

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 28 juin 2011

# **AVIS**

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

relatif aux risques sanitaires liés à l'importation à des fins d'introduction dans le milieu naturel (chez des ostréiculteurs français) d'huîtres vivantes *Crassostrea gigas* en provenance du Japon

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont rendus publics.

#### 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 mercredi 9 mars 2011 par la Direction générale de l'alimentation (DGAI) d'une demande d'avis relatif aux risques sanitaires liés à l'importation à des fins d'introduction dans le milieu naturel (chez des ostréiculteurs français) d'huîtres vivantes *Crassostrea gigas* en provenance du Japon.

# **CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE**

L'introduction d'huîtres creuses *Crassostrea gigas* en provenance du Japon dans le but de sélectionner des souches résistantes à l'herpès virus OsHV-1 (Ostreid Herpesvirus type 1) est une des solutions envisagées pour tenter de pallier le phénomène de surmortalité observé en France depuis 2008, affectant essentiellement le naissain des huîtres *Crassostrea gigas*.

La feuille de route de ce projet, transmise à l'Anses en août 2010, comportait :

- une première phase conduite à l'Ifremer, avec deux étapes pouvant être réalisées simultanément (cf. avis de l'Anses du 27 septembre 2010) :
  - a) 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 et sacrifiées à leur arrivée, notamment du virus OsHV-1, de bactéries du genre Vibrio (V. splendidus, V. aestuarianus), de Nocardia crassostreae et de plusieurs protozoaires parasites;
  - b) la réalisation dans une installation expérimentale de tests de sensibilité de naissain japonais (500 individus) aux principaux agents infectieux présents en France : OsHV-1, V. splendidus, V. aestuarianus;

- une deuxième phase, devant être mise en œuvre si, et seulement si, les résultats de la première phase étaient satisfaisants. Il était prévu d'introduire dans des installations de quarantaine environ 5 000 huîtres adultes en provenance du Japon, 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.

La DGAI a saisi l'Anses en août 2010 d'une demande d'évaluation des risques sanitaires liés à la première phase de ce projet, étape b) : importation d'huîtres vivantes *Crassostrea gigas* du Japon à des fins expérimentales en milieu confiné. La saisine était accompagnée du protocole précisant les modalités de cette phase expérimentale, préparé par l'Ifremer en août 2010 en collaboration avec le Comité national de la conchyliculture (CNC). L'avis rendu par l'Anses le 27 septembre 2010 indiquait :

- « 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 » ;
- que le risque sanitaire associé à la phase 1 pouvait être considéré comme « négligeable », compte tenu des garanties apportées par l'Ifremer en matière de prévention du risque de diffusion dans le milieu naturel d'agents pathogènes exotiques pour la France, qui seraient éventuellement contenus dans les huîtres importées du Japon;
- « 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 » et après une nouvelle évaluation de risque conduite par l'Anses.

Le Japon n'est pas autorisé à exporter des mollusques bivalves pour l'élevage en Europe, mais une autorisation exceptionnelle d'importation à des fins de recherche a été obtenue auprès de la Commission européenne le 15 septembre 2010. Quatre lots d'huîtres du Japon ont été reçus au Laboratoire de Génétique et de Pathologie (Ifremer – La Tremblade) entre le 11 octobre 2010 et le 25 février 2011. Ces huîtres ont été soumises à des analyses visant, d'une part, à identifier à quelle espèce elles appartiennent et, d'autre part, à rechercher la présence d'agents infectieux notamment exotiques. Par ailleurs, ont été réalisés des essais de caractérisation de la sensibilité du naissain importé au virus OsHV-1 µvar (microvar) et aux bactéries *V. splendidus* et *V. aestuarianus*. Un rapport de synthèse de ces analyses a été réalisé en mai 2011.

La saisine de la DGAI du 9 mars 2011 précise : « considérant la gravité de la situation de la filière conchylicole, le CNC souhaite modifier substantiellement [la phase 2 de la feuille de route initiale] et obtenir de la Commission européenne une dérogation pour importer et introduire directement dans le milieu naturel des huîtres adultes et/ou du naissain en provenance du Japon ».

L'Anses est sollicitée :

- pour une « évaluation des risques sanitaires liés à l'importation à des fins d'introduction dans le milieu naturel (chez des ostréiculteurs français) d'huîtres vivantes Crassostrea gigas du Japon au regard des résultats des expérimentations réalisées par l'Ifremer pendant la phase n°1 de la feuille de route » (le rapport de synthèse a été transmis par la DGAI à l'Anses le 19 mai 2011) ;
- « dans le cas où les garanties sanitaires ne seraient pas jugées suffisantes », pour préciser les « mesures qui sembleraient appropriées pour atteindre le niveau de protection sanitaire adéquat ».

