



## Réseau sentinelle des centres techniques

### Partenaires

#### professionnels



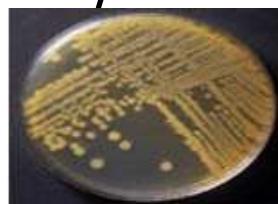
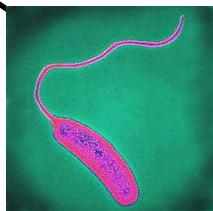
#### Partenaires financiers



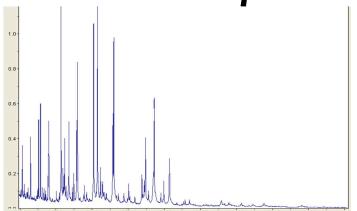
#### Partenaire scientifique



# Etude de la flore vibronaceae des huîtres par spectrométrie de masse MALDI-TOF



Suivi de l'année 2014



Novembre 2015



<b>Diffusion :</b>	libre	restreinte	interdite
<b>Version du document :</b>	définitive		
<b>Date de publication :</b>	novembre 2015		
<b>Nombre de pages :</b>	160		
<b>Bibliographie :</b>	oui	non	
<b>Illustration(s) :</b>	oui	non	

### **Titre du rapport :**

## **Etude de la flore vibriionaceae des huîtres par spectrométrie de masse MALDI-TOF**

### **Auteurs :**



**BLIN Jean-Louis, ZAAMOUN Marouane (stage M1MAAS) :**  
SMEL, Synergie Mer Et Littoral, 50 560 Blainville sur mer



**BOUQUET Anne-Lise :**  
CREAA, Centre Régional d'Expérimentation et d'Application Aquacole, 17 480 Le Château d'Oléron



**GERVASONI Erika :**  
CEPRALMAR, Centre d'Etudes pour la Promotion des Activites LAgunaires et MARitimes, 34 000 Montpellier



**GLIZE Philippe :**  
SMIDAP, Syndicat Mixte pour le Développement de l'Aquaculture et de la Pêche en Pays de la Loire, 44 200 Nantes



**BENOIT Fabienne, ESPERET Delphine, CAUVIN Elodie, CALLU Nadia :**  
LABEO Manche, 50 000 Saint Lô.

## Convention(s) :

Convention cadre, Partenariat de coopération entre centres techniques, 30 mars 2012.

Convention de propriété intellectuelle des résultats acquis par les centres techniques et le laboratoire LABEO Manche dans le cadre de l'étude sentinelle inter-régionale Maldi-Tof, 9 janvier 2015

## Partenaires financiers :



## Partenaires Professionnels :



## Partenaires scientifiques :

Laboratoire de Génétique et de Pathologie des Mollusques Marins  
LERN Port en Bessin



## Résumé :

Une étude de la flore vibriionaceae des bassins ostréicoles français est proposée en utilisant une nouvelle approche globale d'identification par spectrométrie de masse MALDI-TOF. Cette étude repose d'une part sur le réseau inter-régional mis en place par les centres techniques depuis 2009 et qui permet d'accéder à 6 sites de production en France et d'autre part sur les moyens et compétences analytiques développés par le LABEO Manche.

Les premiers résultats obtenus en 2014 ont permis de caractériser ces sites ostréicoles. Les bactéries du genre *Vibrio* représentent 15% de la flore totale sur les sites normands, 40% sur les sites atlantiques et 66% sur le site de Thau. Sur la base de variables de diversités et de charge bactérienne, un classement de ces sites d'étude a pu être proposé.

Dans tous les cas sont majoritaires les espèces appartenant au groupe *Splendidus*. Le groupe *Anguillarum* abritant *V. aestuarianus* n'est que rarement observé au cours de l'étude. Cependant, il est observé dans le lot de naissain à Thau (avant période de mortalité virale), à Blainville (pendant la période de mortalité virale) et dans toutes les classes d'âge à La Mortanne en plein été.

L'analyse multi-variée des données a permis également de mettre en évidence que la diversité des souches observées pendant la période de mortalité du naissain (T2) n'est pas corrélée à celles retrouvées aux autres dates. Le phénomène de mortalité du naissain principalement touché par le virus OsHV-1, semble donc bouleverser la flore bactérienne dans les sites d'élevage.

Cette approche sera reconduite en 2015 afin de confirmer ces premiers résultats. Elle sera l'occasion d'enrichir la base d'identification des espèces bactériennes susceptibles d'être observées dans les secteurs ostréicoles.

**Mots clefs :** Huîtres, bactéries, vibrions, écologie, mortalités

## Remerciements :

Nous tenons à remercier le LNR du LGP de l'Ifremer qui a permis de calibrer la méthode ainsi que le LERN pour le soutien méthodologique apporté.

Ce réseau ne pourrait être mis en œuvre sans le concours des professionnels qui permettent aux centres techniques de déployer les lots suivis, qu'ils en soient remerciés.

Remerciement également à tous les agents des différents centres techniques qui ont contribué de près ou de loin à la mise en œuvre de cette étude.

# SOMMAIRE

<b>Préambule</b>	p. 1
<b>Objectifs</b>	p. 3
<b>Matériel et méthode</b>	p. 5
- <b>Matériel biologique</b>	p. 5
- <b>Secteurs étudiés</b>	p. 6
- <b>Suivi du naissain, des juvéniles et des adultes</b>	p. 6
- <b>Plan d'échantillonnage pour identification des vibrions</b>	p. 7
- <b>Suivi du milieu</b>	p. 7
- <b>Principe de la spectrométrie de masse MALDI-TOF</b>	p. 8
- <b>Acquisition des spectres de référence</b>	p. 9
- <b>Validation de la base de données</b>	p. 10
- <b>Analyse des échantillons du réseau sentinelle</b>	p. 12
- <b>Constitution de la base de données « résultats »</b>	p. 13
- <b>Présentation des résultats</b>	p. 14
- <b>Analyses statistiques</b>	p. 14
<b>Résultats</b>	p. 15
- <b>Suivi du milieu</b>	p. 17
- <b>Contexte des mortalités 2014</b>	p. 18
- <b>Evolution de la charge bactérienne</b>	p. 20
- <b>Evolution de la flore vibrionaceae - NAISSAIN</b>	p. 23
o T0 avant immersion	p. 24
o THAU	p. 26
o LA MORTANNE	p. 34
o LA FLOTTE	p. 42
o LA BERNERIE	p. 50
o BLAINVILLE	p. 56
o ST VAAST	p. 64

