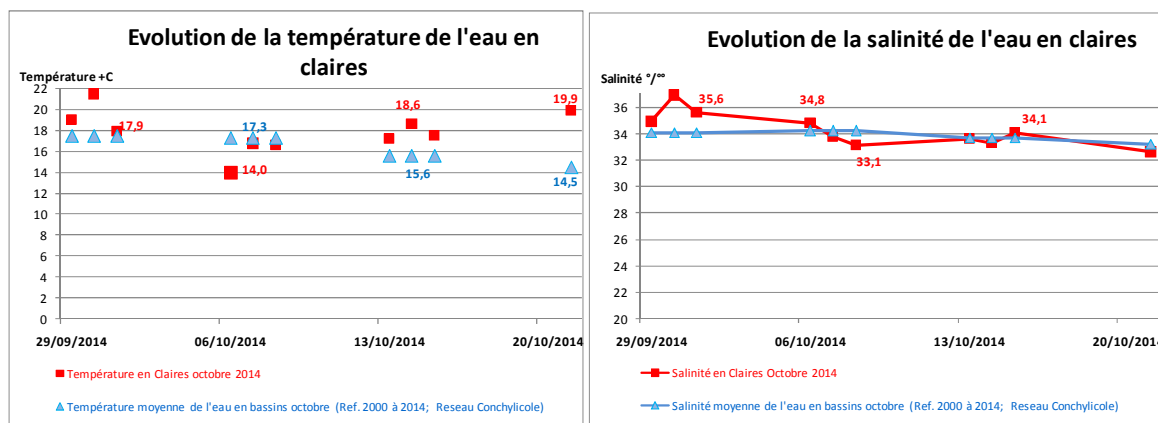


Figure 4 : Température et salinité de l'eau, moyennes des mesures manuelles hebdomadaires dans les 6 claires, comparées aux valeurs de référence

Bien que la température de l'eau des claires soit descendue en dessous de la normale de saison la première semaine d'octobre, celle-ci est rapidement remontée, donnant des valeurs de + 1,5 °C à + 5,4°C au dessus de la température moyenne de référence.

La salinité bien qu'élévée en début de mois, était proche de la normale de saison.

⁴ Référence : Base de données CREAA.

En claires les huitres sont toujours immergées, en mer les huitres subissent les exondations à la basse mer. Les huitres en exondation ne filtrent pas l'eau. Ainsi les températures de l'air lors des marées basses ont été supprimées. Le graphique présente la température de l'eau dans laquelle les huitres sont en affinage et en élevage sur parc.

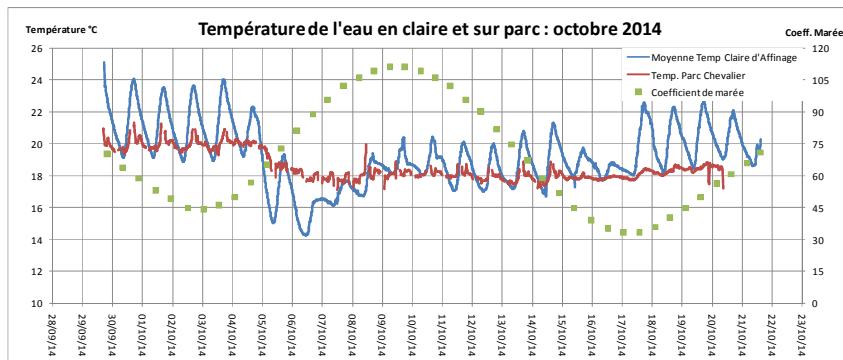


Figure 5 : Température de l'eau, mesurée en octobre 2014 dans les claires du suivi (moyenne des 3 claires) et sur le parc du CREA (Chevalier) durant la phase d'affinage en « Période chaude ».

En 2014, la température en claires était supérieure à celle observée sur le parc, sauf du 4 au 9 octobre.

2. La mortalité

Le passage des huitres en claire en période d'affinage court (14 jours) a été prolongé d'une semaine pour observer les résultats sur l'évolution des mortalités :

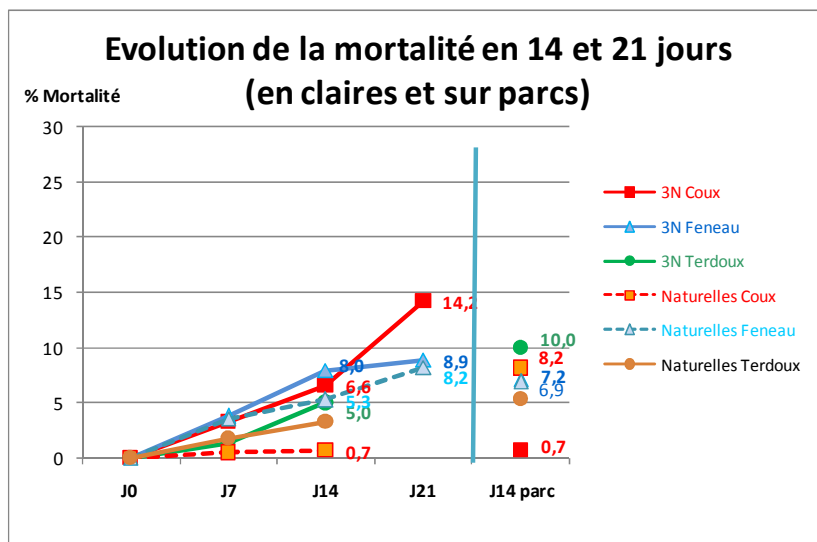


Figure 6 : Évolution de la mortalité des huitres en claires et sur parcs durant la phase d'affinage d'octobre 2014.

Sur 14 jours, la mortalité a été comprise entre 0,7 et 7,2% en claires, et entre 0,7 et 10% sur parcs.

En claires, 3 lots ont été laissés en affinage jusqu'à 21 jours : la mortalité a continué à augmenter, elle était comprise entre 8,2 et 14,2%. Pour ces 3 lots la mortalité moyenne à J14 était de 6,6%, elle est passée à 10,5% une semaine plus tard.

| 3 répétitions par site | | |
|--|--------------|-------------|
| | J14 | J21 |
| Coux 3N | 2,0 | 5,0 |
| Coux 3N | 4,0 | 7,0 |
| Coux 3N | 13,9 | 30,7 |
| Feneau 3N | 7,5 | 8,5 |
| Feneau 3N | 10,2 | 11,1 |
| Feneau 3N | 6,2 | 7,2 |
| Feneau naturelles | 9,0 | 13,0 |
| Feneau naturelles | 3,7 | 6,5 |
| Feneau naturelles | 3,1 | 5,2 |
| Moyenne | 6,6 | 10,5 |
| Test de Student au seuil de 5% | | |
| Test T | 0,049 < 0,05 | |
| Différence significative entre J14 et J21 | | |

Figure 7 : Comparaison des mortalités en claires à J14 et J21, en septembre – octobre, par test de Student au seuil de 5%.

La mortalité est **significativement plus élevée à 21 jours** d'affinage par rapport à 14 jours, soit avec une semaine supplémentaire, en période chaude.

| | 3N naturelles | | En claires |
|----------------|---------------|-------------|------------|
| | 3N | naturelles | |
| Poche n°1 | 1,98 | 0,00 | |
| Poche n°2 | 4,00 | 0,00 | |
| Poche n°3 | 13,86 | 2,17 | |
| Poche n°4 | 5,13 | 9,00 | |
| Poche n°5 | 10,19 | 3,70 | |
| Poche n°6 | 6,19 | 3,09 | |
| Poche n°7 | 8,33 | 3,88 | |
| Poche n°8 | 2,50 | 2,31 | |
| Poche n°9 | 4,17 | 3,85 | |
| Moyenne | 6,30 | 3,10 | |
| | Test t | 0,06 | <0,1 |
| | 5% | Non | |
| | 10% | Oui | |

Différence significative entre 3N et naturelles au seuil de 10%

| | 3N naturelles | | Sur Parcs |
|----------------|---------------|-------------|------------|
| | 3N | naturelles | |
| Poche n°1 | 0,00 | 5,63 | |
| Poche n°2 | 8,47 | 9,90 | |
| Poche n°3 | 9,17 | 3,08 | |
| Poche n°4 | 0,00 | 7,86 | |
| Poche n°5 | 8,49 | 4,85 | |
| Poche n°6 | 6,67 | 8,46 | |
| Poche n°7 | 2,04 | 11,03 | |
| Poche n°8 | 4,50 | 6,06 | |
| Poche n°9 | 14,17 | 4,62 | |
| Moyenne | 5,95 | 6,83 | |
| | Test t | 0,63 | >0,05 >0,1 |
| | 5% | Non | |
| | 10% | Non | |

Pas de différence significative sur parcs.