#### **ORGANISATION DE L'EXPERTISE**

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise collective a été réalisée par le groupe d'expertise collective d'urgence « Importation d'huîtres du Japon » qui s'est réuni le 6 juin 2011. 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 25 juin 2011.

L'expertise a été conduite sur la base :

- de la lettre de saisine de la DGAI en date du 9 mars 2011 ;
- des rapports de l'Ifremer sur les analyses et essais expérimentaux réalisés sur les huîtres importées du Japon entre octobre 2010 et février 2011 : version intermédiaire transmise en accompagnement de la saisine ; version finale transmise par la DGAI le 19 mai 2011 ;
- des documents attachés à la saisine n 2010-SA-0200 :
  - o dossier préparé par l'Ifremer en août 2010 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 », dont l'annexe préparée par le CNC « dossier réunissant des informations sur l'ostréiculture au Japon et sur l'identification de secteurs d'intérêt » :
  - feuille de route DGAl 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 par téléphone d'un scientifique du Laboratoire de Génétique et de Pathologie (Ifremer La Tremblade), au cours de la réunion du Gecu du 6 juin 2011 ;
- de l'avis de l'Anses n°2010-SA-0200 du 27 septembre 2010 relatif à une demande d'évaluation des risques sanitaires liés à l'importation d'huîtres vivantes Crassostrea gigas du Japon;
- de l'avis de l'Anses n°2010-SA-0287 du 8 juin 2011 relatif à une évaluation du risque zoosanitaire de la nocardiose à *Nocardia crassostreae* chez les coquillages marins ;
- de la bibliographie citée en fin d'avis.

#### **ANALYSE ET CONCLUSIONS DU GECU**

L'argumentaire de l'Anses est fondé sur le rapport 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 les modifications envisagées pour la feuille de route du projet d'importation d'huîtres creuses vivantes depuis le Japon.

La feuille de route initiale prévoyait la mise en œuvre de la phase de reproduction d'huîtres importées du Japon (phase 2) uniquement si les deux conditions suivantes étaient réunies (cf. saisine n°2010-SA-0200 du 21 juillet 2010) :

- « absence de détection d'agents infectieux ciblés » ;
- « constat d'un taux de mortalité inférieur à celui des souches françaises en conditions expérimentales ».

Le courrier de saisine de juillet 2010 indiquait que si l'une de ces conditions n'était pas remplie, il serait décidé de « l'abandon de la piste japonaise ».

L'avis de l'Anses du 27 septembre 2010 stipulait que la phase 2 « 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 ».

Il indiquait que, dans le cas où le passage à la phase 2 serait décidé, la phase de reproduction devrait être réalisée dans des installations de quarantaine, c'est-à-dire en milieu fermé. A partir des huîtres importées - environ 5 000 adultes - une nouvelle génération d'animaux (F1) seraient alors produits en vue de leur introduction dans le milieu naturel. Le protocole Ifremer (août 2010)

prévoyait que « les animaux introduits ayant servi de géniteurs seraient sacrifiés et éliminés. Des tests sur le terrain des animaux de première génération (si la recherche d'agents infectieux le permet) après autorisation des autorités compétentes seraient effectués en suivant certains caractères (croissance, survie, reproduction et sensibilité à certains agents infectieux). La recherche d'agents infectieux avant testage sur le terrain serait réalisée. Enfin, la production d'une seconde génération pourrait être effectuée avec le concours des écloseries commerciales en prenant garde à la mise en place d'une base génétique large ».

Ainsi, dans la feuille de route initiale, l'introduction dans le milieu naturel était prévue :

- uniquement après reproduction en conditions de quarantaine et obtention de résultats favorables aux analyses de recherche d'agents infectieux ;
- seulement pour les descendants des huîtres importées du Japon.

Sans préjuger du protocole qui serait adopté pour la phase 2, le Gecu a considéré que la feuille de route initialement proposée permettait d'assurer une maîtrise du risque sanitaire lié aux huîtres importées du Japon, notamment grâce :

- à la succession d'analyses visant à rechercher les agents infectieux éventuellement présents dans les huîtres importées ;
- au maintien des huîtres importées en milieu clos dans les premières étapes ;
- à la possibilité d'interrompre le processus en cas d'obtention de résultats défavorables.

Les modifications évoquées dans le courrier de saisine du 9 mars 2011 conduiraient à l'introduction directe des huîtres importées du Japon (adultes et/ou naissain) dans le milieu naturel français, sans quarantaine préalable, ni obtention de résultats favorables aux analyses de recherche d'agents infectieux. Au regard du risque non négligeable d'introduction, de persistance et de diffusion dans le milieu naturel d'agents pathogènes notamment exotiques, le Gecu recommande, pour tout projet d'importation d'huîtres en France, de s'en tenir au principe d'une importation en deux temps tel qu'énoncé dans la saisine d'août 2010 et validé par l'Anses.