- <b>Evolution de la flore vibrionaceae - JUVENILES</b>	
p. 73	
○ LA MORTANNE	p. 74
○ LA FLOTTE	p. 82
○ LA BERNERIE	p. 90
○ BLAINVILLE	p. 96
○ ST VAAST	p. 104
- <b>Evolution de la flore vibrionaceae - ADULTE</b>	p. 113
○ LA MORTANNE	p. 114
○ LA FLOTTE	p. 122
○ BLAINVILLE	p. 124
○ ST VAAST	p. 132
<b>Analyses statistiques</b>	p. 140
- <b>Généralités</b>	p. 141
- <b>Analyse des groupes de vibrions</b>	p. 142
○ Analyse par site	p. 142
○ Analyse par classe d'âge	p. 144
○ Analyse en fonction du temps par classe d'âge	p. 146
- <b>Analyse de la diversité des souches identifiées</b>	p. 149
○ en fonction des trois facteurs « site » « âge » « temps »	p. 149
○ Analyse de la diversité pour la classe d'âge « Naissant »	p. 150
- <b>Analyse de la charge bactérienne</b>	p. 151
○ en fonction des trois facteurs « site » « âge » « temps »	p. 151
○ Analyse de la diversité pour la classe d'âge « Naissant »	p. 152
- <b>Bilan</b>	p. 153
<b>Caractérisation des secteurs ostréicoles étudiés</b>	p. 154
- <b>Classification</b>	p. 155
- <b>Analyse multi-variée</b>	p. 156
- <b>Bilan</b>	p. 158
<b>Bilan général</b>	p. 159



## Préambule

Suite à l'apparition du phénomène de mortalité touchant le naissain d'huîtres en 2008, les **centres techniques** CEPRALMAR, CREA, SMIDAP et SMEL<sup>1</sup>, ont mis en commun leurs moyens d'actions dans le cadre d'un réseau de suivi de la dynamique de mortalité du naissain liée à la présence d'agents pathogènes tels que OsHV-1, *Vibrio splendidus* et *Vibrio aestuarianus*. Ce réseau avait pour objectif dès 2010, (date de mise en œuvre du suivi), de répondre aux questions concernant la présence de ces agents pathogènes hors période de mortalité (avant et après l'observation du phénomène), données qui n'étaient alors pas disponibles.

Ainsi, s'appuyant sur les moyens de chaque structure (humains, financiers et techniques), ce **réseau sentinelle** a pu décrire dans chaque région étudiée, la dynamique de mortalité<sup>2</sup> d'un lot de naissain capté en Charente<sup>3</sup>, et suivre l'évolution des agents pathogènes associés aux mortalités<sup>4</sup> sur quatre années consécutives de 2010 à 2013.

Partant du constat que les informations initialement recherchées étaient acquises et que ce type de données était désormais intégré dans le cadre du réseau national de surveillance des mortalités de l'IFREMER (RESCO), une réflexion a été conduite à partir de 2012, pour faire évoluer le suivi sentinelle inter régional de la surveillance vers la notion de veille pathogène.

Cette réflexion, excluant la recherche d'agents exotiques, domaine de compétence du Laboratoire National de Référence (LNR) d'IFREMER la Tremblade, s'est concentrée sur le compartiment bactérien et plus précisément sur la flore vibrionaceae. En effet, si certains vibrios ont d'ores et déjà été observés dans le cadre de mortalité d'huîtres (exemple : *V. aestuarianus*), le contexte actuel pose la question de savoir si ce compartiment bactérien constitue un risque potentiel pour la survie des huîtres, et surtout si, depuis l'émergence des mortalités virales, il existe un déséquilibre en terme de flore bactérienne qui pourrait être impactant pour les élevages (toutes classes d'âge confondues).

<sup>1</sup> Centres techniques (CT) des régions Languedoc-Roussillon, Poitou-Charentes, Pays de Loire et département de la Manche

<sup>2</sup> Identification de la période à risque d'apparition des mortalités basée sur les suivis des températures des masses d'eau et sur le suivi des mortalités cumulées,

<sup>3</sup> Intégration dans le suivi d'une surveillance précoce du naissain sur collecteurs réalisée par le CREA.

<sup>4</sup> Présence des agents pathogènes dans le naissain de la phase collecteur à toute la période d'élevage dans les sites de production.

Depuis 2010, le SMIDAP conduit un programme sur la recherche de pathogènes émergents de l'huître creuse. Réalisée en étroite collaboration avec la profession régionale, il vise à vérifier la présence de souches de vibrions (autres que celles classiquement recherchées *V. Splendidus* et *V. aestuarianus*) reconnues comme pathogènes pour l'huître creuse et leur éventuelle influence lors des épisodes de mortalités observés dans les Pays de la Loire. Cinq espèces ont été ciblées.

L'étude interrégionale conduite ici se veut complémentaire de ces approches de recherche basées sur la biologie moléculaire. Elle a pour objectif d'aborder l'écologie de la flore vibrionaceae dans les écosystèmes conchyliques en élargissant le champ d'investigation. L'évolution de ce suivi est permise grâce à de nouvelles technologies d'identification des agents infectieux utilisant l'analyse protéomique pour discriminer les bactéries. En s'appuyant sur les compétences développées par le laboratoire **LABEO Manche** qui dispose d'un **spectromètre de masse MALDI-TOF** (Bruker), cette approche exploratoire autorise l'extension de l'étude à un grand nombre de vibrions et permet ainsi de visualiser une évolution des différentes communautés d'agents microbiens, pathogènes ou non, dans les secteurs étudiés. L'avantage de cette technique réside dans le moindre coût et la rapidité d'analyse qu'offre ce type de matériel.

## Objectifs

Les objectifs généraux du programme sont d'améliorer la connaissance sur l'écologie des agents infectieux et plus particulièrement des vibrions, de contribuer à la surveillance d'émergences de nouveaux agents et de favoriser la mise en place d'un outil d'autocontrôle pérenne par la profession au niveau des principaux bassins français.

Les objectifs principaux de l'étude réalisée en 2014 sont de valider le principe de la méthode protéomique pour un suivi de la flore vibrionaceae retrouvée chez l'huître. Ce suivi repose sur un réseau sentinelle utilisant un lot unique de naissain de captage mis en élevage dans différents écosystèmes ostréicoles français.