Figure 8 : Résultats des tests statistiques (tests de Student, au seuil de 5% et 10%) sur les mortalités à 14 jours entre les huitres 3N et naturelles, en claires et sur parcs.

Les tests statistiques mettent en évidence une **différence significative** de la mortalité à 14 jours entre les **3N et les huitres naturelles en claires** (au seuil de 10% seulement), mais pas sur parcs.

| type | sites : claire / parc | % Mortalité moyenne J14 | |
|--------------------------------|-----------------------|-------------------------|------------|
| | | Claire | Parc |
| 3N | Coux / Ade | 6,6 | 0,7 |
| 3N | Feneau / Ronce | 7,2 | 7,2 |
| 3N | Terdoux / Chevalier | 5,0 | 10,0 |
| Naturelles | Coux / Goelette | 0,7 | 8,2 |
| Naturelles | Feneau / Ronce | 5,3 | 6,9 |
| Naturelles | Terdoux / Chevalier | 3,3 | 5,4 |
| Moyenne | | 4,7 | 6,4 |
| Proba : | | 0,106 >0,05 | |
| Test student | | | |
| Apparié | | | |
| Différence significative : Non | | | |

Figure 9 : Test de Student, au seuil de 5%, entre les mortalités à 14 jours en claires et sur parcs, analyses sur les résultats appariés.

Les huitres préparées pour l'affinage (triées après retour de parcs) ont été placées en même temps en claires d'affinage et sur parcs pour comparaison.

Dans ces conditions de suivi, il n'y a **pas de différence significative à 14 jours** entre les mortalités sur parcs et en claires.

3. La recherche de *Vibrio aestuarianus*

| 0 = non détecté | | | 1 = Détecté non quantifiable | | | | Après renouvellement | | | |
|---------------------------|-------------------|---------------|---|--------------------------------|---|--------------------------------|---|--------------------------------|--|------------------------------|
| Mois suivi | Type d'huitres | Site | J0 | | J7 | | J14 | | | |
| | | | Claires : Nombre Moyen Vibrio aestuarianu s/mg chair | % pools Positifs Claires | Claires : Nombre Moyen Vibrio aestuarianu s/mg chair | % pools Positifs Claires | Claires : Nombre Moyen Vibrio aestuarianu s/mg chair | % pools Positifs Claires | Parcs: Nombre Moyen Vibrio aestuarianu s/mg chair | Parcs % pools Positifs |
| Septembre/ octobre | 3N | Coux | 5 687 597 | 33 | 0 | 0 | 1 | 66 | 1 | 33 |
| | | Feneau | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 33 |
| | | Terdoux | 0 | 0 | 0 | 0 | 168 496 | 100 | 0 | 0 |
| | Moyenne 3N | | 1 895 866 | 11 | 0 | 0 | 56 165 | 55,3 | 1 | 22 |
| | Naturelles | Coux | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Feneau | 160 635 | 33 | 0 | 0 | 1 | 33 | 1 | 66 |
| | | Terdoux | 0 | 0 | 0 | 0 | 216 337 | 33 | 12 275 | 66 |
| Moyenne Naturelles | | 53 545 | 11 | 0 | 0 | 72 113 | 22 | | | |
| Moyenne Septembre | | | | 11 | 0 | | 38,6 | | 33 | |
| Détectations | | | 2 lots + /6 | | Aucun + | | 4 lots +/6 | | 4 lots +/6 | |

Figure 10 : Résultats d'analyses pour la recherche de *Vibrio aestuarianus* dans les huitres en affinage en claires et sur parcs, durant 14 jours, en octobre 2014.

Sur 24 lots analysés, 42% ont été détectés positifs à *Vibrio aestuarianus*, répartis équitablement chez les deux types d'huitres. Les détections sont variables dans le temps d'une semaine à l'autre, et au sein du lot pour un même prélèvement, avec des pourcentages de pools positifs de 33 à 100%.

Pour les lots détectés positifs, les dénombrements sont hétérogènes, avec des concentrations pouvant aller de la détection non quantifiable à des concentrations de l'ordre de 10^5 bactéries/mg de chair, dans un même lot.

C. L'affinage en novembre

Trois lots d'huitres naturelles et trois lots d'huitres triploïdes ont été mis en affinage, 3 lots d'origine charentaise, 2 lots d'origine bretonne et 1 lot d'origine irlandaise.

1. Les paramètres de l'eau

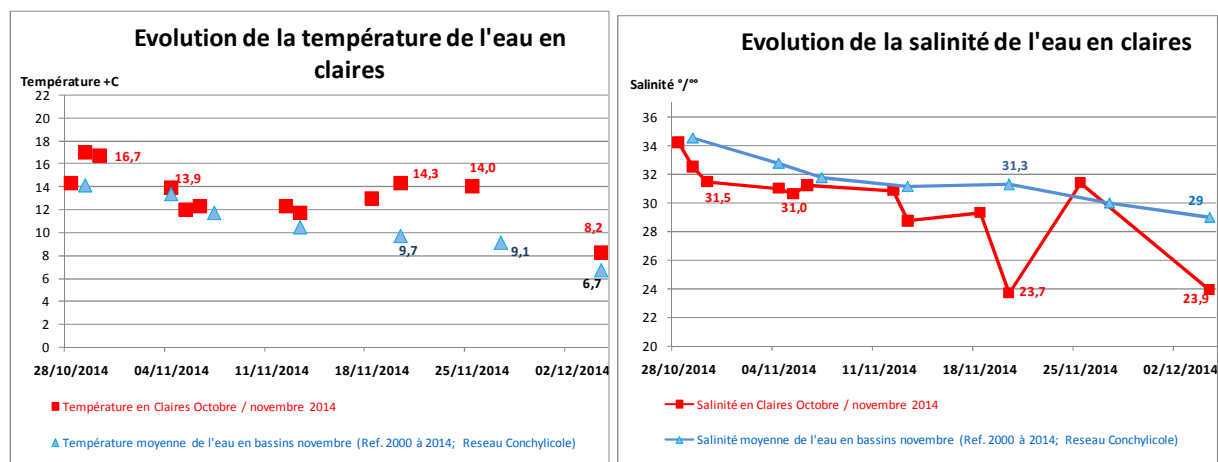


Figure 11 : Température et salinité de l'eau, moyennes des mesures manuelles hebdomadaires dans les 6 claires, comparées aux valeurs de référence.

En novembre, la température de l'eau en claires était élevée, toujours au dessus des normales de saison, sauf le 4/11 où la température a brièvement atteint la valeur normale. Le reste du mois les écarts à la normale étaient importants, jusqu'à près de + 5°C du 20 au 27 novembre.

La salinité de novembre était en dessous des valeurs de référence, en lien avec la forte pluviométrie observée. Les deux périodes de maline (4 au 11 novembre et 21 au 27 novembre) ont permis de faire remonter ponctuellement les salinités vers la valeur de référence avant de redescendre fortement, avec des écarts pouvant dépasser 5‰ en fin de mois.

Comme en octobre (Figure 5), les températures de l'air lors des marées basses ont été supprimées. Le graphique présente la température de l'eau dans laquelle les huitres sont en affinage et en élevage sur parc.

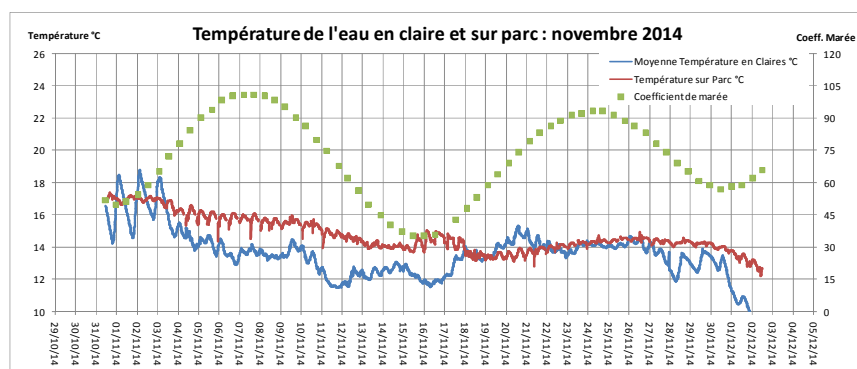


Figure 12 : Température de l'eau, mesurée en novembre 2014 dans les claires du suivi (moyenne des 3 claires) et sur le parc du CREAA (Chevalier) durant la phase d'affinage en « Période froide ».