<u>1. Question 1 :</u> « Evaluation des risques sanitaires liés à l'importation à des fins d'introduction dans le milieu naturel (chez des ostréiculteurs français) d'huîtres vivantes *Crassostrea gigas* du Japon, au regard des résultats des expérimentations réalisées par l'Ifremer pendant la phase n°1 de la feuille de route »

# 1.1. Résultats des analyses et essais expérimentaux réalisés par l'Ifremer à partir des huîtres importées du Japon

Le Gecu rappelle que les lots d'huîtres creuses Crassostrea gigas étudiées par l'Ifremer entre octobre 2010 et mars 2011 ont été importés depuis la préfecture japonaise de Sendai, secteur de Miyagi. Le dossier de l'Ifremer d'août 2010 précise que cette région a été retenue parmi les quatre secteurs d'intérêt proposés par le CNC, car les analyses visant à détecter le parasite Marteilioïdes chungmuensis (exotique pour la France) n'y ont pas révélé sa présence, au contraire des autres zones où il a été recherché. Toutefois, le dossier de l'Ifremer précisait que « l'effort réalisé en terme analytique dans ce secteur ne permet pas de garantir qu'il soit indemne ». Plus généralement, le dossier indiquait que les « informations disponibles en termes de maladies infectieuses affectant les huîtres 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 ».

Trois types d'analyses ont été réalisés sur les lots d'huîtres importés : identification de l'espèce des huîtres importées, recherche d'agents pathogènes, étude de la sensibilité du naissain japonais au virus OsHV-1 µvar et aux bactéries Vibrio splendidus et V. aestuarianus.

# 1.1.1. Identification de l'espèce des huîtres importées

Le rapport de synthèse de l'Ifremer indique que « les homologies observées entre les séquences obtenues pour 150 naissains et 150 huîtres adultes provenant du Japon et celles disponibles dans GenBank pour *C. gigas* et *C. nippona* amènent à conclure que l'ensemble des individus analysés appartient à l'espèce *C. gigas* ».

# 1.1.2. Recherche d'agents infectieux

- Le rapport de synthèse de l'Ifremer relève la **présence de plusieurs espèces d'agents pathogènes** chez les huîtres provenant du Japon :

#### o Virus OsHV-1

De l'ADN du virus OsHV-1 a été mis en évidence en faible quantité (entre 2 et 300 copies d'ADN viral par ng d'ADN total) par PCR en temps réel chez le naissain (19 sur 150 individus analysés, soit plus de 12%) et chez les adultes (8 sur 150 individus analysés, soit près de 6%).

Le séquençage partiel du génome viral chez un individu parmi le naissain ayant donné un résultat positif en PCR, et la PCR nichée réalisée chez les adultes, suggèrent l'infection par un virus très proche du variant µvar. Le séquençage partiel de l'ORF4 a cependant mis en évidence des différences génétiques (quatre substitutions dans la partie de l'ORF4 séquencée) par rapport au virus OsHV-1 µvar.

Le scientifique de l'Ifremer auditionné par le Gecu a indiqué que des études sont actuellement en cours afin de caractériser le virus japonais et de le comparer aux autres herpès virus de l'huître, notamment le virus OsHV-1 présent en Europe avant l'apparition du μναr.

#### o Nocardia spp.

Des bactéries du genre Nocardia ont été mises en évidence chez quatre huîtres adultes (sur les 150 individus analysés), par des analyses histologiques et de biologie moléculaire. Le séquençage de produits de PCR a montré une très forte homologie (99% d'identité sur 176 nucléotides) avec une séquence de Nocardia crassostreae disponible dans la banque génomique GenBank. Cette espèce est la seule espèce de Nocardia identifiée chez l'huître creuse à ce jour. La présence de bactéries de l'espèce N. crassostreae dans certaines des huîtres du Japon importées est donc très probable. Cette bactérie n'a encore jamais été identifiée en France, bien que recherchée lors d'épisodes de surmortalité (cf. avis de l'Anses n °2010-SA-0287).

#### o Haplosporidium

Des parasites du genre Haplosporidium (protozoaires) ont été mis en évidence par analyses histologiques chez trois des 150 individus analysés (naissain). La détermination de l'espèce, qui n'a pas pu être réalisée compte tenu des faibles niveaux d'infection, serait importante au regard du caractère exotique des espèces d'Haplosporidium autres que H. nelsoni, seule espèce identifiée en France à ce jour. H. costale, notamment, a été rapportée aux USA et en Asie, mais n'a jamais été identifiée en France.