Il est proposé de répondre aux questions suivantes :

- **Quels vibrions composent la flore bactérienne d'un naissain de captage charentais ?**
- **Cette composition évolue-t-elle après transfert du naissain dans les différents bassins d'élevages ?**
- **Évolue-t-elle également en fonction du phénomène de mortalité virale touchant les jeunes huîtres ?**
  - o avant l'apparition du phénomène de mortalité virale ?
  - o pendant ce phénomène ?
  - o au cœur de l'été ?
  - o et en fin de période à risque (automne) ?
- **Évolue-t-elle en fonction de l'âge des huîtres et des années d'élevage ?**

La première question renvoie à la notion d'imprégnation du naissain par les principales espèces de vibrions présentes dans le milieu de naissance<sup>5</sup>.

La seconde question renvoie aux caractéristiques propres des bassins d'élevage. Le naissain s'imprègne-t-il de « l'empreinte vibrionaceae » d'un secteur ?

La troisième question porte sur l'impact éventuel des mortalités virales, touchant massivement le naissain, sur l'évolution de la flore bactérienne globalement et vibrionaceae en particulier. Le timing de la dynamique des mortalités virales est-il prépondérant ? Des vibrions opportunistes peuvent-ils apparaître dans ce cas ? Au cœur de l'été dans certains secteurs, les températures des masses d'eau atteignent des valeurs qui, visiblement, ont un rôle « inhibiteur » sur l'OsHV-1 et certains vibrions, (Comm. Pers. CEPRALMAR). Enfin, le risque vibrions est-il plus important hors période à risque viral ?

La quatrième question renvoie aux questions qui se posent actuellement vis-à-vis de la fragilité de la classe d'âge adulte touchée ces deux dernières années par des pertes anormalement élevées et généralement associées à la présence d'un vibrion, *V. aestuarianus*.

Pour répondre à ces questions, il faut être en capacité d'identifier de manière la plus exhaustive possible les espèces composant cette flore. Pour mettre en œuvre une telle approche globale sur cette flore vibrionaceae il est possible d'utiliser les outils de biologie moléculaire existants (qPCR, séquençage). Cependant, aussi puissants soient-ils, ces outils sont aussi assez coûteux si l'on veut identifier un grand nombre de vibrions.

C'est pourquoi, il est proposé dans ce suivi d'utiliser une **approche globale et originale d'identification protéomique des vibrions par spectrométrie de masse MALDI-TOF**. Cet outil, dont dispose le LABEO Manche partenaire de l'étude, est depuis 2013 en cours de calibration en collaboration avec le laboratoire de référence LNR et le LGPMM de l'IFREMER La Tremblade.

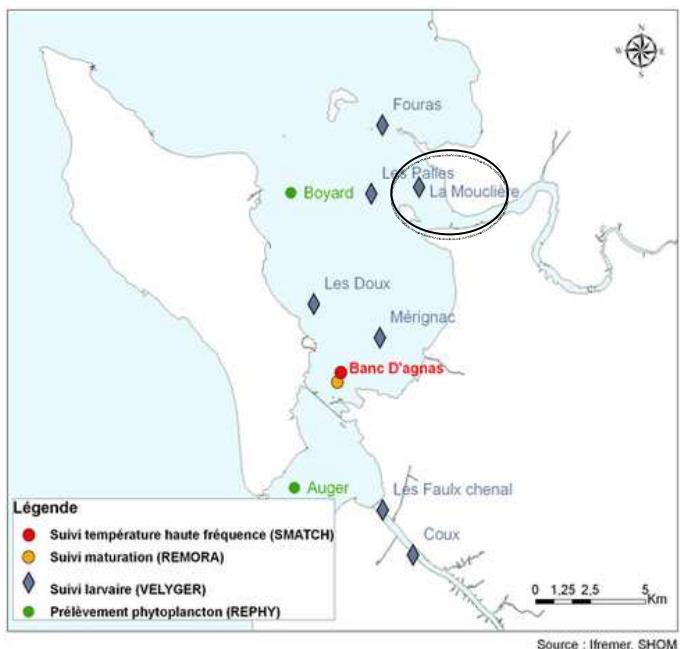
---

<sup>5</sup> Il s'agit ici de travailler avec un lot de captage donc de faire référence aux caractéristiques du milieu dans lequel ces huîtres sont nées. Si le lot de naissain était un lot d'écloserie, cette photographie floristique refléterait les caractéristiques des milieux d'élevage contrôlés. Néanmoins, le lien entre la composition de la flore vibrions dans le milieu et sa résultante au niveau des huîtres ne sera pas traité en tant que tel puisqu'il n'est pas prévu d'échantillonnage dans le milieu. Ce choix réside dans la volonté de se concentrer d'abord sur le devenir des huîtres et donc ne prendre en considération que le compartiment hôte.

## Matériel et Méthode

### - Matériel biologique

Les huîtres utilisées dans ce suivi ont pour origine un captage charentais de la Mouclière.



**Fig 1 :** Origine du naissain du réseau sentinelle inter-régional

En 2014, trois classes d'âge pourront être suivies : le **naissain « N »** (capté en 2013 et **1<sup>ière</sup> année d'élevage 2014**), les **juvéniles « J »** (captés en 2012, **1<sup>ière</sup> année d'élevage 2013 et 2<sup>nde</sup> année d'élevage 2014**) ainsi que les **adultes « A »** (captés en 2011, élevés en **1<sup>ère</sup> année en 2012, 2<sup>ème</sup> année en 2013 et 3<sup>ème</sup> année en 2014**).

## - Secteurs étudiés

Le réseau sentinel des centres techniques repose sur 6 stations de suivis :

- 1 station à Thau en Méditerranée,
- 2 stations à La Mortanne et à La Flotte en Charente Maritime,
- 1 station à La Bernerie en Pays de la Loire,
- 2 stations à Blainville et à St Vaast dans la Manche en Normandie.



**Fig 2 : Localisation des stations du réseau sentinel inter-régional**

**NB :** En Poitou-Charentes, Certains parcs sont destinés au demi élevage et d'autres parcs sont destinés à la pousses. Aussi le Site LAMOUROUX accueille les huîtres an3 (huîtres issues en an1 et an2 de la Mortanne).

## - Suivi du naissain, des juvéniles et des adultes

Le suivi du naissain commence dès la phase sur coupelle (automne de l'année de captage et avant envoi dans les différents bassins d'élevage). Il est mis sur parcs à raison de 1 500 individus par poche fin mars début avril sur les sites d'élevage. Des visites régulières permettent d'identifier la période d'expression des mortalités jusqu'à la fin de l'automne.