En novembre 2014, la température en claires, bien qu'élevée par rapport aux valeurs de référence (Figure 11), était inférieure à celle observée sur le parc durant la 1^{ère} quinzaine. Ce phénomène s'est inversé du 19 au 27 novembre, avec des valeurs supérieures ou proches de celles observées sur parc. Les conditions météorologiques chaudes ont favorisé les températures élevées de l'eau.

2. La mortalité

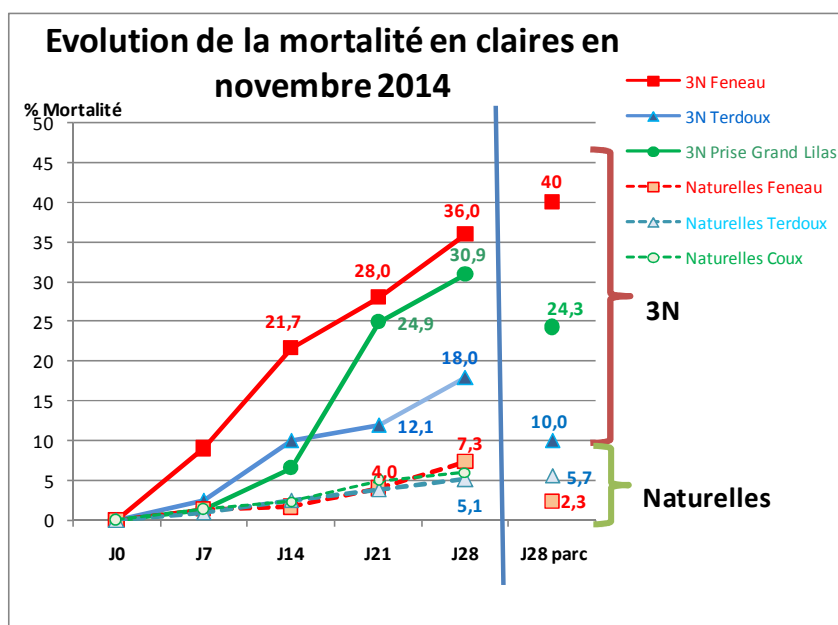


Figure 13 : Évolution de la mortalité des huitres en claires et sur parcs durant la phase d'affinage de novembre 2014.

Sur 28 jours, la mortalité a été comprise entre 5,1 et 36% en claires, et entre 2,3 et 40% sur parcs.

La mortalité des huitres naturelles était inférieure à 10% en claires comme sur parcs, alors que celle des triploïdes était de 18 à 36% en claires, 10 à 40% sur parcs.

| 3 répétitions par site | J14 | J21 |
|---|--------------|-------------|
| Grand Lilas 3N | 6,1 | 30,3 |
| Grand Lilas 3N | 8,8 | 24,5 |
| Grand Lilas 3N | 5,0 | 20,0 |
| Feneau 3N | 24,0 | 29,0 |
| Feneau 3N | 21,0 | 28,0 |
| Feneau 3N | 20,0 | 27,0 |
| Terdoux 3N | 4,6 | 6,9 |
| Terdoux 3N | 7,7 | 10,8 |
| Terdoux 3N | 17,7 | 18,5 |
| Coux naturelles | 2,0 | 5,0 |
| Coux naturelles | 2,0 | 3,0 |
| Coux naturelles | 3,0 | 7,0 |
| Feneau naturelles | 1,0 | 4,0 |
| Feneau naturelles | 1,0 | 5,0 |
| Feneau naturelles | 3,0 | 3,0 |
| Terdoux naturelles | 0,8 | 1,5 |
| Terdoux naturelles | 3,9 | 4,6 |
| Terdoux naturelles | 3,1 | 5,4 |
| Moyenne | 7,5 | 13,0 |
| Test de Student au seuil de 5% | | |
| Test T | 0,002 < 0,05 | |
| Différence significative entre J14 et J21 | | |

| 3 répétitions par site | J21 | J28 |
|---|--------------|-------------|
| Grand Lilas 3N | 30,3 | 37,4 |
| Grand Lilas 3N | 24,5 | 29,4 |
| Grand Lilas 3N | 20,0 | 26,0 |
| Feneau 3N | 29,0 | 35,0 |
| Feneau 3N | 28,0 | 38,0 |
| Feneau 3N | 27,0 | 35,0 |
| Terdoux 3N | 6,9 | 13,9 |
| Terdoux 3N | 10,8 | 14,6 |
| Terdoux 3N | 18,5 | 25,4 |
| Coux naturelles | 5,0 | 7,0 |
| Coux naturelles | 3,0 | 3,0 |
| Coux naturelles | 7,0 | 8,0 |
| Feneau naturelles | 4,0 | 9,0 |
| Feneau naturelles | 5,0 | 9,0 |
| Feneau naturelles | 3,0 | 4,0 |
| Terdoux naturelles | 1,5 | 5,4 |
| Terdoux naturelles | 4,6 | 4,6 |
| Terdoux naturelles | 5,4 | 5,4 |
| Moyenne | 13,0 | 17,2 |
| Test de Student au seuil de 5% | | |
| Test T | 0,000 < 0,05 | |
| Différence significative entre J14 et J28 | | |

Figure 14 : Comparaison des mortalités en claires à J14, J21 et J28, en novembre, par test de Student au seuil de 5%.

La hausse de mortalité est significative de semaine en semaine : la mortalité est **significativement plus élevée à 28 jours** d'affinage par rapport à 21 jours et 14 jours, en conditions de températures élevées pour la saison.

| | | J28 Claires | J28 parcs |
|-----------------------------------|-------------------|-------------|-------------|
| 3N | Feneau | 36,0 | 40,0 |
| | Terdoux | 18,0 | 10,0 |
| | Prise Grand Lilas | 30,9 | 24,3 |
| Naturelles | Feneau | 7,3 | 2,3 |
| | Terdoux | 5,1 | 5,7 |
| | Coux | 6,0 | |
| Moyenne | | 17,2 | 16,4 |
| Test t seuil 5%, apparié | | 0,25 | >0,05 |
| Différence significative ? | | | NON |

Figure 15 : Test de Student, au seuil de 5%, entre les mortalités en claires et sur parcs en novembre, analyses sur les résultats appariés (sans le lot affiné sur Coux, en absence de son témoin sur parc).

Il n'y a pas de différence significative sur la période à 28 jours entre les mortalités sur parcs et en claires

| | 3N | Naturelles | En claires |
|-------------------------------------|-------------|------------|------------|
| Poche n°1 | 35,0 | 9,0 | |
| Poche n°2 | 38,0 | 9,0 | |
| Poche n°3 | 35,0 | 4,0 | |
| Poche n°4 | 13,8 | 5,4 | |
| Poche n°5 | 14,6 | 4,6 | |
| Poche n°6 | 25,4 | 5,4 | |
| Poche n°7 | 37,4 | 7,0 | |
| Poche n°8 | 29,4 | 3,0 | |
| Poche n°9 | 26,0 | 8,0 | |
| Moyenne | 28,3 | 6,2 | |
| Test t seuil 5%, non apparié | 0,00000 | <0,05 | |
| Différence significative ? | | OUI | |
| Test t seuil 5%, apparié | 0,00005 | <0,05 | |
| Différence significative ? | | OUI | |

| | 3N | Naturelles | Sur Parcs |
|-------------------------------------|-------------|------------|-----------|
| Poche n°1 | 39,0 | 0,0 | |
| Poche n°2 | 43,0 | 6,0 | |
| Poche n°3 | 38,0 | 1,0 | |
| Poche n°4 | 10,8 | 6,9 | |
| Poche n°5 | 12,3 | 3,9 | |
| Poche n°6 | 6,9 | 6,2 | |
| Moyenne | 25,0 | 4,0 | |
| Test t seuil 5%, non apparié | 0,03831 | <0,05 | |
| Différence significative ? | | OUI | |

Figure 16 : Résultats des tests statistiques (tests de Student, au seuil de 5%) sur les mortalités entre les huitres 3N et naturelles, en claires et sur parcs, en novembre.

Les tests statistiques mettent en évidence une différence significative de la mortalité à 28 jours entre les 3N et les huitres naturelles en claires, comme cela avait été déjà observé en octobre, et sur parcs (au seuil de 5%).