#### Coccidies

Des parasites de type coccidien ont été identifiés par analyses histologiques chez plus de 76% des sujets du naissain importé. Le rapport de l'Ifremer précise que ces protozoaires ne sont que très rarement détectés chez l'huître creuse en France (prévalence de 0,02%). Le Gecu s'est interrogé sur la signification biologique du taux d'infestation très élevé dans les lots d'huîtres importés du Japon. Le pouvoir pathogène intrinsèque de ces agents n'a fait l'objet d'aucune étude et n'est donc pas confirmé ; une prévalence aussi élevée est néanmoins préoccupante car elle pourrait refléter un état de santé altéré des huîtres.

# o Vibrio splendidus et V. aestuarianus

A partir de broyats de tissus de naissain (30 individus) et d'adultes (40 individus), 18 et 21 souches de Vibrio splendidus ont été respectivement isolées, confirmant la détection par PCR de cette espèce bactérienne sur la quasi-totalité des individus testés (149 et 145 respectivement, sur les 150 individus analysés dans chaque catégorie d'âge). Vibrio aestuarianus n'a pas pu être isolé, mais le génome de cette espèce a été mis en évidence par PCR en temps réel à partir de fragments de manteau chez respectivement 15 et 26 individus des deux catégories d'âge.

Il apparaît donc que ces espèces bactériennes, notamment V. splendidus, sont probablement très répandues chez les huîtres au Japon, comme elles le sont sur le littoral français.

- Pour d'autres agents pathogènes, les **résultats ont été négatifs** ou la **conclusion n'a pas été possible**.

#### o Marteilioïdes chungmuensis

Ce protozoaire parasite, responsable de la dominante pathologique chez l'huître au Japon, se multiplie dans les ovocytes et affecte la reproduction. Il n'a pas pu être recherché dans les lots d'huîtres importées du Japon car ces huîtres n'étaient pas sexuellement mâtures, du fait de la période de prélèvement, et aucun gamète n'a pu être analysé. Par conséquent, il n'est pas possible de conclure quant à la présence éventuelle de ce parasite dans le secteur d'élevage des huîtres prélevées pour l'exportation vers la France.

#### Mikrocytos

Aucun signal traduisant la présence de parasites appartenant à ce genre n'a été détecté par PCR chez le naissain (n=150) comme chez les adultes (n=150).

#### Perkinsus

Les essais de mise en culture de ce type d'agent (sur milieu au thioglycolate) suivie de PCR, à partir de naissain (n=150) ou d'adultes (n=150), ont donné des résultats négatifs.

**En conclusion**, plusieurs agents pathogènes ont été identifiés dans les lots d'huîtres importées du Japon, dont certains sont très probablement exotiques pour la France, tels que les bactéries du genre **Nocardia**, mises en évidence chez des huîtres adultes, et un virus **OsHV-1** de génotype proche mais non identique au génotype μναr, qui a été détecté à bas bruit chez des huîtres apparemment saines, adultes et naissain.

L'impossibilité de conclure à l'absence de M. chungmuensis est un élément à prendre en considération.

Comme discuté dans l'avis de l'Anses du 27 septembre 2010 (n°2010-SA-0200), la présence de ces agents exotiques, notamment d'un variant encore mal caractérisé du virus OsHV-1, susceptible (comme les autres herpès virus de l'huître) de se transmettre de façon verticale, constitue à elle seule une raison suffisante pour ne pas introduire en France des huîtres destinées à se reproduire et dont la descendance serait placée en milieu naturel. A fortiori, l'introduction directe de ces huîtres dans le milieu naturel, tel que prévu par le changement de protocole, est à proscrire.

# 1.1.3. Sensibilité du naissain au virus OsHV-1 µvar

Trois infections expérimentales par le virus OsHV-1 µvar ont été réalisées, sur deux lots de naissains importés en octobre 2010 (un lot, un essai) et février 2011 (un lot, deux essais). Dans les trois essais, la mortalité du naissain japonais a été mesurée en présence et en absence d'OsHV-1 µvar (par cohabitation avec des huîtres infectées ou saines), et elle a été comparée à la mortalité de naissain français sain soumis à la même infection.

- Dans le premier essai (octobre 2010), le naissain japonais a présenté une certaine sensibilité au virus OsHV-1 μvar (taux de mortalité de 7% à J10, n = 290). Le naissain français, capté à Marennes-Oléron à la fin de l'été 2010, n'a pas montré de mortalité après infection par cohabitation. Le secteur d'origine de ce naissain ayant subi de fortes mortalités au cours de l'été, les individus captés pour l'essai peuvent être considérés comme des survivants de cet épisode. Le rapport de l'Ifremer indique qu'ils pourraient, à ce titre, présenter une certaine résistance à l'infection virale.
  - On doit aussi relever que l'absence de résultats de PCR à J0 dans cet essai ne permet pas d'évaluer l'état infectieux initial vis-à-vis du virus OsHV-1; il est possible que le naissain japonais et le naissain français différaient à cet égard.
- Les deux essais réalisés en mars 2011 (essai A et essai B) ont mis en évidence des comportements différents, d'une part, au sein du naissain japonais entre l'essai A et l'essai B et, d'autre part, entre le naissain japonais et le naissain français originaire de Fouras.