Les juvéniles et adultes sont suivis selon les mêmes fréquences que le naissain et selon une zootechnie représentative des régions d'élevage.

Un point de contrôle sanitaire des cheptels sera effectué en mars et pendant le pic de mortalité des naissains.

#### **- Plan d'échantillonnage pour identification des vibrios.**

Le naissain est échantillonné pour analyses d'identification avant sa mise à l'eau dans les bassins d'élevage (**T0**) **sur 6 pools de 5 individus**. Ensuite, en cours d'élevage, **3 pools de 5 individus** par site sont prélevés avant l'apparition des mortalités virales<sup>6</sup> (**T1**), pendant l'épisode de mortalité virale<sup>7</sup> (**T2**), en plein été<sup>8</sup> (**T3**), puis en fin de période à risque<sup>9</sup> (**T4**).

Les échantillonnages des juvéniles et des adultes en élevage sont réalisés selon le même plan que le naissain (T1, T2, T3 et T4) à raison de **3 pools de 5 individus** par site et classe d'âge.

En raison des caractéristiques zootechniques propres à chaque bassin d'élevage étudié et des disponibilités des professionnels accueillant le suivi sentinelle dans chaque secteur, ne seront analysées à Thau (méditerranée) que la classe d'âge naissain et à La Flotte (Charente Maritimes) et à la Bernerie (Pays de la Loire) que les classes d'âge naissain et juvéniles.

Ainsi cette étude représente l'analyse de 78 pools de naissain (390 individus), 60 pools de juvéniles (300 individus) et 36 pools d'adultes (180 individus) soit un prévisionnel total de 174 pools de 5 individus soit 870 individus tous âges confondus.

#### **- Le suivi du milieu**

Sur chaque site d'élevage, la température des masses d'eaux, est relevée soit à l'aide de sondes soit par mesures ponctuelles.

<sup>6</sup> Suivant les bassins d'élevage, le déclenchement des mortalités virales ne survient pas au même moment, il est convenu de prendre en considération les suivis de températures des masses d'eau qui permettent de définir l'ouverture de la période à risque (housse rapide à l'approche d'une température de 16°C). Ce premier échantillonnage ne sera donc pas forcément fait au même moment dans tous les secteurs mais dépendra de la dynamique de la mortalité virale du naissain intrinsèque à chaque secteur.

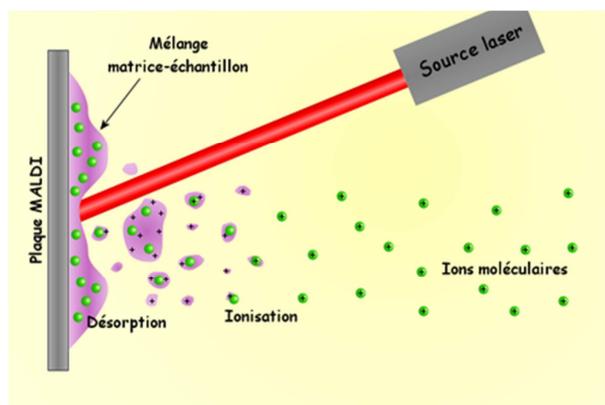
<sup>7</sup> Le suivi de la dynamique de mortalité du naissain déterminera la date d'échantillonnage au cœur de la mortalité virale (premier constat de hausse significative de mortalité).

<sup>8</sup> Echantillonnage au moment où les masses d'eau atteignent leur maximum thermique quels que soient les secteurs.

<sup>9</sup> Même si la fin de la période à risque peut correspondre à des dates différentes en fonction des secteurs, il a été convenu d'effectuer ce dernier prélèvement en novembre période présumée hors risque viral.

## - Principe de la spectrométrie de masse MALDI-TOF en identification bactérienne de routine

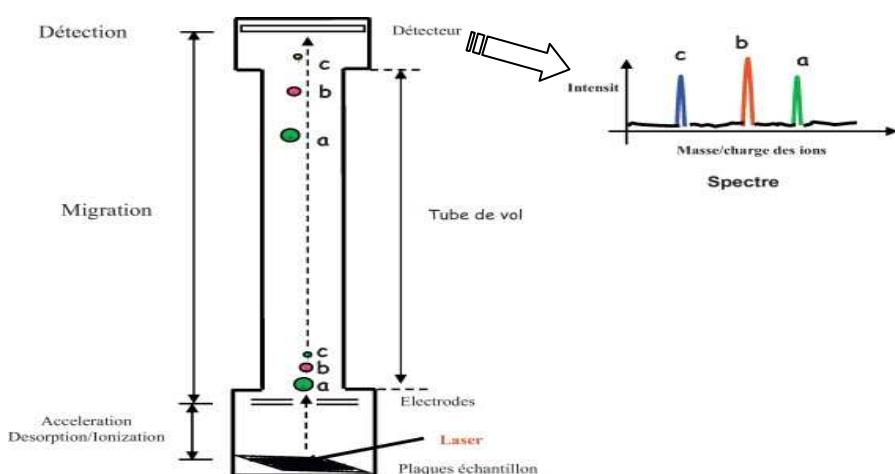
La spectrométrie de masse (SM) MALDI-TOF permet l'identification des micro-organismes en fonction de leur contenu protéique, en analysant les protéines majoritaires (40% protéines ribosomales).



L'échantillon (une colonie) est déposé sur une cible en acier sur laquelle on dépose une matrice spécifique des protéines. En séchant, celle-ci va co-cristalliser avec l'échantillon, permettant la désorption et l'ionisation de l'échantillon quand le laser vient frapper la cible (figure 3).

Fig 3 : Désorption matrice-échantillon

Les ions vont ensuite migrer dans un tube hors champ électrique, et seront ainsi séparés en fonction de leur masse. Les signaux obtenus vont être convertis en un spectre de masse, qui est spécifique de l'espèce bactérienne (figure 4).



**Fig 4 : Schéma du tube de vol**

Ce spectre va ensuite être comparé à ceux qui sont présents dans la base de données de l'appareil (spectres de référence : MSP). La concordance du spectre obtenu par rapport aux MSP de la base de données est traduite par un score allant de 0 à 3 et qui reflète le degré de confiance à accorder à l'identification (tableau 1).