3. La recherche de *Vibrio aesturianus*

| 0 = non détecté | | 1 = Détecté non quantifiable | | J0 | | J7 | | J14 | | J21 | | J28 | | | | | |
|-----------------|-------------------------|------------------------------|------------------------|-------------------|------------------------|--------------------|------------------------|-------------------|------------------------|--------------------|------------------------|--------------------|------------------------|--------------------|------------------------|------------------|--|
| Mois suivi | Type d'huitres | Site | Claires : | | Claires : | | Claires : | | Claires : | | Claires : | | Claires : | | Parcs : | | |
| | | | Nombre | % pools | Nombre | % pools | Nombre | % pools | Nombre | % pools | Nombre | % pools | Nombre | % pools | Nombre | % pools | |
| | | | aestuarianu s/mg chair | Positifs Claires | aestuarianu s/mg chair | Positifs Claires | aestuarianu s/mg chair | Positifs Claires | aestuarianu s/mg chair | Positifs Claires | aestuarianu s/mg chair | Positifs Claires | aestuarianu s/mg chair | Positifs Claires | aestuarianu s/mg chair | Positifs Claires | |
| Novembre | 3N | Prise Gd lilas | 0 | 0 | 42 894 | 33 | 6 248 902 | 100 | 0 | 0 | 11 649 | 66 | 1 | 33 | | | |
| | | Feneau | 164 136 | 66 | 1 220 915 | 66 | 0 | 0 | 494 066 | 66 | 81 513 | 33 | 1 168 021 | 66 | | | |
| | | Terdoux | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 599 135 | 33 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | |
| | | Moyenne 3N | | 54 712 | 22 | 421 270 | 33 | 2 082 967 | 33,333333 | 364 400 | 33 | 31 054 | 33 | 389 341 | 33 | | |
| | Naturelles | Coux | 0 | 0 | 215 174 | 33 | 0 | 0 | 0 | 0 | 217 418 | 33 | 0 | 0 | | | |
| | | Feneau | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | |
| | | Terdoux | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | |
| | | Moyenne Naturelles | | 0 | 0 | 71 725 | 11 | 0 | 0 | 0 | 0 | 72 473 | 11 | 0 | 0 | | |
| | Moyenne Novembre | | | 27 356 | 9,4 | 246 497 | 20,4 | 1 041 484 | 14,3 | 182 200 | 14,1 | 51 763 | 20,4 | 0,0 | 16,5 | | |
| | | | Détections | 1 lot + /6 | | 3 lots + /6 | | 1 lot + /6 | | 2 lots + /6 | | 3 lots + /6 | | 2 lots + /6 | | | |

Figure 17 : Résultats d'analyses pour la recherche de *Vibrio aesturianus* dans les huitres en affinage en claires et sur parcs, durant 28 jours, en novembre 2014.

Sur 36 lots analysés, 1/3 ont été détectés positifs à *Vibrio aesturianus*, dont la majorité de ces cas (83%) était sur les huitres triploïdes. Les dénombrements étaient élevés de l'ordre de 10^5 à 10^6 vibrios/mg de chair, sauf dans un cas d'huitres triploïdes (3N Prise du Grand Lilas), avec un pool sur trois détecté positif (33%) mais non quantifiable (noté quantité 1), lot issu du passage sur parc.

D. Commentaires

L'ensemble des résultats de ces suivis a été analysé statistiquement afin de déterminer les paramètres en lien avec les mortalités des huitres adultes en affinage.

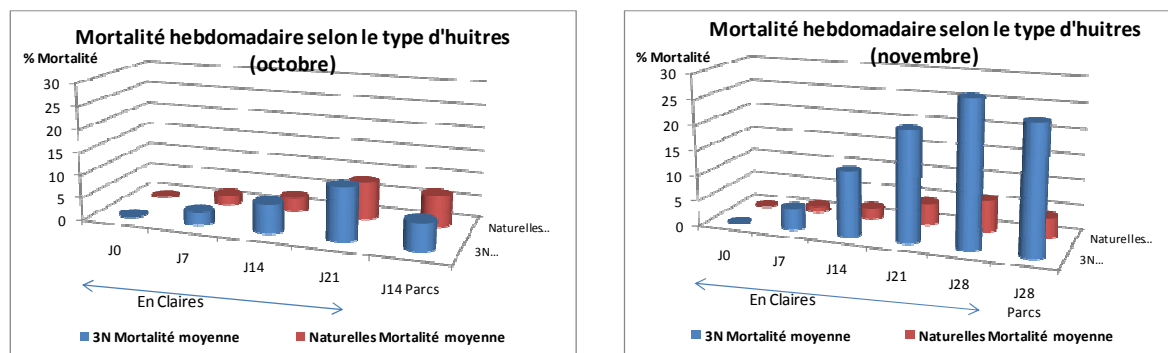


Figure 18 : Mortalité moyenne hebdomadaire des huitres naturelles et triploïdes en claires, et mortalité finale sur les parcs, en octobre 2014 à 14 jours et novembre 2014 à 28 jours.

| Mortalités : | Octobre (14 jours) | Novembre (28 jours) |
|-------------------------|--|---|
| Parcs / Claires ? | Pas de différence signif. | Pas de différence signif. |
| 3N / Naturelles Claires | Différence significative 3N (6,3%) > Nat. (3,1%) | Différence significative 3N (28,3%) > Nat. (6,2%) |
| 3N / Naturelles Parcs | Pas de différence signif. 3N (6%) ; Nat. (6,8%) | Différence significative 3N (25%) > Nat. (4%) |

Figure 19 : Récapitulatifs des résultats des tests statistiques concernant les mortalités des huitres dans les différentes conditions de suivis.

Les mortalités observées en 2014 durant ces deux phases de suivi (octobre et novembre), sur les huitres naturelles et triploïdes (3N), aussi bien en claires que sur parcs, ne diffèrent pas en fonction du site (claires ou parcs) mais en fonction du type d'huitre avec une mortalité des triploïdes plus élevée que celle des naturelles, en octobre dans les claires et en novembre, en claires comme sur parcs.

- Étude de la différence entre les années 2013 et 2014 :

| 2013 | 2014 |
|--|--|
| Corrélation significative entre mortalité et température de l'eau. <u>Période froide :</u> T°C < 8°C → Morta max : 3% | Oct et Nov : températures élevées > 13°C ➤ Pas de corrélation |

2013 a connu une période froide en novembre et décembre, ce qui n'a pas été le cas en 2014.

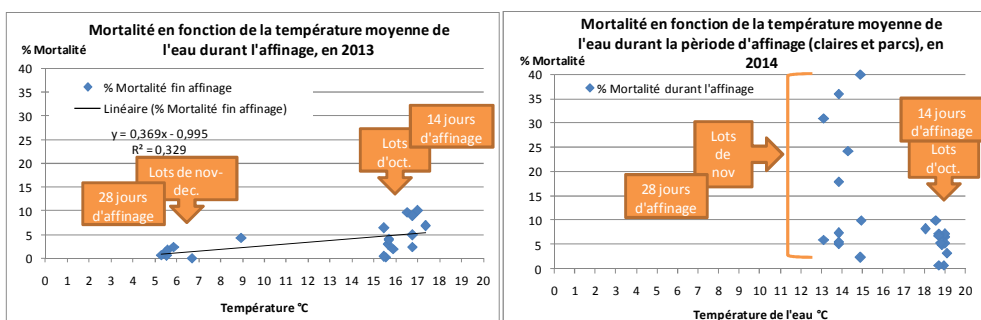


Figure 20 : Lien entre la mortalité des huitres en fin de phase d'affinage et la température moyenne de l'eau, pour les suivis réalisés en 2013 et 2014, pour deux durées d'affinage.

Si en 2013⁵, il était possible de voir une corrélation positive entre la température et le taux de mortalité observé en fin de phase d'affinage, cela n'est plus vrai en 2014.

En 2014, il n'y a pas eu de suivi en période froide, avec des températures inférieures à 10°C, ce qui ne permet pas de valider l'impact d'un refroidissement de l'eau sur la survie des huitres.

- **Étude de la durée d'affinage :**

Comme la durée d'affinage est différente selon la période⁶ (14 jours avant le 31 octobre, 28 jours à partir du 1^{er} novembre), il est intéressant de comparer les mortalités à J14 dans tous les cas de figure, avec la température moyenne de l'eau.

