

AVIS

de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

**relatif à une demande d'évaluation des risques sanitaires
liés à l'importation d'huîtres vivantes *Crassostrea gigas* du Japon**

RAPPEL DE LA SAISINE

L'Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) a été saisie le lundi 23 août 2010 par la Direction générale de l'alimentation (DGA) d'une demande d'évaluation des risques sanitaires liés à l'importation d'huîtres vivantes *Crassostrea gigas* du Japon à des fins expérimentales en milieu confiné.

Cette saisine n'a pas pour objet l'évaluation des risques sanitaires liés à l'importation d'huîtres vivantes qui seraient placées en milieu naturel, ou dont la descendance le serait.

CONTEXTE

Le phénomène de surmortalité des huîtres creuses *Crassostrea gigas* est observé depuis une vingtaine d'années en France, durant l'été (Renault *et al.* 1994). A partir de 2008, des taux de mortalité sensiblement plus élevés (60 à 100%) que les années précédentes ont été constatés sur les littoraux français, irlandais, anglais et des îles anglo-normandes. Les causes de ce phénomène ne sont pas encore totalement connues ; d'abord considérée comme multifactorielle, l'étiologie de ce syndrome s'est précisée ces derniers mois avec la confirmation expérimentale du rôle pathogène majeur joué par l'herpèsvirus OsHV-1 (Ostreid Herpesvirus type 1), notamment un variant de ce virus, dénommé OsHV-1 microvar (μ var) (*cf.* avis de l'Afssa 2010-SA-0068).

Situation épidémiologique en France et dans les autres pays européens au regard du virus OsHV-1

- En France, en 2008, l'ensemble du littoral français a été atteint, avec trois pics de mortalité, fin mai-début juin, fin juin-début juillet et fin juillet-début août. En 2009, l'apparition des premiers cas a été un peu plus précoce (fin avril) et les épisodes de surmortalité ont connu une progression du sud vers le nord. Pour l'année 2010, la France a notifié à l'OIE 14 foyers de surmortalité (à la date du 10 septembre), dont le début s'est situé entre le 13 avril et le 17 juin. Les taux de mortalité observés se sont échelonnés entre 40 et 98%, majoritairement autour de 50%. Une progression du sud vers le nord a également été notée en 2010, avec les premiers cas observés en Corse dès le mois d'avril.
- L'Irlande a notifié 15 foyers ayant débuté entre le 28 mai et le 25 juillet 2010, touchant une large partie de son littoral avec des taux de mortalité très variables (entre 15 et 100%).

- Le Royaume-Uni a rapporté cinq foyers, en date du 12 juillet, sur l'île de Jersey pour quatre d'entre eux, le cinquième situé dans le Kent, en Angleterre. Des taux de mortalité compris entre 25 et 100% ont été observés.
- Aux Pays-Bas (Escaut oriental), le virus OsHV-1 μ var a été mis en évidence pour la première fois en septembre 2010, dans le cadre du programme européen de surveillance de ce virus. Sa présence n'était cependant pas associée à un phénomène de surmortalité (à la date du 10 septembre 2010).

Considérant la diffusion très large du virus OsHV-1 en Europe et la difficulté de lutter efficacement contre ce virus par des mesures sanitaires, l'approche fondée sur l'exploitation de souches qui seraient génétiquement plus résistantes à ce virus et aux surmortalités associées est apparue comme une option à privilégier. Ainsi, l'importation de « souches » de *C. gigas* provenant d'un pays tiers, en l'occurrence du Japon, est apparue aux professionnels de la conchyliculture comme une solution capable de pallier les pertes françaises.

Comme l'indique la saisine « *Les conditions d'importation sont encadrées au niveau communautaire par le règlement (CE) n°1251/2008¹. Or, à ce jour, le Japon n'est pas autorisé à exporter des mollusques bivalves pour l'élevage en Europe.*

Toutefois des importations d'huîtres à l'état vivant du Japon pourraient être autorisées à des fins expérimentales uniquement. Une autorisation exceptionnelle à des fins de recherche a été demandée aux services de la Commission européenne (DG SANCO), sur la base d'un dossier préparé par Ifremer en relation avec le CNC [Comité national de la conchyliculture]. »

Le dossier préparé par l'Ifremer en appui à la demande des professionnels mentionne que l'importation des huîtres du Japon est prévue en deux temps, correspondant à deux phases expérimentales :