- Dans l'essai A, le naissain japonais a subi une mortalité significativement plus importante dans le lot infecté que dans le lot témoin (6,6% vs 2%) (ce qui est cohérent avec le résultat de l'essai d'octobre 2010). Dans l'essai B, en revanche, le naissain japonais n'a pas subi de mortalité à la suite de l'infection (respectivement 1,3% et 2,1% dans le lot infecté et le lot témoin).
- Dans ces essais A et B, le naissain japonais s'est montré significativement plus résistant que le naissain français à l'infection par le virus OsHV-1 μvar. Les taux de mortalité du naissain français en condition d'infection étaient de 36,6% dans l'essai A et de 38,7% dans l'essai B, à comparer respectivement aux taux de mortalité de 6,6% et 1,3% observés dans les mêmes conditions pour le naissain japonais. Dans les essais A et B, la PCR réalisée avant l'infection expérimentale avait mis en

Dans les essais A et B, la PCR réalisée avant l'infection expérimentale avait mis en évidence le génome de l'OsHV-1 chez 7% du naissain japonais (deux individus sur 30 testés), alors que le naissain français fournissait un résultat négatif (n = 30). La plus grande résistance du naissain japonais observée dans les essais A et B n'est donc pas nécessairement d'origine génétique (résistance innée); elle pourrait résulter de l'infection préexistante de ces huîtres par une souche japonaise d'OsHV-1, qui serait susceptible de prévenir ou de limiter leur infection ultérieure par le µvar, alors que le naissain français était probablement dépourvu d'infection par l'herpès virus.

En conclusion, les essais réalisés à l'Ifremer ont mis en évidence, dans certaines conditions, une sensibilité à l'OsHV-1 μvar des huîtres japonaises importées. Si cette sensibilité est apparue globalement moindre que celle du naissain français dans deux des trois essais réalisés, il n'est pas possible de conclure de façon univoque à une plus grande résistance du naissain importé du Japon au virus OsHV-1 μvar, et encore moins à l'origine génétique d'une telle résistance.

# 1.1.4. Sensibilité du naissain aux bactéries Vibrio splendidus et V. aestuarianus

La sensibilité à l'infection expérimentale par V. splendidus ou V. aestuarianus a été comparée chez le naissain importé du Japon et chez du naissain français originaire de Fouras. Pour les huîtres provenant du Japon, il n'a pas été observé de différence significative de mortalité qui serait expliquée par la mise en cohabitation avec des individus infectés par les vibrions pathogènes. Pour les huîtres de Fouras, le taux de mortalité était paradoxalement plus faible en condition de cohabitation avec des animaux infectés (4,8%) que chez les témoins (13,3%). En conclusion, ces expériences n'ont pas permis de confirmer le pouvoir pathogène intrinsèque des bactéries du genre Vibrio, ni d'évoquer la possibilité d'une sensibilité différente à ces agents selon l'origine des huîtres.

# 1.2. Risques sanitaires liés à l'introduction d'huîtres du Japon dans le milieu naturel français

Le Gecu rappelle que le statut sanitaire de la région à partir de laquelle les huîtres ont été importées au Laboratoire de Génétique et de Pathologie - le secteur de Miyagi - n'est pas connu. Il n'existe pas au Japon de système centralisé de surveillance des maladies affectant les mollusques marins (cf. supra) ni de système de qualification des zones de production. Aucune garantie quant à la qualité sanitaire des huîtres importées n'a donc pu être apportée avant la réalisation des analyses à La Tremblade.

Les analyses conduites à l'Ifremer démontrent que les huîtres qui ont été importées du Japon sont porteuses de plusieurs agents pathogènes, dont certains sont exotiques pour la France. Dans la mesure où les huîtres qui seraient importées pour être placées en milieu naturel proviendraient de la même zone de production (secteur de Miyagi) que les lots reçus à la Tremblade ces derniers mois, le Gecu estime que ces nouvelles importations n'offriraient pas de garanties sanitaires suffisantes. Il a par ailleurs souligné que la région de Miyagi appartenant aux zones les plus violemment touchées par le séisme et le tsunami qui ont frappé le nord-est du Japon le 11 mars 2011, il est peu probable que des parcs à huîtres aient été préservés, et on ne peut exclure que certains parcs aient été exposés à la radioactivité présente dans l'eau de mer à proximité de la centrale nucléaire de Fukushima.