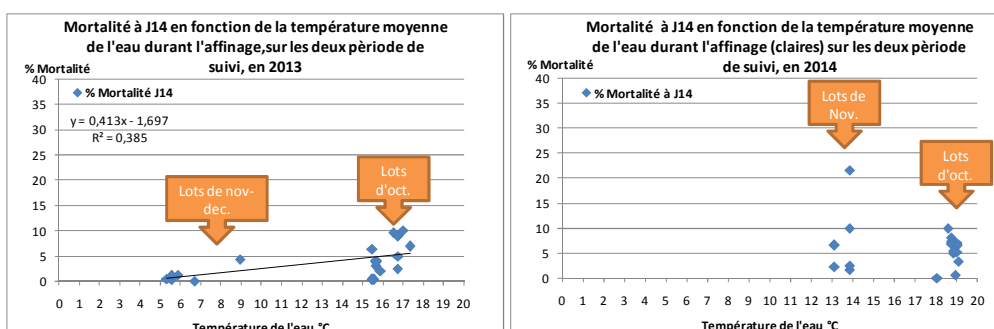


Figure 21 : Lien entre la mortalité et la température de l'eau pour une même durée d'affinage, 14 jours, en 2013 et 2014, sur l'ensemble du suivi, septembre à décembre.

Les valeurs de mortalités en octobre 2013, comme 2014, à des températures comprises entre 15 et 20 °C, n'ont pas excédé 10% après 14 jours d'affinage. De même, en novembre 2014 avec des températures proches de 15°C, un seul lot a dépassé 10% de mortalité à J14. Ceci pourrait s'expliquer par la courte durée du passage en claire.

Ainsi, **en période à risque**, c'est-à-dire ayant une **température de l'eau supérieure à 10°C**, il est possible de **limiter la mortalité à 10%** dans la majorité des cas en affinant les huitres sur une **durée raccourcie à 14 jours** (Figure 21).

⁵ Rapport 2013 : Étude de la présence de *Vibrio aestuarianus* dans les huitres en affinage à Marennes-Oléron : bilan du suivi réalisé d'octobre à décembre 2013 ; Bouquet AL. Et al. ; juillet 2014.

⁶ Référence IGP Marennes-Oléron

- Quel est le lien en la présence de *Vibrio aestuarianus* et les mortalités des huitres ?

| Nombre de lots d'huitres détectés positifs sur 6 lots en claires et 6 lots sur parcs | | | | | | | |
|--|----------|--------------------------------------|----|-------|---------------------|----|-------|
| | | Claires (Prélèvements hebdomadaires) | | | Parcs (J0 et final) | | |
| | | naturelles | 3N | Total | naturelles | 3N | Total |
| Affinage court (14 j.) | Octobre | 3 | 3 | 6 | 2 | 2 | 4 |
| Affinage long (28 j.) | Novembre | 2 | 8 | 10 | 0 | 2 | 2 |

| Pourcentage (%) de lots d'huitres détectés positifs sur 6 lots en claires et 6 lots sur parcs | | | | | | | |
|---|----------|--------------------------------------|------|-------|---------------------|------|-------|
| | | Claires (Prélèvements hebdomadaires) | | | Parcs (J0 et final) | | |
| | | naturelles | 3N | Total | naturelles | 3N | Total |
| Prélèvements hebdomadaires | | | | | | | |
| Affinage court (14 j.) | Octobre | 33,3 | 33,3 | 33,3 | 33,3 | 33,3 | 33,3 |
| Affinage long (28 j.) | Novembre | 13,3 | 53,3 | 33,3 | 0,0 | 33,3 | 18,2 |

Figure 22 : Récapitulatif des détections de *Vibrio aestuarianus* dans les huitres en affinage en 2014 (nombre et pourcentage de lots positifs)

| Dénombrement moyen de <i>V. aestuarianus</i> / mg de chair dans les lots positifs sur 6 lots en claires et 6 lots sur parcs | | | | | | | |
|---|----------|--------------------------------------|-----------|-----------|---------------------|---------|---------|
| | | Claires (Prélèvements hebdomadaires) | | | Parcs (J0 et final) | | |
| | | naturelles | 3N | Total | naturelles | 3N | Total |
| Prélèvements hebdomadaires | | | | | | | |
| Affinage court (14 j.) | Octobre | 125 658 | 1 952 031 | 1 038 844 | 6 138 | 1 | 3 070 |
| Affinage long (28 j.) | Novembre | 216 296 | 1 107 901 | 929 580 | / | 584 011 | 584 011 |

Figure 23 : Synthèse des dénombrements de *Vibrio aestuarianus* dans les huitres en affinage en 2014

Chez les huitres triploïdes (3N), les détections en claires ont été plus nombreuses en novembre (53,3% des lots positifs en novembre, contre 33,3 % en octobre), avec des dénombrements de l'ordre de 10^6 bactéries/mg de chair (détails en annexe). Sur parcs, 1/3 des échantillons étaient positifs, que ce soit en octobre ou en novembre.

Chez les huitres naturelles, la bactérie a été détectée dans 1/3 des lots analysés en octobre (33,3%), en claires comme sur parcs, et beaucoup plus faiblement en novembre (13,3 % des lots en claires, aucun sur parcs), avec des dénombrements plus faibles que chez les 3N (10^3 à 10^5 bactéries/mg de chair).

Octobre 2014 à 14 jours :

| | | 3N | Naturelles |
|---------------------------------|---------|-----------------------|-------------|
| J0 | Coux | 33 | 0 |
| J0 | Feneau | 0 | 33 |
| J0 | Terdoux | 0 | 0 |
| J7 | Coux | 0 | 0 |
| J7 | Feneau | 0 | 0 |
| J7 | Terdoux | 0 | 0 |
| J14 claire | Coux | 66 | 0 |
| J14 claire | Feneau | 0 | 33 |
| J14 claire | Terdoux | 100 | 33 |
| J14 parc | Coux | 33,00 | 0,00 |
| J14 parc | Feneau | 33,00 | 66,00 |
| J14 parc | Terdoux | 0,00 | 66,00 |
| Moyenne | | 22,1 | 19,3 |
| Test t 5% | | 0,815 >0,05 | |
| Différence significative | | NON | |

Novembre 2014 à 28 jours :

| | | 3N | Naturelles |
|---------------------------------|----------------|-----------------------|------------|
| J0 | Prise Gd lilas | 0 | 0 |
| j0 | Feneau | 66 | 0 |
| J0 | Terdoux | 0 | 0 |
| J7 | Prise Gd lilas | 33 | 33 |
| j7 | Feneau | 66 | 0 |
| J7 | Terdoux | 0 | 0 |
| J14 | Prise Gd lilas | 100 | 0 |
| J14 | Feneau | 0 | 0 |
| J14 | Terdoux | 0 | 0 |
| J21 | Prise Gd lilas | 0 | 0 |
| J21 | Feneau | 66 | 0 |
| J21 | Terdoux | 33 | 0 |
| J28 claires | Prise Gd lilas | 66 | 33 |
| J28 claires | Feneau | 33 | 0 |
| J28 claires | Terdoux | 0 | 0 |
| J28 parc | Prise Gd lilas | 33 | 0 |
| J28 parc | Feneau | 66 | 0 |
| J28 parc | Terdoux | 0 | 0 |
| Moyenne | | 31,2 | 3,9 |
| Test t 5% | | 0,004 <0,05 | |
| Différence significative | | Oui | |

Figure 24 : Comparaison des pourcentages de pools détectés positifs selon le type d'huitre (naturelles et 3N), par Test de Student, au seuil de 5%, pour les deux phases d'affinage (octobre et novembre 2014).

Sur la période d'affinage long (28 jours), on observe une **différence significative de taux de pools positifs**, avec des taux **plus élevés chez les triploïdes (3N : 31%)** que chez les huitres naturelles (4%).

En période d'affinage court (14 jours) : En 2013, durant la période où des mortalités se sont déclenchées (affinage d'octobre), la corrélation était significative avec le taux (%) de pools positifs à la bactérie. Ceci ne s'observe pas en 2014 si tous les lots sont traités ensemble (Figure 25).

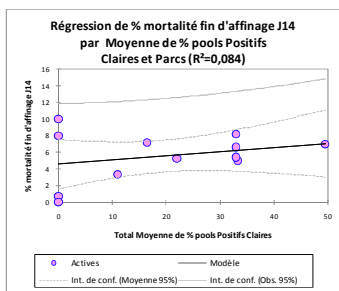
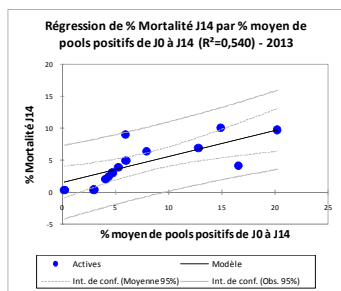
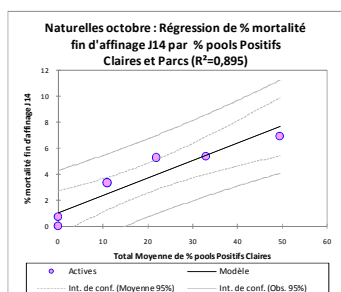


Figure 25 : Corrélation entre la mortalité en fin d'affinage à 14 jours et le pourcentage de pools positifs à *Vibrio aestuarianus* détectés dans les huitres (tous lots confondus) durant la phase d'affinage.