- **La première phase**, qui fait l'objet du protocole détaillé dans le dossier, comporte deux étapes :
 - la recherche d'agents infectieux sur un lot de 300 huîtres *Crassostrea gigas* (150 adultes et 150 individus de moins d'un an - naissain) provenant du Japon. Les agents pathogènes qui seront recherchés sur ce naissain sont listés dans l'annexe III du dossier (cf. annexe du présent avis) ; il s'agit notamment du virus OsHV-1, de bactéries du genre *Vibrio* (notamment *V. splendidus*, *V. aestuarianus*), de *Nocardia crassostreae* et de plusieurs protozoaires parasites. Les huîtres devant être sacrifiées à leur arrivée, cette étape ne nécessite qu'une autorisation nationale d'importation ;
 - la réalisation de tests de sensibilité de naissain japonais (500 individus) aux principaux agents infectieux présents en France : OsHV-1, *V. splendidus*, *V. aestuarianus*. Ces huîtres étant destinées à être maintenues vivantes dans une installation expérimentale, leur importation requiert une autorisation européenne (DG SANCO) ;
- **La deuxième phase** sera mise en œuvre si, et seulement si, les résultats de la première phase sont satisfaisants. Environ 5 000 huîtres adultes en provenance du Japon seront introduites dans des installations de quarantaine, afin de produire une nouvelle génération d'animaux (F1) destinés à être placés en milieu naturel et suivis pour leurs caractéristiques de croissance, de survie, de reproduction et de sensibilité à certains agents infectieux.

L'avis de l'Anses est sollicité par la DGAI sur la première phase de ce projet, en vue de réaliser une « *évaluation des risques sanitaires liés à l'importation d'huîtres vivantes Crassostrea gigas du Japon dans les conditions du protocole* » décrit dans le dossier produit par l'Ifremer.

¹ Règlement (CE) n°1251/2008 de la Commission du 12 décembre 2008 portant application de la directive 2006/88/CE du Conseil en ce qui concerne les conditions et les exigences de certification applicables à la mise sur le marché et à l'importation dans la Communauté d'animaux d'aquaculture et de produits issus de ces animaux et établissant une liste des espèces vectrices.

METHODE D'EXPERTISE

L'expertise collective a été réalisée par le groupe d'expertise collective d'urgence (Gecu) « Importation d'huîtres japonaises » réuni le 3 septembre 2010. La coordination scientifique du Comité d'experts spécialisé « Santé animale » a élaboré un projet d'avis qui a été étudié par les membres du Gecu et validé par moyens télématiques le 22 septembre 2010.

L'expertise a été conduite sur la base :

- de la lettre de saisine de la DGAI en date du 23 août 2010 ;
- des documents attachés à la saisine :
 - dossier préparé par l'Ifremer en collaboration avec le CNC : « Demande de dérogation pour l'introduction d'huîtres creuses, *Crassostrea gigas*, vivantes en provenance du Japon pour tester en conditions expérimentales leur sensibilité à certains agents infectieux présents en France » ;
 - feuille de route DGAI pour l'importation à des fins expérimentales d'huîtres en provenance du Japon : à titre indicatif seulement (feuille de route non actualisée après modification du protocole) ;
- de l'audition de scientifiques de l'Ifremer - La Tremblade, par voie télématique au cours de la réunion du Gecu du 3 septembre 2010 ;
- de l'avis de l'Afssa 2010-SA-0068 du 21 mai 2010 relatif à la surmortalité d'huîtres creuses (*Crassostrea gigas*) ;
- de la bibliographie citée en fin d'avis.

ARGUMENTAIRE

L'argumentaire de l'Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail est fondé sur l'avis du Groupe d'expertise collective d'urgence « Importation d'huîtres japonaises » dont les éléments sont présentés ci-dessous :

- «
- *Dans un premier temps, le Gecu s'est interrogé sur la pertinence scientifique d'importer des huîtres (*C. gigas*) du Japon dans le but de conduire les tests de sensibilité proposés dans le dossier présenté par l'Ifremer.*
 - *Dans un deuxième temps, il a examiné les risques sanitaires liés à cette introduction et à la réalisation des tests de sensibilité, ainsi que les garanties données par le protocole Ifremer pour la maîtrise de ces risques sanitaires.*

De ces réflexions découle l'analyse du rapport bénéfices/risques de la démarche proposée.