En résumé, le Gecu estime que l'importation à des fins d'introduction dans le milieu naturel d'huîtres vivantes Crassostrea gigas en provenance du Japon, en particulier de la région de Miyagi, n'offre pas de garanties sanitaires suffisantes, et ne présente pas un intérêt évident au regard d'une possible résistance génétique.

Ainsi, le Gecu recommande de ne pas enclencher la phase 2 de la feuille de route initialement proposée, c'est-à-dire l'importation d'huîtres adultes du Japon à des fins de reproduction en station de quarantaine, et a fortiori le Gecu recommande vivement de ne pas enclencher la phase 2 révisée, qui consisterait à placer les huîtres importées du Japon en France directement dans le milieu naturel.

# Question 2 : Mesures à mettre en œuvre « pour atteindre le niveau de protection sanitaire adéquat »

**Pour les huîtres du secteur de Miyagi**, compte tenu des résultats des analyses réalisées par l'Ifremer sur les individus importés ces derniers mois, le Gecu estime qu'à ce jour aucune mesure ne permettrait d'améliorer significativement l'état sanitaire des huîtres ni d'obtenir des garanties suffisantes pour envisager le démarrage de la phase de reproduction, en milieu confiné et a fortiori dans le milieu naturel.

Pour l'importation en France d'huîtres provenant d'une autre zone de production japonaise, voire d'un autre pays, le Gecu estime que les mesures permettant d'atteindre un « niveau de protection sanitaire adéquat » sont celles correspondant à une démarche en deux temps telle qu'énoncée dans la saisine d'août 2010 et validée par l'Anses :

- phase 1 : en milieu confiné, réalisation sur les huîtres importées d'analyses visant la recherche d'agents infectieux ainsi que de tests de sensibilité au virus OsHV-1 μvar ;
- phase 2, conditionnée à l'obtention de résultats satisfaisants lors de la première étape : importation d'huîtres à des fins de reproduction en station de quarantaine. L'introduction de ces huîtres ou de leur descendance dans le milieu naturel ne pourrait se faire qu'après obtention de nouvelles garanties sanitaires.

Si le gestionnaire souhaite obtenir un niveau de protection sanitaire optimal, il serait nécessaire de n'envisager l'importation d'huîtres qu'à partir de zones présentant certaines garanties sanitaires, et le cas échéant, de vérifier au cours de la phase 1 (et au début de la phase 2) qu'elles sont indemnes d'agents pathogènes exotiques pour la France. Le caractère « indemne » semble difficile à assurer en raison des limites de sensibilité des techniques de détection. A défaut d'une telle certitude, la phase 2 (de reproduction) devrait a minima être conditionnée à l'obtention de résultats négatifs aux tests de recherche de Nocardia crassostreae, OsHV-1, Marteilioïdes chungmuensis, des protozoaires des genres Perkinsus, Mikrocytos et Haplosporidium, et de tout autre agent susceptible d'être présent dans la zone de collecte des huîtres destinées à l'exportation et qui serait exotique pour la France. Comme indiqué dans l'avis du 27 septembre 2010, si le Gecu n'a pas jugé nécessaire de conditionner la réalisation des tests de sensibilité au virus OsHV-1 μvar à l'absence de détection d'agents infectieux, 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 ».

Le Gecu rappelle par ailleurs la probabilité sans doute faible que des huîtres provenant d'une zone indemne d'OsHV-1 puissent être génétiquement résistantes à l'OsHV-1. En effet, la résistance génétique aux maladies animales résulte le plus souvent de la pression de sélection exercée par les agents pathogènes responsables de ces maladies sur des populations animales pendant un grand nombre de générations.

Si le gestionnaire accepte un niveau de risque sanitaire plus élevé vis-à-vis du virus OsHV-1, il pourrait être envisagé d'engager la phase 2 de reproduction pour des huîtres importées qui ne seraient pas indemnes d'herpès virus, si les analyses étaient favorables pour tous les autres

agents pathogènes recherchés, notamment exotiques, et sous certaines conditions au regard du virus OsHV-1 présent chez les huîtres importées.