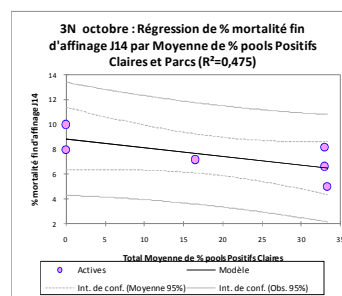
2013 : Affinage d'octobre, corrélation significative à J14 (proba : 0,004) ; mortalités de 0,4 à 10%.

2014 : Affinage d'octobre, corrélation non significative à J14 (proba : 0,36) ; mortalités de 0,7 à 14,2%.

En analysant les résultats par type d'huitres, la corrélation est significative chez les huitres naturelles.



Chez les huitres triploïdes, le modèle n'est pas significatif, avec des taux maximum de pools positifs de 33% (soit 1 pool sur 3 dans chaque cas).

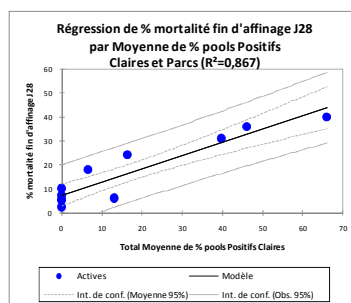
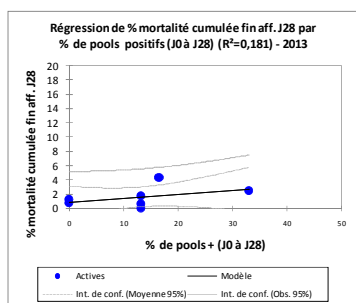


Naturelles : Corrélation significative (modèle : proba : 0,004)

3N : Corrélation non significative (modèle : proba : 0,13).

Figure 26 : Corrélation entre la mortalité en fin d'affinage et le pourcentage de pools positifs à *Vibrio aestuarianus* détectés durant la phase d'affinage, dans les huitres affinées en octobre 2014, respectivement chez les naturelles d'une part et les 3N d'autre part.

En période d'affinage long (28 jours) : En 2013, la mortalité en novembre-décembre n'avait pas dépassé 3% en claires et 4,3% sur parc, pour des températures inférieures à 8°C : la corrélation n'est pas significative. En 2014, cette corrélation significative a été vérifiée sur l'ensemble des lots sur la période ayant subi les plus fortes mortalités (2,3 à 40%), durant l'affinage à 28 jours (Figure 27).



2013 : Novembre - décembre, corrélation non significative à J28 (proba : 0,34).

2014 : Affinage de novembre, corrélation significative à J28 (proba : 0,0001).

Figure 27 : Corrélation entre la mortalité en fin d'affinage à 28 jours et le pourcentage de pools positifs à *Vibrio aestuarianus* détectés dans les huitres affinées en octobre 2013 et 2014, tous lots confondus.

Ainsi, en **période à risque de mortalités**, un **lien est observée entre les pourcentages de pools d’huitres détectés positifs à *Vibrio aestuarianus* et les mortalités** observées en fin d’affinage. Ce lien est d’autant plus fort que l’affinage est long.

Ce travail a permis d’améliorer les connaissances sur la présence de cette bactérie et son impact sur les huitres en affinage. Mais ce suivi pose également de nouvelles questions :

- **Pourquoi les mortalités étaient-elles plus faibles en octobre qu’en novembre, avec des températures élevées, de 18 à 20°C dans l’eau ?**

À ces températures favorables au développement de la bactérie, les taux de détection de *Vibrio aestuarianus* étaient semblables en octobre et en novembre (33% des lots analysés étaient positifs), mais les mortalités étaient plus faibles en octobre. Ceci amène à réfléchir sur l’écologie de cette vibrio et son cycle de développement dans le milieu. Cela pourrait s’expliquer par la durée de l’affinage qui n’est que de 14 jours à cette période. La maladie n’a pas eu le temps de s’installer car cette période correspondrait à la phase d’incubation des bactéries avant une forte multiplication et le déclenchement des mortalités massives. Ce lien entre le déclenchement de la maladie selon la température est un travail en cours au sein du Laboratoire de Génétique et de Pathologie, Ifremer La Tremblade dans le cadre du projet ANR GigasSat.

De plus, en novembre, les conditions météorologiques pluvieuses ont favorisé une baisse des salinités en claires, entre 20 et 25‰, conditions favorables au développement de *Vibrio aestuarianus*.

- **Pourquoi les huitres triploïdes étaient-elles plus sensibles aux mortalités que les naturelles durant ces deux phases d’affinage ?**
- **Pourquoi les détections de *Vibrio aestuarianus* étaient-elles significativement plus élevées chez les huitres triploïdes comparées aux huitres naturelles ?**

Ces deux observations nous amènent à nous demander si la physiologie de l’huitre triploïde diffère de l’huitre naturelle, s’il y a un lien avec les capacités de filtration des huitres, ou s’il y a une sensibilité plus grande chez elles.

- **Pourquoi observe-t-on une variabilité dans les résultats d’analyses ?**

Les détections de *Vibrio aestuarianus* ont montré une hétérogénéité dans les résultats, que se soit au cours du temps (non détection à certaines dates pour un même lot déjà détecté positif auparavant ainsi que la semaine suivante), ou que ce soit dans les dénombrements.

Le nombre d’huitres analysé est faible, soumis à la variabilité de contamination au sein d’un même lot d’huitres.

La technique d'analyse par pools (3 pools de 5 huitres), par qPCR, est adaptée pour la recherche d'agents infectieux en phase de mortalité avérée, mais mal adaptée pour de la détection. Cette analyse détecte des ADN, qu'ils soient vivants ou morts. Et la détection pour de faibles densités de bactérie est parfois difficile. D'autre part le principe de mélanger des animaux (faire un « pool ») peut limiter la précision de la mesure.

Ainsi le protocole peut être amélioré grâce à une nouvelle méthode, basée sur la spectrométrie de masse Maldi-Toff. Cette technique analyse des tissus vivants, avec culture de la flore bactérienne, ce qui permet de détecter les ADN réellement vivants et actifs au sein de l'huitre. Cette technique moins coûteuse permettrait aussi d'analyser plus d'animaux afin d'affiner les résultats.

Enfin, cette technique permettrait d'avoir une information plus complète sur la présence d'autres vibrios pouvant éventuellement induire des mortalités.

- **Comment les huitres réagissent-elles à de faibles températures ?**

En 2014, il n'a pas été possible d'observer l'affinage en température basse. Mais en 2013, il avait été vu qu'à moins de 8°C, les mortalités étaient inférieures à 3% malgré la présence de *Vibrio aestuarianus*.

Les travaux d'Ifremer mettent en évidence l'impact de la température sur le développement bactérien. La durée d'incubation augmente avec les baisses de températures, sans éradiquer la bactérie toujours présente dans l'huitre.

Les professionnels suggèrent de tester le refroidissement des huitres après une phase d'affinage pour des lots en pleine mortalité pour vérifier si celle-ci s'arrête ou ralentit.

- **Est – ce que l'origine et le travail des huitres peut avoir un effet sur les mortalités ?**

En 2013, l'étude des origines des huitres n'avait pas montré de différences significatives. En 2014, 2 lots d'huitres issus de régions plus fraîches (Paimpol, Irlande) ont subi de fortes mortalités. Ces huitres issues de milieu frais, température plus faible qu'à Marennes-Oléron, ont subi l'action d'un stress lié à une hausse brutale de température lors de leur re-trempage, facteur stimulant le développement bactérien⁷ et permettant un développement plus rapide de la maladie.

Le suivi n'a pas permis de voir de différence significative des mortalités entre les huitres issues de claires et celles de parcs aux mêmes périodes (mêmes huitres ayant subi un tri avant la mise en affinage).

Ainsi se pose la question de l'impact du travail des lots lors de périodes à risque sur la survie des animaux. Les professionnels souhaiteraient que soient comparées des huitres non travaillées avec les mêmes huitres travaillées et mises en affinage.

⁷ Travers A., LGP Ifremer La Tremblade. Comm. Pers.