1. Objectifs et intérêt de l'importation d'huîtres creuses du Japon

1.1. Indications et support d'une résistance génétique

L'existence d'une base génétique de la résistance des huîtres creuses au phénomène de mortalité estivale est attestée par les études menées à l'Ifremer, notamment dans le cadre du programme MOREST, programme multidisciplinaire visant à élucider les causes de ce phénomène et à proposer des solutions pour y pallier (Samain et al. 2008). Des travaux récents rapportés par Sauvage et al. (2009, 2010) ont également permis de démontrer une base génétique de la résistance à l'OsHV-1 chez l'huître creuse.

Comme dans d'autres espèces animales (mammifères ou aviaires), vis-à-vis d'autres agents pathogènes, les huîtres « résistantes » restent réceptives à l'OshV-1. Elles portent cependant des charges virales moins élevées que les huîtres « sensibles », sont moins sévèrement affectées par l'infection et, à l'échelle d'une population, expriment une moindre mortalité. Il s'agit certainement d'une **résistance relative**, pouvant reposer sur un contrôle de la multiplication virale et des mécanismes physiopathologiques responsables de la mort de l'organisme infecté.

Le caractère de résistance au syndrome de mortalité estivale est génétiquement déterminé et possède une **héritabilité élevée** (estimée à 0,70 +/- 0,28 selon Dégremont et al. 2005) **permettant d'envisager une sélection génétique**. Ce résultat a été confirmé par une expérience de sélection divergente sur plusieurs sites (Boudry et al. 2008). En utilisant les résultats et les produits (familles F2) issus du programme MOREST, et en appliquant les techniques récentes de génétique moléculaire, il a été possible d'identifier cinq QTL (« quantitative trait loci ») pour les deux caractères phénotypiques étudiés : taux de mortalité d'une part, et charge virale, d'autre part (mesurée par RT-PCR selon Pépin et al. 2008). Les QTL associés à chacun des deux caractères ont des localisations très similaires, suggérant une base génétique commune. Ces résultats sont à rapprocher des résultats obtenus sur les mêmes lignées divergentes², montrant une corrélation hautement significative, au sein de familles F2 qui présentent des mortalités élevées, entre la charge virale OshV-1 et le taux de mortalité (Sauvage et al. 2010).

L'étude fine de ces QTL devrait permettre la recherche de **marqueurs génétiques** de résistance, nécessaires à la sélection à grande échelle et sans exposition à une épreuve naturelle ou expérimentale, des individus résistants.

L'existence d'une résistance génétique vis-à-vis de *Vibrio* spp n'est pas documentée.

1.2. Intérêt de l'importation de souches étrangères

Il est peu probable qu'une population exotique tout-venant, et a fortiori un échantillon de petite taille extrait de cette population, se révèle significativement plus résistante que la population « indigène » vis-à-vis d'agents pathogènes enzootiques dans cette dernière.

Cette probabilité est encore diminuée si les huîtres importées sont génétiquement proches des huîtres résidentes. En effet, les deux populations, importée et résidente, appartiennent à la même espèce (*C. gigas*). Par ailleurs, les huîtres françaises élevées actuellement en France sont elles-mêmes en grande partie issues d'huîtres importées du Japon (des régions de Sendaï et d'Hiroshima) dans les années 70, et sont donc issues du même noyau génétique.

Une approche génétique plus efficace consisterait à sélectionner, dans la population importée ou dans les descendants de cette population (F2), les individus les plus résistants, afin de les multiplier et de les diffuser. Dans la mesure où il n'existe pas encore de marqueurs génétiques de cette résistance, une sélection ne peut reposer que sur l'analyse des réponses à une infection expérimentale ou naturelle. Cette approche est évoquée dans le dossier de l'Ifremer pour les animaux qui seraient importés dans la phase 2.

Les principes de la sélection génétique rappelés au 1.1. indiquent que pour optimiser les chances de détecter des phénotypes (donc des génotypes) résistants, la population doit présenter la plus grande **variabilité génétique** possible. L'intérêt d'une importation de souches étrangères résiderait donc dans l'introduction ou la réintroduction d'une variabilité génétique dans une population qui n'en aurait pas ou plus suffisamment (« re-stockage »). L'importation d'huîtres étrangères en France répondrait donc au besoin d'accroître la variabilité génétique de *C. gigas*, parfois suspectée d'être en diminution. Cependant, si les recherches en cours mettent en évidence une baisse de la variabilité génétique dans le nord de l'Europe (Danemark, Norvège) (travaux de S. Lapègue et al., communication personnelle à un membre du Gecu), cela ne semble pas être le cas pour la France. Des analyses de polymorphisme génétique fondées sur des marqueurs neutres (séquences non codantes de type microsatellites) n'ont en effet pas montré de perte significative de diversité lors de la comparaison d'échantillons prélevés en France avec des

² produits issus des expériences de génétique ayant pour but de faire « diverger » au bout de n générations des individus de phénotypes différents (ici : résistant vs sensible).