- Cette possibilité pourrait être envisagée si le virus importé s'avérait strictement identique à un virus déjà présent en France (notamment OsHV-1 μναr). Compte-tenu de son pouvoir pathogène pour le naissain, la présence d'OsH-V1 μναr chez du naissain importé apparemment sain pourrait d'ailleurs signifier un certain degré de résistance de ce naissain.
- Cette possibilité pourrait également être considérée si les huîtres étaient porteuses asymptomatiques d'un herpès virus différent de l'OsH-V1 sévissant en France, à condition que le virus « exotique » soit moins pathogène que le(s) virus présent(s) en France. Il apparaît très difficile de comparer la résistance innée vis-à-vis de l'OsHV-1 μvar chez des huîtres françaises et des huîtres importées si ces dernières sont déjà porteuses d'un herpès virus, car il existe alors un historique d'infections naturelles inconnu et différent dans les deux groupes d'huîtres. Pour pallier cette situation, il pourrait être proposé, préalablement aux tests de sensibilité comparée à l'OsHV-1 μvar, de réaliser une phase de cohabitation entre huîtres importées et huîtres françaises saines. Cette cohabitation permettrait d'une part, d'évaluer le pouvoir pathogène du virus exotique pour les huîtres françaises, et d'autre part, de créer un historique infectieux équivalent dans les deux groupes d'huîtres, condition indispensable à la réalisation ultérieure d'une infection expérimentale par l'OsHV-1 μvar.

Quels que soient la démarche retenue et le pays d'origine choisi pour l'importation d'huîtres vivantes, le Gecu recommande que **le statut sanitaire de la zone d'origine** puisse être apprécié avec un degré de précision relativement élevé. Les garanties sanitaires devraient être apportées par le pays exportateur, au moyen de contrôles et d'analyses réalisés de manière répétée dans les zones de production, assortis si possible d'une qualification. Les contrôles réalisés dans la zone d'origine ne permettraient pas pour autant de s'affranchir de la réalisation d'analyses au moment de la réception des huîtres en France : recherche d'agents pathogènes et tests de sensibilité au virus OsHV-1 µvar, conduits en station de quarantaine. Le Gecu souligne que ces conditions ne sont pas remplies au Japon à l'heure actuelle.

D'une manière générale, le Gecu attire l'attention sur les risques sanitaires liés à toute introduction d'huîtres vivantes, et rappelle ses réserves quant à l'intérêt d'importer des souches d'huîtres 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 ». En revanche, « le Gecu reconnaît la validité de l'approche génétique pour lutter contre les surmortalités estivales de C. gigas » (cf. avis n°2010-SA-0200 du 27 septembre 2010) et recommande la poursuite des travaux de recherche et de sélection génétique d'huîtres résistantes au phénomène de surmortalité, menés en France notamment dans la ligne développée par le programme MOREST, ainsi que la mise en place de programmes de sélection sur la résistance au virus OsHV-1 μvar.

Au vu des résultats obtenus par l'Ifremer sur les huîtres importées du Japon, et discutées cidessus, le Gecu a évoqué des **axes de recherche** qui pourraient être poursuivis à partir de ces observations. Au delà des recherches très en amont sur l'« immunité » des mollusques et sur les relations hôtes-pathogènes appliquées aux herpès virus de l'huître, qui devraient être encouragées, des travaux plus spécifiques sur l'herpès virus identifié dans les lots d'huîtres importées du Japon, apparaissent souhaitables :

- Les travaux initiés par l'Ifremer visant sa caractérisation génétique à des fins de comparaison avec les autres herpès virus connus chez l'huître, devraient être poursuivis ;
- Sa virulence et son pouvoir pathogène devraient être caractérisés. S'il était confirmé que ce virus a un pouvoir pathogène intrinsèque plus faible que l'OsHV-1 μναr, notamment s'il peut faire l'objet d'un portage asymptomatique par du naissain, il serait intéressant d'étudier au plan expérimental l'hypothèse selon laquelle une infection préalable du naissain par ce virus serait capable de prévenir partiellement ou totalement une infection ultérieure par un herpès virus plus pathogène. Cette stratégie axée sur l'exploitation d'une possible résistance « acquise » (qui reste à démontrer formellement chez l'huître) constituerait une voie de

recherche alternative ou complémentaire à l'exploitation d'une résistance génétique. Elle n'est peut-être pas à négliger dans le contexte actuel, mais comme toute stratégie anti-infectieuse novatrice, elle nécessiterait des travaux expérimentaux longs et lourds avant de trouver une éventuelle application.

# Conclusions et recommandations du Gecu :

Les modifications proposées dans le courrier de saisine du 9 mars 2011 conduiraient à l'introduction directe des huîtres importées du Japon (adultes et/ou naissain) dans le milieu naturel français, sans quarantaine préalable, ni obtention de résultats favorables aux analyses de recherche d'agents infectieux. Au regard du risque non négligeable d'introduction, de persistance et de diffusion dans le milieu naturel d'agents pathogènes notamment exotiques, le Gecu recommande, pour tout projet d'importation d'huîtres en France, de s'en tenir au principe d'une importation en deux temps tel qu'énoncé dans la saisine d'août 2010 et validé par l'Anses.