VI. Conclusions

Ces deux années de suivis (2013 et 2014) ont permis de mettre en évidence le lien entre la bactérie *Vibrio aestuarianus* et les mortalités d'huitres en affinage, et un lien entre les températures et les mortalités (en 2013) en présence de suivi en basses températures. Pour des températures inférieures à 8°C, les mortalités n'avaient pas dépassé 3% en décembre 2013.

En 2014, les mortalités étaient importantes, avec un effet « type d'huitres » mis en évidence comme en 2013 : **Les mortalités des huitres 3N sont significativement plus élevées** dans les différents cas de figure : affinage en claires d'octobre et de novembre, passage sur parcs en novembre.

Dans nos conditions de suivis, aucun « effet site » n'a été mis en évidence. En 2013, il n'y avait pas eu de différences significatives entre les sites d'affinage (différents secteurs de marais testés). En 2014, la comparaison en claires et sur parcs ne montre pas de différence sur la mortalité des huitres, alors qu'en 2013, la mortalité observée sur parc était plus faible qu'en claire, mais un seul lot avait été suivi.

Ainsi se pose la question de **l'impact du travail des huitres** sur leur survie, du fait que les lots placés sur parcs ont subi les mêmes manipulations que celles placées en claires, comme le transport entre bassins, des tris et calibrations, des assecs plus ou moins longs...

Il serait intéressant de suivre en 2015 des lots d'huitres dont une partie serait laissée sur parcs, et une partie préparée et mise en affinage.

L'impact de la présence de la bactérie *Vibrio aestuarianus* sur les mortalités est vérifié pour la seconde année consécutive, notamment en période de plus fortes mortalités (octobre 2013 ou novembre 2014). Les conditions environnementales optimales pour le développement de *Vibrio aestuarianus*, comme pour *Vibrio splendidus*, sont des températures comprises entre 20 et 25°C, et une eau saumâtre à 20‰ (Vezzulli et al., 2010⁸), conditions de milieu proches de celles observées en novembre 2014. Il a été montré par l'équipe de Vezzulli (2010) que *Vibrio aestuarianus* entrait dans un état viable mais non cultivable après une incubation prolongée à 5°C, correspondant aux conditions de milieu en période froide en Charente Maritime comme celles observées en 2013. Selon les travaux d'IFREMER⁹, la durée de la phase d'incubation des bactéries présentes dans les huitres varie selon la température de l'eau (5 jours d'incubation à 22°C avant le déclenchement des mortalités, 15 jours à 18-20°C, 3 à 4 mois à 8-10°C).

⁸ Vezzulli et al. 2010; Aquatic ecology of the oyster pathogens *Vibrio splendidus* and *Vibrio aestuarianus*.

⁹ Travers A., LGP Ifremer La Tremblade ; Comm. Pers.

La mortalité est positivement corrélée au pourcentage de pools d’huitres détectés positifs à la bactérie. De plus il a été mis en évidence que les huitres **triploïdes (3N)** étaient **plus impactées** par *Vibrio aestuarianus*, et également plus fortement touchées par les mortalités.

Il a également été mis en évidence une hausse significative des mortalités de semaine en semaine au-delà de 14 jours en période chaude (températures de l’eau de 15 à 20°C).

Ainsi, en période à risque, exprimée par la température élevée de l’eau, voire la baisse de salinité (20 à 25‰), la mortalité des huitres en affinage pourrait être limitée par **réduction exceptionnelle de la durée d’affinage** à 14 jours.

De plus, les constats montrent qu’il serait plus judicieux **d’éviter l’affinage des huitres triploïdes**, notamment en période d’affinage long, tant que les températures de l’eau restent élevées, au dessus de 10°C. Les huitres naturelles ont montré qu’elles se comportaient mieux (10% de mortalité maximum même à 28 jours d’affinage) dans ces conditions difficiles d’élevage.

En complément, il serait intéressant de tester en 2015 **l’impact du refroidissement des huitres** afin d’observer l’impact sur les mortalités et les détections de *Vibrio aestuarianus*.

Ce suivi a permis d’apporter aux professionnels des informations en temps réel sur les mortalités et les conditions de milieu, en complément du Réseau Conchylicole en Marais Salé et des bulletins hebdomadaires diffusés à partir de début octobre. L’ensemble de ces données a été transmis à l’INAO par le service qualité Marennes-Oléron afin de mettre en avant le caractère exceptionnel des conditions de milieu (chaud et humide) impactant les survies des huitres en claires, et de demander une dérogation sur la durée d’affinage sur cette période.

VII. ANNEXES

Ensemble des résultats d'analyses et de suivis des huitres :

| | Type d'huitres | Site | Etat initial J0 | | | Poids moyen fin affinage | | Croissance g | |
|--|----------------|---------|------------------------------|-----------------------------|----------------------------|--------------------------|-------------|--------------|------------|
| | | | Poids moyen g Initial Claire | Poids moyen g Initial Parcs | Poids moyen initial global | Clares g J14 | Parcs g J14 | En claire | Sur parcs |
| Septembre/Octobre 14jours | 3N | Coux | 83,8 | 83,1 | 83,5 | 84,8 | 82,8 | 0,9 | -0,2 |
| | | Feneau | 79,8 | 79,2 | 79,5 | 84,5 | 79,6 | 4,6 | 0,4 |
| | | Terdoux | 81,9 | 82,3 | 82,1 | 83,4 | 84,2 | 1,6 | 1,9 |
| | Naturelles | Coux | 62,7 | 65,4 | 64,0 | 63,2 | 64,3 | 0,5 | -1,0 |
| | | Feneau | 85,0 | 85,3 | 85,2 | 88,8 | 85,2 | 3,8 | -0,1 |
| | | Terdoux | 78,5 | 77,4 | 78,0 | 79,6 | 78,9 | 1,1 | 1,5 |
| Moyenne Septembre/Octobre 14jours | | | 78,6 | 78,8 | 78,7 | 80,7 | 79,2 | 2,1 | 0,4 |

| | Type d'huitres | Site | Etat initial J0 | | | Poids moyen fin affinage | | Croissance g | |
|--|----------------|-------------------|------------------------------|-----------------------------|----------------------------|--------------------------|-------------|--------------|------------|
| | | | Poids moyen g Initial Claire | Poids moyen g Initial Parcs | Poids moyen initial global | Clares g J14 | Parcs g J14 | En claire | Sur parcs |
| Octobre/novembre 28 jours | 3N | Feneau | 54,9 | 54,8 | 54,9 | 56,4 | 56,3 | 1,5 | 1,5 |
| | | Terdoux | 78,8 | 76,6 | 77,7 | 79,3 | 78,3 | 0,4 | 1,6 |
| | | Prise Grand Lilas | 103,0 | 102,9 | 102,9 | 101,2 | 100,0 | -1,8 | -2,9 |
| | Naturelles | Coux | 77,7 | 78,0 | 77,8 | 77,6 | | 0,0 | -78,0 |
| | | Feneau | 77,0 | 77,3 | 77,2 | 78,4 | 78,5 | 1,3 | 1,3 |
| | | Terdoux | 75,9 | 75,9 | 75,9 | 78,1 | 78,3 | 2,2 | 2,4 |
| Moyenne Octobre/novembre 28 jours | | | 77,9 | 77,6 | 77,7 | 78,5 | 78,3 | 0,6 | 0,7 |

Annexe 1 : Biométrie des huitres : poids moyens initial et en fin de phase d'affinage.

| | Type d'huitres | Site | % mortalité cumulée Claires | | | | % Mortalité sur parcs | |
|--|----------------|-------------------|-----------------------------|------------|-------------|-------------|-----------------------|-----------|
| | | | J7 | J14 | J21 | J28 | J14 Parcs | J28 Parcs |
| Septembre/Octobre 14jours | 3N | Coux | 3,3 | 6,6 | 14,2 | | 0,7 | |
| | | Feneau | 3,8 | 8,0 | 8,9 | | 7,2 | |
| | | Terdoux | 1,4 | 5,0 | | | 10,0 | |
| | Naturelles | Coux | 0,5 | 0,7 | | | 8,2 | |
| | | Feneau | 3,6 | 5,3 | 8,2 | | 6,9 | |
| | | Terdoux | 1,8 | 3,3 | | | 5,4 | |
| Moyenne Septembre/Octobre 14jours | | | 2,4 | 4,8 | 10,4 | | 6,4 | |
| Octobre/novembre 28 jours | 3N | Feneau | 9,0 | 21,7 | 28,0 | 36,0 | | 40,0 |
| | | Terdoux | 2,6 | 10,0 | 12,1 | 17,9 | | 10,0 |
| | | Prise Grand Lilas | 1,3 | 6,6 | 24,9 | 30,9 | | 24,3 |
| | Naturelles | Coux | 1,3 | 2,3 | 5,0 | 6,0 | | |
| | | Feneau | 1,3 | 1,7 | 4,0 | 7,3 | | 2,3 |
| | | Terdoux | 1,0 | 2,6 | 3,8 | 5,1 | | 5,7 |
| Moyenne Octobre/novembre 28 jours | | | 2,8 | 7,5 | 13,0 | 17,2 | 16,4 | |
| Moyenne générale | | | 2,6 | 6,1 | 12,1 | | | |