échantillons provenant des zones originelles de l'huître creuse *Crassostrea gigas*, au Japon (Huvet et al. 2000).

En résumé, l'approche de sélection génétique devrait pouvoir être appliquée aux populations françaises actuelles, sans qu'il soit nécessaire d'en accroître au préalable la diversité génétique par l'introduction de souches étrangères.

1.3. Intérêt de l'importation en France d'huîtres *C. gigas* du Japon

A ce jour, aucune donnée scientifique n'est disponible qui permettrait d'envisager que les huîtres du Japon possèdent une réceptivité ou une sensibilité différentes aux agents infectieux responsables des phénomènes de surmortalité.

De plus, les études conduites sur les populations de *C. gigas* françaises et japonaises ont montré que ces populations sont peu divergentes entre elles au plan génétique, et qu'en outre la variabilité génétique au sein de ces deux populations n'est pas significativement différente (Moraga et al. 1989).

Le choix de la zone d'origine des huîtres japonaises – Miyagi, région de Sendai - est fondé sur l'absence rapportée dans cette région du parasite *Marteiloides chungmuensis* (cf. 2.1), parasite exotique pour la France. Au vu des éléments exposés ci-dessus, ce choix n'apparaît cependant pas optimal au plan de la génétique.

Il aurait été souhaitable qu'une étude génétique préalable détermine le degré de divergence inter- et intra-populationnel, et permette de préciser le nombre d'individus et de sites qu'il aurait été intéressant de prélever au Japon dans l'objectif de l'importation en France à des fins expérimentales. Cette étude, conduite sur des extraits génomiques d'huîtres des différentes populations avec les outils moléculaires récents, aurait pu être réalisée en France ou au Japon, avant toute importation/exportation d'animaux vivants.

Dans l'hypothèse où la population japonaise de *C. gigas* présenterait une variabilité génétique suffisante pour que certains individus puissent y être repérés comme « résistants » à l'OsHV-1, la probabilité d'identifier ces phénotypes résistants parmi les 500 huîtres importées dépendrait de la proportion d'huîtres de ce phénotype dans la population importée. Dans le protocole actuel, le faible nombre d'huîtres japonaises devant être testées et le fait que ces individus proviendront probablement d'un seul site ou d'un nombre très restreint de sites au Japon, réduisent la probabilité d'identifier des phénotypes résistants.

En conclusion, le Gecu reconnaît la validité de l'approche génétique pour lutter contre les surmortalités estivales de *C. gigas* et recommande la poursuite des études en cours dans ce domaine, notamment dans la ligne développée par le programme MOREST en France.

Le Gecu n'a cependant identifié aucune donnée permettant d'étayer l'hypothèse selon laquelle des huîtres japonaises, a fortiori de la même espèce *C. gigas*, seraient plus résistantes que les huîtres françaises à l'OsHV-1 ou à d'autres facteurs étiologiques des mortalités estivales. Il considère comme très improbable que l'échantillon importé dans le cadre de la phase 1 du protocole se montre significativement plus résistant que le naissain français au cours des infections expérimentales par OsHV-1 et *Vibrio* spp.

La réalisation d'une étude génétique aurait été un préalable souhaitable à toute importation de souches japonaises. Elle aurait permis d'en valider la pertinence, notamment à des fins de sélection, et de préciser les conditions optimales des prélèvements (effectifs et sites testés).

2. Analyse des risques sanitaires liés à l'importation d'huîtres du Japon

2.1. Risques associés aux agents pathogènes exotiques

Comme l'indique le dossier préparé par l'Ifremer, les informations disponibles sur les agents pathogènes de l'huître au Japon « sont très parcellaires dans la mesure où il n'existe pas de système centralisé de surveillance des maladies affectant les mollusques marins dans ce pays ». Le corollaire de cette situation sanitaire mal contrôlée, est qu'aucun secteur de production japonais n'apparaît dans la liste des zones à partir desquelles il est possible d'introduire des mollusques vivants au sein de la communauté européenne, selon le règlement (CE) 1251/2008.