Range	Description	Symbols	Color
2.300 ... 3.000	<b>highly probable species identification</b>	( +++)	green
2.000 ... 2.299	<b>secure genus identification, probable species identification</b>	(++)	green
1.700 ... 1.999	<b>probable genus identification</b>	(+)	yellow
0.000 ... 1.699	<b>not reliable identification</b>	( -)	red

**Tableau 1 : Signification des scores obtenus par MALDI-TOF**

- **Acquisition des spectres de référence et Construction de la base de données**

1/ Souches bactériennes et culture

L'implémentation de la base de données a été réalisée à partir de souches de « *Vibrio* » connues transmises par le LGPMM de l'IFREMER La Tremblade. Cette base de données « LABEO » complète et enrichit celle fournie avec le MALDI-TOF par Bruker (liste en annexe).

Ces souches de références connues sont cultivées sur gélose TCBS à 22°C pendant 48 h.

## 2/ Extraction protéique et acquisition des données

L'acquisition des spectres de référence est réalisée à partir d'extractions protéiques des souches de référence.

Pour la création des spectres de référence (MSP), 8 spots de chaque souche sont déposés sur une cible à usage unique. L'acquisition se fait sous le contrôle du logiciel FlexControl version 3.3, et la calibration se fait avec le Bacterial Test Standard. Le traitement des données se fait avec le logiciel Biotyper3 version 3.0.

A l'issue de cette phase d'implémentation, la **base de données LABEO** renferme **95 souches représentant 35 espèces** venant compléter la **base de données Bruker** comprenant **93 souches représentant 55 espèces** soit un potentiel total d'identification de **188 souches pour 61 espèces**.

### - Validation de la base de données

Cette phase de validation a été réalisée en collaboration étroite avec le LGPMM. Ce dernier a fourni 49 échantillons au LABEO Manche. Ces souches sont cultivées suivant le même protocole que pour la construction de la base de données (voir chapitre précédent). Elles sont analysées en aveugle. Les dépôts se font sur une cible en acier réutilisable. Les paramètres de l'appareil sont ceux par défaut. Chaque identification est sanctionnée par un score qui permet de connaître le degré de fiabilité de l'analyse.

Cette phase de validation a permis d'obtenir 69% d'identifications correctes en 1<sup>er</sup> choix et 10% d'identifications correctes en 2<sup>nd</sup> choix avec des scores > 1,699, 16% d'identifications correctes en 1<sup>er</sup> choix avec un score ≤ 1,699 et seulement 4% de mauvaises identifications.

Ainsi, il a été convenu que le traitement des résultats serait basé sur la prise en compte des **données de 1<sup>er</sup> rang (meilleur score lors de choix multiples) et de score > 1,699**.

Le logiciel Biotyper3 version 3.0 permet de générer des dendrogrammes protéiques à partir des spectres de référence rentrés dans la base de données. Un dendrogramme a donc été créé à partir de quelques souches de référence de vibrios afin de vérifier la cohérence de la distribution des souches et la robustesse de la calibration. Les différents groupes sont bien hiérarchisés, avec toutefois le groupe Orientalis qui est scindé en 2 par *Vibrio corallilyticus* (très proche du groupe Orientalis et Harveyi) (figure 5).

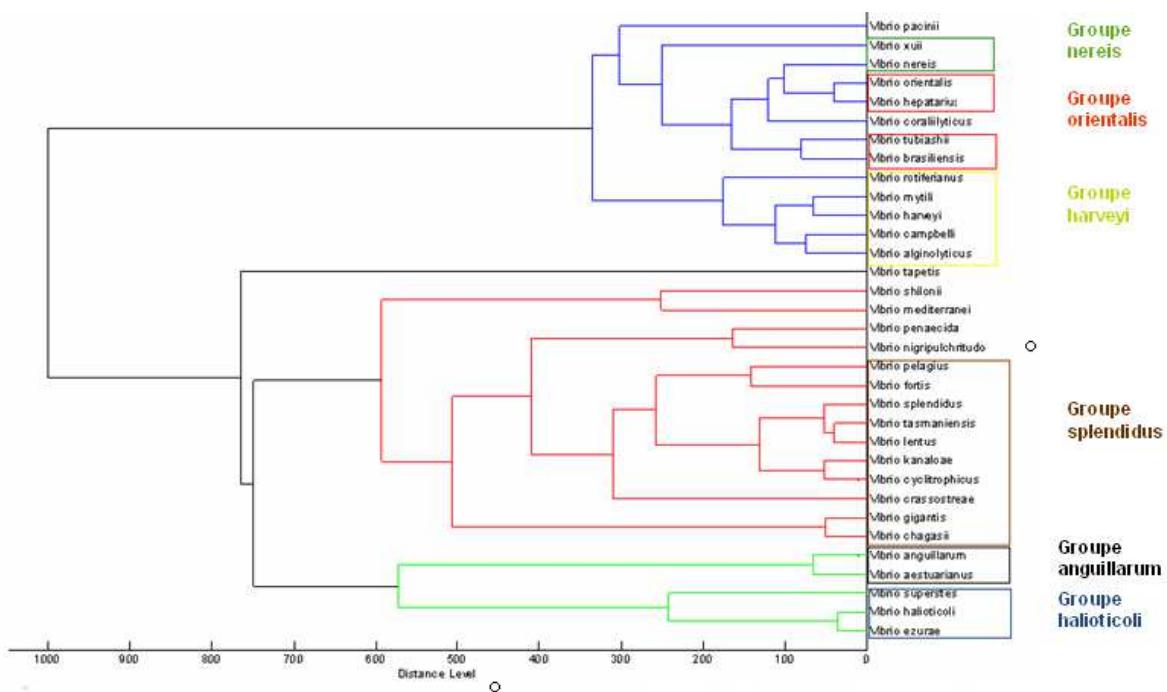


Figure 5 : dendrogramme protéique de quelques souches de référence

En comparant ce dernier avec un dendrogramme phylogénétique issu de la publication « Updating the *Vibrio* clades defined by multilocus sequence phylogeny : proposal of eight new clades, and the description of *Vibrio tritonius* sp. nov » (Sawabe *et al*, 2013), les groupes retrouvés sont semblables et en adéquation. (figure 6)