Annexe 2 : Mortalité moyenne hebdomadaire en claires et mortalité finale sur parcs.

| | Type d'huîtres | Site | % Pools positifs Claires | | | | | % Pools positifs sur parcs | |
|--|----------------|-------------------|--------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------------------------|-----------|
| | | | J0 | J7 | J14 | J21 | J28 | J14 Parcs | J28 Parcs |
| Septembre/Octobre 14jours | 3N | Coux | 33 | 0 | 66 | | | 33 | |
| | | Feneau | 0 | 0 | 0 | | | 33 | |
| | | Terdoux | 0 | 0 | 100 | | | 0 | |
| | Naturelles | Coux | 0 | 0 | 0 | | | 0 | |
| | | Feneau | 33 | 0 | 33 | | | 66 | |
| | | Terdoux | 0 | 0 | 33 | | | 66 | |
| Moyenne Septembre/Octobre 14jours | | | 11 | 0 | 39 | | | 33 | |
| Octobre/novembre 28 jours | 3N | Feneau | 66 | 66 | 0 | 66 | 33 | | 66 |
| | | Terdoux | 0 | 0 | 0 | 33 | 0 | | 0 |
| | | Prise Grand Lilas | 0 | 33 | 100 | 0 | 66 | | 33 |
| | | | | | | | | | |
| | Naturelles | Coux | 0 | 33 | 0 | 0 | 33 | | |
| | | Feneau | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | 0 |
| | | Terdoux | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | 0 |
| Moyenne Octobre/novembre 28 jours | | | 11 | 22 | 17 | 17 | 22 | | 20 |
| Moyenne générale | | | 11 | 11 | 28 | | | | |

| | Type d'huîtres | Site | Nombre de Vibrios aestuarius/mg chair | | | | | Nb V. aest./mg sur parcs | |
|--|----------------|-------------------|---------------------------------------|----------------|------------------|----------------|---------------|--------------------------|----------------|
| | | | J0 | J7 | J14 | J21 | J28 | J14 Parcs | J28 Parcs |
| Septembre/Octobre 14jours | 3N | Coux | 5 687 597 | 0 | 1 | | | 0,33 | |
| | | Feneau | 0 | 0 | 0 | | | 0,33 | |
| | | Terdoux | 0 | 0 | 168 496 | | | 0 | |
| | Naturelles | Coux | 0 | 0 | 0 | | | 0 | |
| | | Feneau | 160 635 | 0 | 0,33 | | | 0,67 | |
| | | Terdoux | 0 | 0 | 216 337 | | | 12 275 | |
| Moyenne Septembre/Octobre 14jours | | | 974 705 | 0 | 64 139 | | | 2 046 | |
| Octobre/novembre 28 jours | 3N | Feneau | 164 136 | 1 220 915 | 0 | 494 066 | 81 513 | | 1 168 021 |
| | | Terdoux | 0 | 0 | 0 | 599 135 | 0 | | 0 |
| | | Prise Grand Lilas | 0 | 42 894 | 6 248 903 | 0 | 11 649 | | 1 |
| | | | | | | | | | |
| | Naturelles | Coux | 0 | 215 174 | 0 | 0 | 217 418 | | |
| | | Feneau | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | 0 |
| | | Terdoux | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | 0 |
| Moyenne Octobre/novembre 28 jours | | | 27 356 | 246 497 | 1 041 484 | 182 200 | 51 763 | | 233 604 |
| Moyenne générale | | | 501 031 | 123 249 | 552 811 | | | | |

Annexe 3 : Détection et dénombrements hebdomadaires en claires et finale sur parcs en claire de *Vibrio aestuarius* dans les huîtres.

Récapitulatif des détections de *Vibrio aestuarius* dans les huîtres durant le suivi 2014 :

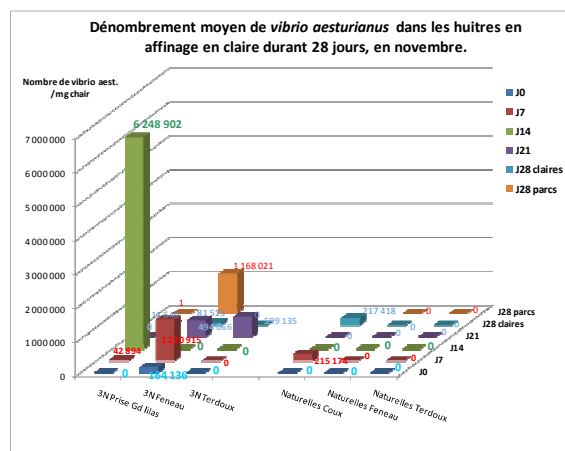
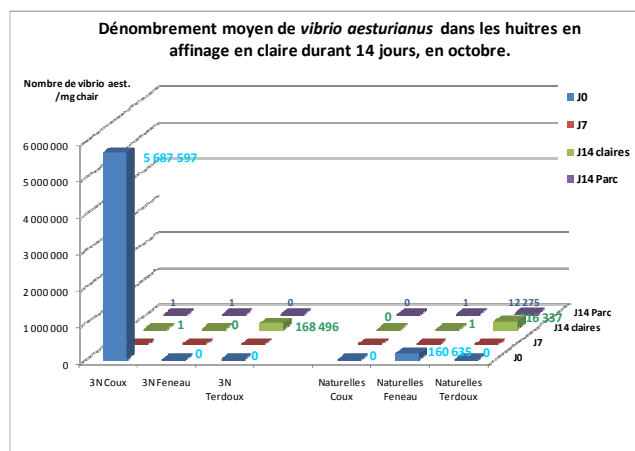
En octobre 2014 :

En novembre 2014 :

| | J0 | Claires | | Parcs J14 |
|-------------------|--------------------|----------------|--------------------|--------------------|
| | | J7 | J14 | |
| Détections | 2 lots + /6 | Aucun + | 4 lots + /6 | 4 lots + /6 |
| 3N | 1 | | 2 | 2 |
| Nat. | 1 | | 2 | 2 |

| nov-14 | J0 | Claires | | | Parcs J28 | |
|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | | J7 | J14 | J21 | | |
| Détections | 1 lot + /6 | 3 lots + /6 | 1 lot + /6 | 2 lots + /6 | 3 lots + /6 | 2 lots + /5 |
| 3N | 1 | 2 | 1 | 2 | 2 | 2 |
| Nat. | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |

Annexe 4 : Nombre de lots détectés positifs à *Vibrio aestuarius* en 2014.



Annexe 5 : Dénombrement de *Vibrio aestuarius* dans les huîtres suivies en octobre et novembre 2014.

VIII. Références bibliographiques

Azandegbe A., Thèse : Étude de la structure des communautés bactériennes du sédiment et de l'écologie de *Vibrio aestuarianus* pathogène de l'huitre creuse *Crassostrea gigas* sans deux sites ostréicoles. IFREMER, Thèse 2010.

Bouquet AL. ; Réseau Conchylicole en Marais Salé : Note sur les références de températures et salinités. CREAA Octobre 2014.

Bouquet AL., Blachier P., Brossard N., Ansart F., Réthoré P., Sagnes A., Guillaud C. ; Etude de la présence de *Vibrio aestuarianus* dans les huitres en affinage à Marennes-Oléron : Bilan du suivi réalisé d'octobre à décembre 2013. CREAA ; Juillet 2014.

Vezzulli L., Pezzati E., Stauder M., Stagnaro L., Venier P., Pruzzo C., 2010 ; Aquatic ecology of the oyster pathogens *Vibrio splendidus* and *Vibrio aestuarianus*.

Ce travail a pu être réalisé grâce à la participation de :

- 6 entreprises : MM Favier P., Grolleau B., Suire J.P, Chaubard N., Videau O., Boyard P.
- Le service qualité : Brossard N., Ansart F., Sagnes A., Guillaud C.
- L'équipe technique du CREEA.

Participation financière :



Prise de Terdoux

17480 Le Château d'Oléron

Tel : 05 46 47 51 93 Fax : 05 46 47 53 15

Courriel : Creea@wanadoo.fr

Site Internet : <http://www.creea.fr>