Certains agents pathogènes ont été identifiés de façon parfois récurrente chez l'huître creuse au Japon. Les plus dangereux, dans l'optique d'une importation à des fins de sélection et/ou de diffusion sont les **agents pathogènes exotiques pour la France, dont la transmission peut s'effectuer de façon verticale**. Ainsi, les principales menaces sont les protozoaires parasites *Marteiloïdes chungmuensis*, *Perkinsus marinus* et *Mikrocytos mackini* ainsi que les *herpèsvirus*.

- L'infection par **Marteiloïdes chungmuensis** constitue la dominante pathologique chez les huîtres au Japon, avant les infections à *herpèsvirus*. Ce protozoaire se multiplie dans les ovocytes et affecte ainsi la reproduction de l'huître, générant de lourdes pertes économiques. Le dossier de l'Ifremer rapporte les données de publications indiquant des niveaux de prévalence supérieurs à 40% dans certains secteurs et à certaines saisons. *M. chungmuensis* n'a pas été mis en évidence dans la zone de production de Miyagi, dont seraient originaires les huîtres importées ; il est cependant indiqué dans le dossier Ifremer que « l'effort réalisé en terme analytique dans ce secteur ne permet pas de garantir qu'il soit indemne ».

- **Herpèsvirus de l'huître**

Etant donné la large répartition géographique du géotype *OsHV-1* μ var, le risque sanitaire associé à l'importation d'huîtres infectées résiderait dans l'**introduction de variants qui ne seraient pas déjà présents en France**, et dont certains pourraient présenter des caractéristiques nouvelles d'adaptabilité ou de virulence.

Des *herpèsvirus* ont déjà été détectés dans les huîtres japonaises. Ainsi Moss et al. (2007) ont mis en évidence au moins deux souches d'*herpèsvirus* dans des huîtres creuses *Crassostrea ariakensis* du Japon : dans des échantillons de 1999 issus de la Baie Ariake et dans des échantillons de 2005 issus de la Préfecture de Mie. Une comparaison des génomes viraux a montré que des virus *OsHV-1* isolés dans le nord du Japon seraient identiques au virus *OsHV-1* décrit en France depuis une vingtaine d'années (Moss et al. 2007).

Malgré ces indications de circulation virale dans la région, aucun épisode de surmortalité associée à la détection d'*herpèsvirus* n'a été notifié par le Japon. Plusieurs raisons peuvent être invoquées pour expliquer cette apparente contradiction :

- On peut s'attendre, notamment dans un pays qui n'a pas établi de système de surveillance centralisé, à ce qu'il y ait un défaut de déclaration des hausses de mortalité et/ou d'investigations en cas de surmortalité. Bien qu'aucune mortalité associée au virus *OsHV-1* n'ait été notifiée, le dossier du CNC porté à la connaissance du Gecu indique que le secteur de Miyagi « connaît des épisodes de mortalités estivales ». Ces épisodes, rapportés depuis 1950, sont expliqués par « un affaiblissement des huîtres après la ponte lié aux variations de température et parfois peut-être à un appauvrissement en oxygène des eaux ». L'hypothèse d'une participation d'agents infectieux aux épisodes nippons plus récents de surmortalité estivale ne peut cependant être exclue ;
- Il semble par ailleurs que la prévalence de l'*OsHV-1* soit plus faible au Japon, et que les infections par ce virus y aient un caractère sporadique (selon une communication personnelle de deux experts japonais, Dr. Keisuke Takahashi et Prof. Toshiaki Itami, à un membre du Gecu) par opposition aux prévalences élevées observées en France en été, et à la situation enzootique du littoral français à l'égard de ce virus ;
- Enfin, on ne peut totalement écarter l'hypothèse que les huîtres japonaises présentent une moindre sensibilité au syndrome de surmortalité saisonnière, bien qu'il n'existe aucune donnée appuyant cette hypothèse (cf. 1.).