# Question 1 : « Evaluation des risques sanitaires liés à l'importation à des fins d'introduction dans le milieu naturel (chez des ostréiculteurs français) d'huîtres vivantes Crassostrea gigas du Japon »

Les analyses conduites à l'Ifremer démontrent que les huîtres qui ont été importées du Japon sont porteuses de plusieurs agents pathogènes, dont certains sont très probablement exotiques pour la France, tels que les bactéries du genre Nocardia, et un virus OsHV-1 de génotype proche mais non identique au génotype µvar. Il est par ailleurs impossible de conclure à l'absence de Marteilioïdes chungmuensis, agent pathogène à déclaration obligatoire. Par ailleurs, les résultats des tests de sensibilité ne confortent pas à l'heure actuelle l'hypothèse de l'existence d'une résistance génétique au virus OsHV-1 chez les huîtres japonaises.

Pour ces raisons, et dans la mesure où les huîtres qui seraient importées pour être placées en milieu naturel proviendraient de la même zone de production (secteur de Miyagi) que les lots reçus à la Tremblade ces derniers mois, le Gecu estime que ces nouvelles importations n'offriraient pas de garanties sanitaires suffisantes et ne présenteraient pas un intérêt évident au regard d'une possible résistance génétique.

Ainsi, le Gecu recommande de ne pas enclencher la phase 2 de la feuille de route initialement proposée, c'est-à-dire l'importation d'huîtres adultes du Japon à des fins de reproduction en station de quarantaine, et a fortiori le Gecu recommande vivement de ne pas enclencher la phase 2 révisée, qui consisterait à placer les huîtres importées du Japon en France directement dans le milieu naturel.

# Question 2 : Mesures à mettre en œuvre « pour atteindre le niveau de protection sanitaire adéquat »

L'obtention d'un niveau de protection sanitaire adéquat est jugée difficile; aucune mesure n'a pu être identifiée qui soit susceptible d'améliorer l'état sanitaire des huîtres du secteur de Miyagi (Japon) et qui permettrait d'envisager leur introduction en France. S'agissant d'huîtres qui proviendraient d'une autre zone de production, le Gecu recommande de s'en tenir au principe d'une importation en deux temps. Les huîtres devraient dans la mesure du possible être collectées dans des zones de statut sanitaire connu, et les analyses réalisées en phase 1 devraient s'attacher à rechercher tous les agents pathogènes potentiellement présents dans la zone d'origine, notamment ceux qui seraient exotiques pour la France.

Deux scénarios sont proposés, selon le niveau de risque accepté par le gestionnaire au regard de l'OSHV-1. Des huîtres ayant fourni des résultats négatifs à tous les tests de diagnostic, notamment la recherche de virus OsHV-1, offrent les garanties sanitaires optimales ; il pourrait cependant être envisagé, dans certaines conditions, de mettre en œuvre la phase 2 pour des huîtres exemptes d'agents pathogènes exotiques mais qui ne seraient pas indemnes d'OsHV-1.

Compte tenu des difficultés liées à l'importation d'huîtres à partir de zones susceptibles d'héberger des agents pathogènes exotiques pour la France, et de celles liées à l'évaluation de leur résistance à l'OsHV1-µvar, des recommandations sont émises en faveur d'autres solutions ».

#### CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

Au regard du risque non négligeable d'introduction, de persistance et de diffusion dans le milieu naturel d'agents pathogènes notamment exotiques, l'Anses recommande, pour tout projet d'importation d'huîtres en France, de s'en tenir au principe d'une importation en deux temps tel qu'énoncé dans la saisine d'août 2010 et validé dans l'avis du 27 septembre 2010 (n°2010-SA-0200).

Compte tenu des résultats des analyses réalisées par l'Ifremer sur lots reçus à la Tremblade entre octobre 2010 et février 2011, l'Anses recommande de ne pas importer d'huîtres vivantes en provenance du secteur de Miyagi (Japon) à des fins d'introduction dans le milieu naturel.

L'obtention d'un niveau de protection sanitaire adéquat est jugée difficile ; aucune mesure n'a pu être identifiée qui soit susceptible d'améliorer l'état sanitaire des huîtres du secteur de Miyagi et qui permettrait d'envisager leur introduction en France.

Compte tenu des difficultés liées à l'importation d'huîtres à partir de zones susceptibles d'héberger des agents pathogènes exotiques pour la France, et de celles liées à l'évaluation de leur résistance à l'OsHV1-µvar, des recommandations sont émises dans l'argumentaire en faveur d'autres solutions.

Le directeur général

**Marc MORTUREUX** 

## **MOTS-CLES**

Mots clés : huîtres creuses, *Crassostrea gigas*, importation, Japon, surmortalité, OsHV-1, OsHV-1 μναr, *Nocardia crassostreae*.