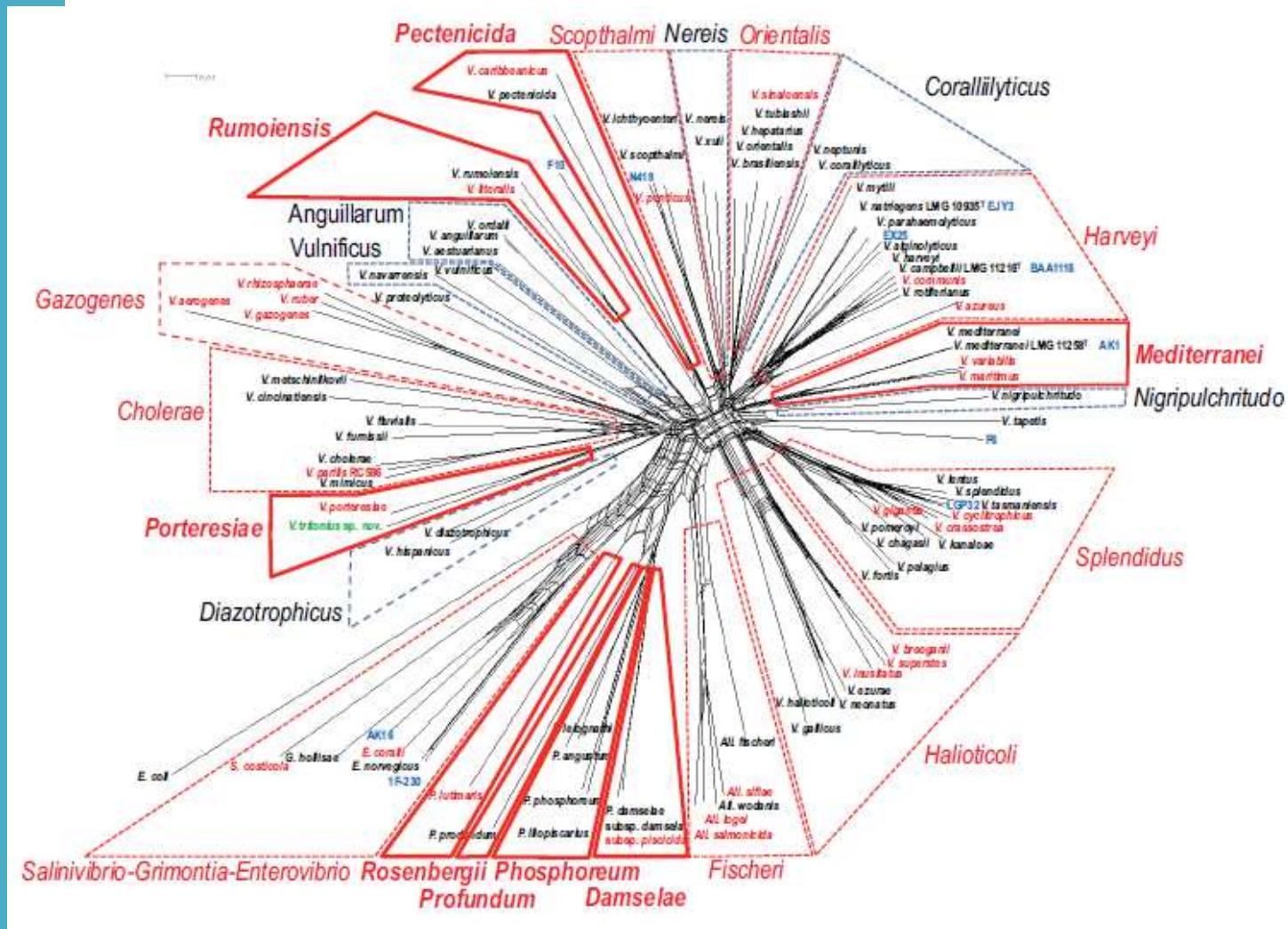


Figure 6 : arbre phylogénétique basé sur le séquençage de 8 gènes de ménage

## - Analyse des échantillons du réseau sentinelle inter-régional

Les échantillons d'huîtres sont envoyés au LABEO Manche par chaque centre technique sous forme de colis réfrigérés. Dès réception, ceux-ci sont pris en charge et traités selon le protocole du REPAMO modifié. Des broyats par pools de 5 individus décoquillés sont réalisés :

- Animaux entiers pour une taille < 15 mm,
  - Animaux sans glande digestive pour une taille comprise entre 15 et 40 mm
  - Manteau uniquement pour les tailles > 4 cm

Ces broyats sont dilués au 1/4 dans de l'eau de mer artificielle et différentes dilutions sont constituées avant ensemencement sur milieu Marine Agar pendant 72H à 22°C. A partir de ces premières cultures, **20 colonies** sont prélevées et remises en culture 48 H à 22°C. Une identification directe par MALDI-TOF est alors réalisée. Le nombre d'observation par échantillon correspond donc à 20 colonies analysées pour identification par pool soit 60 observations potentielles par échantillon et par classe d'âge. (Sauf pour le T0 du naissain échantillonné à raison de 6 pools soit 120 observations potentielles).

## - Constitution de la base de données « résultats »

Chaque identification MALDI-TOF donne lieu à une bancarisation. La base de donnée « résultats » comporte les différents champs nécessaires au tri des résultats en vue du traitement et de la présentation des données. Ces champs sont :

**Nom du site** : sites réseau sentinelle inter-régional

**Code du site**

**Classe d'âge** : subdivisée en 3 classes naissant juvénile et Adulte pour 1,2 et 3 ans

**Date de prélèvement** : échantillonnage terrain

**Temps T** : correspond au calendrier opérationnel (T0, T1, T2, T3, T4)

**Date Maldi-Tof** : date de traitement et d'analyse des échantillons

**Méthode d'analyse** : précise le traitement des échantillons avant mise en culture

**Dilution** : utilisée pour le dénombrement et l'identification

**Nb colonies** : total observé sur boite

**N° pool** : identifie le pool analysé par échantillon

**N° colonie** : identifie la colonie analysée sur les 20 colonies prélevées par boite

**Identification Maldi-Tof** : résultat de l'identification après confrontation avec les BD

**Score** : degré de confiance apporté au résultat.

**Charge Bactérienne** : nombre de colonies x inverse de la dilution x 20 (car isolement avec 50µl : 20 x 50µl = 1000µl = 1ml).