- La présence de *Vibrio splendidus* et de *V. aestuarianus* ne semble pas avoir été rapportée chez les huîtres creuses au Japon. S'agissant des autres espèces de *Vibrio*, dont la recherche est bien prévue par le protocole Ifremer, le Gecu attire l'attention sur le risque sanitaire lié à la présence de *V. tubiashii*, fortement impliqué dans des phénomènes de surmortalité aux Etats-Unis (Elston et al. 2008).
- Le Gecu souligne aussi les risques sanitaires que pourrait présenter l'introduction d'huîtres provenant du Japon pour **les autres mollusques marins français**, sauvages et d'élevage (autres que l'huître creuse *C. gigas*).
- Le Gecu s'est interrogé sur les éventuels risques sanitaires associés à des **agents pathogènes pour l'Homme pouvant être hébergés par l'huître** (norovirus, par exemple) dont seraient porteuses les huîtres importées. Toutefois, dans la mesure où ces agents ne se multiplient pas chez l'huître (et sont éliminés progressivement), n'ont pas de transmission verticale, et ne se retrouveraient donc pas dans la descendance des huîtres importées, destinée à être diffusée dans le milieu naturel, le risque apparaît comme quasi-nul.
- Enfin, le Gecu rappelle que l'introduction d'huîtres en provenance du Japon à des fins de diffusion ultérieure en France, n'aurait de pertinence, que si ces animaux, non seulement sont moins sensibles aux agents pathogènes majeurs identifiés en France, mais encore s'ils **ne présentent pas de sensibilité accrue vis-à-vis d'autres agents pathogènes** (voire à des facteurs environnementaux) présents en France.
- **En conclusion**, le risque que des huîtres en provenance du Japon soient contaminées par des agents pathogènes exotiques reste élevé, malgré les criblages réalisés sur place vis-à-vis de différents agents et dans différentes zones conchylicoles, compte tenu de l'absence de garantie sur le statut sanitaire de ces zones. Au regard des conséquences sanitaires et économiques désastreuses que pourrait avoir l'introduction d'un ou plusieurs de ces agents sur le littoral français, **le Gecu recommande de considérer avec la plus grande prudence toute demande d'importation d'huîtres vivantes.**

2.2. Examen du protocole proposé

Le Gecu a analysé les garanties apportées par le protocole Ifremer pour la détection et la maîtrise des risques sanitaires associés à l'importation d'huîtres du Japon.

- **Transport et confinement**

Les modalités du transport des huîtres depuis le Japon jusqu'à la station expérimentale de la Tremblade ne sont pas détaillées dans le protocole. Le Gecu attire l'attention sur les précautions qui doivent être associées au transport d'huîtres vivantes, qu'elles soient destinées à la 1^{ère} ou à la 2^{ème} étape de la phase 1 du protocole, même si la survie et la diffusion d'un agent pathogène au cours du transport sont improbables, car elles nécessiteraient des conditions particulières et notamment la proximité d'hôtes réceptifs.

La décontamination des contenants, du matériel et des locaux, ainsi que le traitement de tous les effluents sont des étapes-clés de la maîtrise des risques sanitaires. Elles sont prises en compte dans le dossier de l'Ifremer, et le Gecu insiste sur la nécessité d'une mise en œuvre rigoureuse des mesures prévues.

Il est impératif que les huîtres importées, notamment celles qui doivent faire l'objet de tests de sensibilité, soient strictement maintenues dans des installations de quarantaine répondant à des normes de confinement de niveau 3, séparées en particulier de tout local pouvant héberger des huîtres destinées à être relâchées dans le milieu naturel. Les installations expérimentales présentes à l'Ifremer devraient permettre d'assurer ces conditions.

- **Recherche des agents pathogènes (phase 1, étape 1)**

La liste des agents pathogènes devant être recherchés d'après le protocole Ifremer (cf. annexe) est considérée comme satisfaisante par le Gecu.

Ce dernier recommande que la recherche de chaque agent pathogène soit réalisée à l'aide des techniques les plus performantes, notamment en termes de sensibilité et tout particulièrement pour

la mise en évidence du génome viral OsHV-1 par PCR. Dans le cas où ce test s'avérerait positif, il devrait être suivi du séquençage du génome viral, permettant sa comparaison avec les génotypes déjà identifiés en France (génotype de référence ou μ var) ou dans d'autres régions du monde (Etats-Unis notamment).

- **Etudes de sensibilité (phase 1, étape 2)**

L'infection expérimentale du naissain de *C. gigas* provenant du Japon doit être conduite dans des conditions assurant un risque nul de diffusion d'agents pathogènes dans le milieu.

Bien que le dossier de l'Ifremer indique en p. 4 à propos des huîtres importées pour la 2^{ème} étape de la phase 1 : « cette introduction sera conditionnée à l'obtention de résultats favorables pour la recherche d'agents infectieux », le Gecu n'a pas jugé nécessaire de conditionner la réalisation des tests de sensibilité à l'absence de détection d'agents pathogènes au cours de l'étape 1. Il s'est toutefois interrogé sur l'intérêt que présenterait cette expérimentation si la présence d'agents exotiques était mise en évidence dans le lot initialement importé aux fins de diagnostic.

- **En conclusion**, le Gecu considère que les mesures sanitaires prévues par l'Ifremer pour la réalisation des tests de sensibilité, si elles sont strictement appliquées, sont de nature à apporter les garanties nécessaires pour éviter tout risque de diffusion d'agents infectieux à partir des huîtres provenant du Japon. **Il estime par conséquent que le risque sanitaire associé à la phase 1 du protocole est négligeable.**

En revanche, le Gecu estime que la phase 2 du protocole, pour laquelle il n'est pas consulté actuellement, serait une phase à hauts risques, en raison de la difficulté de garantir l'absence d'agents infectieux exotiques dans une population de plusieurs milliers d'huîtres, et de la menace constituée par des agents ayant une transmission verticale. La phase 2 ne devrait être mise en œuvre qu'après analyse complète de l'ensemble des résultats de la phase 1, à savoir les données sur les agents infectieux identifiés dans les huîtres initialement importées, ainsi que les résultats des tests de sensibilité in vitro. Elle ne pourrait être envisagée que si les huîtres étudiées en phase 1 répondaient aux deux critères :

- absence d'agents pathogènes exotiques (y compris génotypes exotiques d'OsHV-1) ;
- résistance significativement supérieure vis-à-vis des agents pathogènes testés.

Le Gecu recommande donc que cette phase 2 fasse l'objet d'une évaluation bénéfiques / risques spécifique, notamment au regard du risque sanitaire impliqué.

3. Conclusions et recommandations du Gecu

- Aucune donnée de nature épidémiologique, physiopathologique ou génétique, ne permet à l'heure actuelle d'étayer l'hypothèse selon laquelle les huîtres provenant du Japon présenteraient une sensibilité différente (a fortiori inférieure) au virus OsHV-1, à *Vibrio splendidus* ou à *V. aestuarianus*. Au vu des éléments bibliographiques recueillis, le Gecu estime très faible la probabilité que les huîtres *C. gigas* importées du Japon dans les conditions décrites par le protocole se révèlent globalement plus résistantes que les huîtres françaises à un ou plusieurs de ces agents pathogènes. **Les chances de succès du protocole proposé, au regard des objectifs affichés, sont donc très limitées.**

La probabilité de pouvoir identifier et sélectionner des individus présentant un phénotype résistant dans un échantillon suffisamment important d'huîtres japonaises pourrait être plus élevée, mais cette approche ne fait pas partie de la phase 1 du protocole. A cet égard, le Gecu recommande la poursuite des protocoles de sélection génétique mis en place en France, dont la probabilité de succès n'apparaît pas moindre, et qui ne présentent aucun risque sanitaire.

- *Le risque que les huîtres provenant du Japon soient contaminées par des agents pathogènes exotiques pour la France est élevé, et toute introduction d'huîtres vivantes sur le territoire français et européen doit donc être réalisée avec la plus grande prudence. Au regard de ce risque sanitaire, les garanties apportées par l'Ifremer apparaissent suffisantes pour prévenir la diffusion d'agents infectieux exotiques dans le milieu au cours de la phase 1 du protocole. **Le Gecu considère donc comme négligeable le risque sanitaire associé à la phase 1.** Le passage à une phase 2 (introduction d'huîtres du Japon à des fins de reproduction) ne devrait être décidé qu'à la lumière de tous les résultats obtenus en phase 1. **Le Gecu recommande donc vivement que la phase 2 fasse l'objet d'une nouvelle évaluation lorsque ces résultats seront disponibles.** »*

CONCLUSION

Tels sont les éléments d'analyse que l'Agence est en mesure de fournir en réponse à la saisine de la Direction générale de l'alimentation concernant une demande d'avis relatif à une évaluation des risques sanitaires liés à l'importation d'huîtres vivantes *Crassostrea gigas* du Japon à des fins expérimentales en milieu confiné.