Nom du Sit.	Code Sit.	Classe d'âge	Date de prélèvement	Temps	Date Maldi-Tof	Méthode d'analyse	Dilution	Nbr colon.	N° Pool	N° colon.	Identification Maldi-Tof	Score
Saint Vaast	SVA	Naissant	26/06/2014	T2	03/07/2014	Glande Digestive Éliminée	1/40	370	N01	1	Autre	1,450
Saint Vaast	SVA	Naissant	26/06/2014	T2	03/07/2014	Glande Digestive Éliminée	1/40	70	N02	1	Autre	1,446
Saint Vaast	SVA	Naissant	26/06/2014	T2	03/07/2014	Glande Digestive Éliminée	1/40	65	N03	1	Autre	1,421
Saint Vaast	SVA	Juvénile	26/06/2014	T2	03/07/2014	Manteau	1/4	77	J01	1	Autre	1,291
Saint Vaast	SVA	Juvénile	26/06/2014	T2	03/07/2014	Manteau	1/40	38	J02	1	Autre	1,325
Saint Vaast	SVA	Juvénile	26/06/2014	T2	03/07/2014	Manteau	1/4	53	J03	1	Autre	1,332
Saint Vaast	SVA	Adulte	26/06/2014	T2	03/07/2014	Manteau	1/40	25	A01	1	Vibrio crassostreae_24h	2,109
Saint Vaast	SVA	Adulte	26/06/2014	T2	03/07/2014	Manteau	1/40	25	A01	1	Vibrio cyclitrophicus_48H	1,974
Saint Vaast	SVA	Adulte	26/06/2014	T2	03/07/2014	Manteau	1/40	25	A01	1	Vibrio kanaloae_24h	1,972
Saint Vaast	SVA	Adulte	26/06/2014	T2	03/07/2014	Manteau	1/40	115	A02	1	Autre	1,396
Saint Vaast	SVA	Adulte	26/06/2014	T2	03/07/2014	Manteau	1/40	76	A03	1	Autre	1,322

Tableau 2 : Extrait pour exemple de la base de données « Résultats »

## - Présentation des résultats

Précisons que l'identification repose sur la reconnaissance d'un spectre de référence contenu dans la base de données MSP. Cette dernière cible principalement les vibrios pour répondre aux objectifs de l'étude.

Ainsi, une souche qualifiée de « **non identifiable** » ( NI) signifie que celle-ci n'est pas reconnue car non référencée dans la base MSP (score < 1,699).

Lorsqu'une souche bactérienne marine est identifiée (score > 1,699) mais n'appartient pas au genre *Vibrio*, celle-ci est qualifiée de « **autre** » (autre genre que *Vibrio*).

Les résultats présentent tout d'abord la répartition des souches de vibrios identifiées par rapport au nombre total de colonies analysées (60 sauf T0 naissant 120), leur prévalence (présentes dans combien de pools) et leur présence moyenne (nombre de colonies représentant une souche dans un pool).

Certaines souches de *Vibrio* ont été classées par groupe familles. Un code couleur a été attribué à chacune de ces familles pour une visualisation directe dans les graphiques :

Anguillarum
Halioticoli
Harveyi
Mediterranei
Nereis
Orientalis
Pectenicida
Rumoiensis
Scopthalmi
Splendidus

**Tableau 3** : Liste des groupes de vibrios identifiés par code couleur

Certaines souches ne rentrent pas dans un classement par groupe et seront donc présentées individuellement (marquage par un astérisque\*).

## - Analyse statistique

Ces premiers résultats feront l'objet d'une analyse statistique dont la méthodologie sera étudiée par le biais d'un stage de master 1 MASS. Cette méthodologie a vocation à évoluer en fonction des acquis. Dans le cadre de cette première étude, des analyses portant sur l'influence des facteurs site, âge et temps sur les variables charges bactériennes et diversité (analysées par groupe de vibrios et par espèce) seront réalisées.

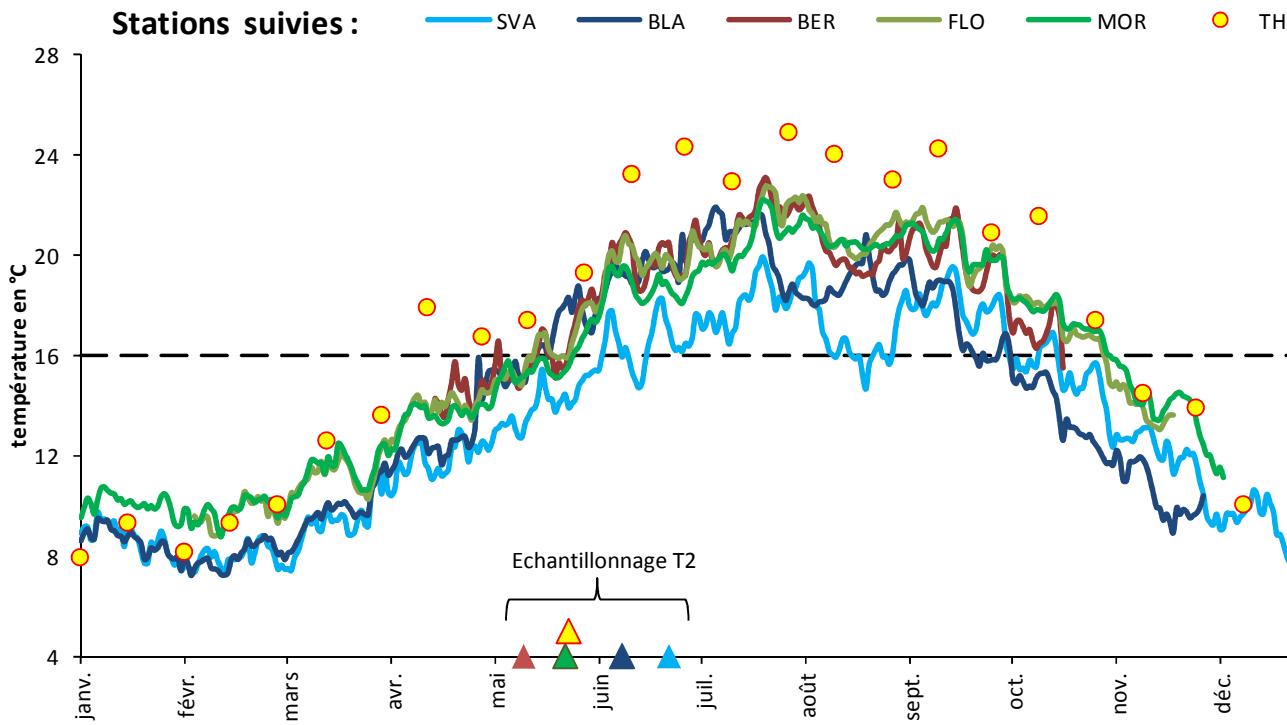
# Résultats

## Chapitres résultats

- Suivi du milieu
- contexte des mortalités 2014
- Evolution de la charge bactérienne
- Evolution de la flore vibriaceae NAISSAIN
- Evolution de la flore vibriaceae JUVENILE
- Evolution de la flore vibriaceae ADULTE

# Suivi du milieu

## - Température des masses d'eau



**Fig 7 :** Evolution de la température des masses d'eaux des sites étudiés.

La température des masses d'eaux normandes sont les plus basses jusque fin avril. Celles des sites charentais et de Thau sont les plus hautes sur cette période.