Le directeur général

Marc MORTUREUX

MOTS-CLES

Mots clés : huîtres creuses, *Crassostrea gigas*, importation, Japon, surmortalité, OsHV-1, OsHV-1 μ var.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Boudry P., Dégrement L., Haffray P. (2008) The genetic basis of summer mortality in Pacific oyster spat and potential for improving survival by selective breeding in France. Summer mortality of Pacific oyster *Crassostrea gigas*, the Morest project. Éd. Ifremer/Quæ, 153–196.
- Dégrement L., Bédier E., Soletchnik P., Ropert M., Huvet A., Moal J., Samain J.P., Boudry P. (2005) Relative importance of family, site and field placement timing on survival, growth and yield of hatchery-produced Pacific oyster spat (*Crassostrea gigas*), *Aquaculture* **249**, 213–229.
- Elston R.A., Hasegawa H., Humphrey K.L., Polyak I.K., Häse C.C. (2008) Re-emergence of *Vibrio tubiashii* in bivalve shellfish aquaculture: severity, environmental drivers, geographic extent and management. *Dis Aquat Org* **82**, 119-134.
- Huvet A., Lapègue S., Magoulas A., Boudry P. (2000) Mitochondrial and nuclear DNA phylogeography of *Crassostrea angulata*, the Portuguese oyster endangered in Europe. *Conservation Genetics* **1**, 251-262.
- Moraga D., Osada M., Lucas A., Nomura T. (1989) Génétique biochimique de populations de *Crassostrea gigas* en France (côte atlantique) et au Japon (Miyagi). *Aquat Living Resour* **2**, 135-143.
- Moss J.A., Burreson E.M., Cordes J.F., Dungan C.F., Brown G.D., Wang A., Wu X., Reece K.S. (2007) Pathogens in *Crassostrea ariakensis* and other Asian oyster species : importations for non-native oyster introduction to Chesapeake Bay. *Dis Aquat Org* **77**, 207-223.
- Pépin J.F., Riou A., Renault T. (2008) Rapid and sensitive detection of ostreid herpesvirus 1 in oyster samples by realtime PCR. *J Vir Methods* **149**, 269-276.
- Renault T., Le Deuff R.M., Cochenec N., Maffart P. (1994) Herpesviruses associated with mortalities among Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in France, Comparative study. *Rev Méd Vét* **145**, 735-742.
- Samain J.F., Ropert M., Bedier E., Soletchnik P., Mazurié J., Le Coz F., Blin J.L., Costil K., Mille D., Trintignac P., Boudry P., Haffray P., Bacher C., Grangeré K., Pouvreau S., Bourles Y., Sylvand B., Misko P., Gohin F., Woerther P. (2008) A synthesis of the Morest program and recommendations for forecasting and managing oyster summer mortalities. In : Samain J.F. and McCombie H., Editors, *Summer mortality of Pacific oyster Crassostrea gigas, The Morest project*, Eds Quæ, Versailles, France, 307–348.
- Sauvage C., Pépin J.F., Lapègue S., Boudry P., Renault T. (2009) Ostreid herpes virus 1 infection in families of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, during a summer mortality outbreak : differences in viral DNA detection and quantification using real-time PCR. *Virus Res* **142**, 181-187.
- Sauvage C., Boudry P., de Koning D.J., Haley C.S., Heurtebise S., Lapègue S. (2010) QTL for resistance to summer mortality and OshV-1 load in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) *Anim Genet* **41**, 390-399.

ANNEXE

Liste des agents infectieux devant faire l'objet d'une recherche sur des échantillons d'huîtres creuses en provenance du Japon, selon le protocole proposé par l'Ifremer (cf. dossier Ifremer : « Demande de dérogation pour l'introduction d'huîtres creuses, *Crassostrea gigas*, vivantes en provenance du Japon pour tester en conditions expérimentales leur sensibilité à certains agents infectieux présents en France », 2010).

Agents infectieux recherchés	Types d'agents infectieux
<i>Bonamia ostreae</i>	Protozoaire
<i>Marteilia refringens</i>	Protozoaire
<i>Bonamia exitiosa</i>	Protozoaire
<i>Perkinsus marinus</i>	Protozoaire
<i>Perkinsus olseni</i>	Protozoaire
<i>Mikrocytos mackini</i>	Protozoaire
<i>Marteilioides chungmuensis</i>	Protozoaire
<i>Haplosporidium nelsoni</i>	Protozoaire
<i>Haplosporidium costale</i>	Protozoaire
Ostreid herpesvirus 1 (OsHV-1 dont μ var)	Virus
<i>Vibrio splendidus</i>	Bactérie
<i>Vibrio aestuarianus</i>	Bactérie
<i>Vibrio</i> sp.	Bactérie
<i>Nocardia crassostreae</i>	Bactérie