Sur Thau, dès le mois d'avril, la température atteint et dépasse 16°C. Cette limite est atteinte par tous les autres sites début mai, à l'exception de St Vaast qui reste la station la plus fraîche jusqu'à la fin de l'été.

L'échantillonnage des huîtres lors du constat de mortalité des naissains (T2), a d'abord été réalisé à La Bernerie, la première quinzaine de mai (▲), puis, mi-mai à Thau (▲) et sur les deux sites charentais (▲). Enfin, ces échantillonnages ont été réalisés début juin à Blainville (▲) et fin juin à St Vaast (▲).

Les températures estivales les plus hautes sont observées à Thau. Elles atteignent 24°C de juin à septembre. Sur les autres sites de la côte atlantique, elles atteignent 23°C fin juillet. A Blainville elles atteignent 21°C à cette même période. Quant à St Vaast, elles atteignent à peine 20°C fin juillet – début août et mi-septembre.

A l'automne, le refroidissement des masses d'eaux est plus marqué à Blainville avec les températures les plus basses. Viennent ensuite celles de St Vaast puis celles de la côte atlantique et de Thau.

## Contexte des mortalités 2014

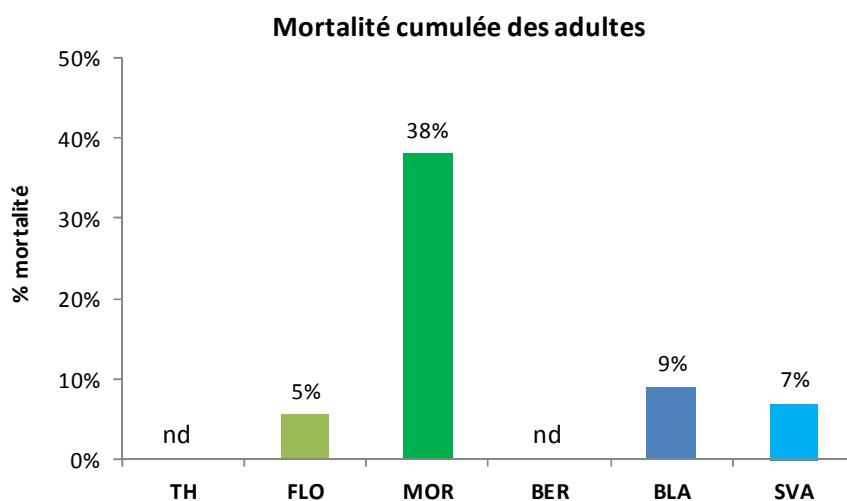
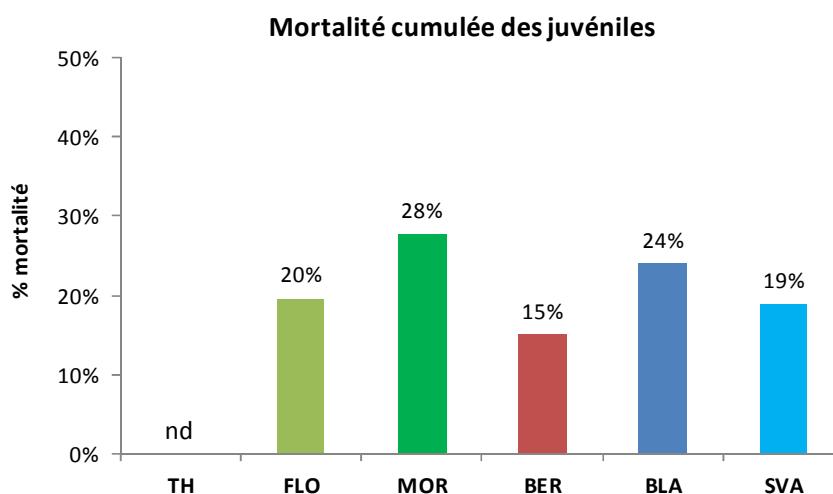
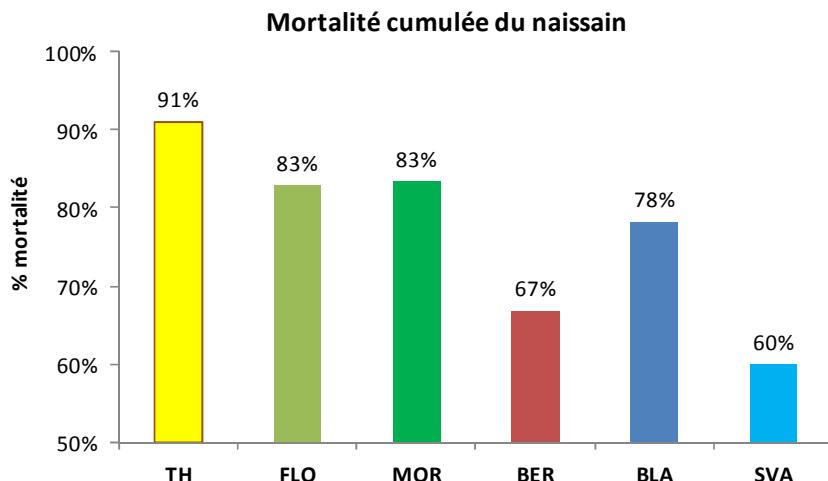


Fig 8 : Mortalités cumulées des lots d'huîtres étudiés en 2014.

La mortalité cumulée la plus élevée pour le lot de naissain a été observée à Thau (91%). Celle-ci est d'environ 80% pour les sites charentais et celui de Blainville. Le pourcentage le plus faible a été observé à La Bernerie et à St Vaast (respectivement 67% et 60%).

Pour les lots de juvéniles en seconde année d'élevage, la mortalité la plus importante est observée à La Mortanne (28%), puis Blainville (24%). A La Flotte et St Vaast, celle-ci est du même ordre de grandeur (environ 20%). La Bernerie enregistre un pourcentage de mortalité de seulement 15%.

Chez les huîtres adultes en 3<sup>ième</sup> année d'élevage sur site, seule la station de la Mortanne enregistre un pourcentage de mortalité important (38%) par rapport aux autres sites dont les valeurs observées sont toutes inférieures à 10%.

## Evolution de la charge bactérienne

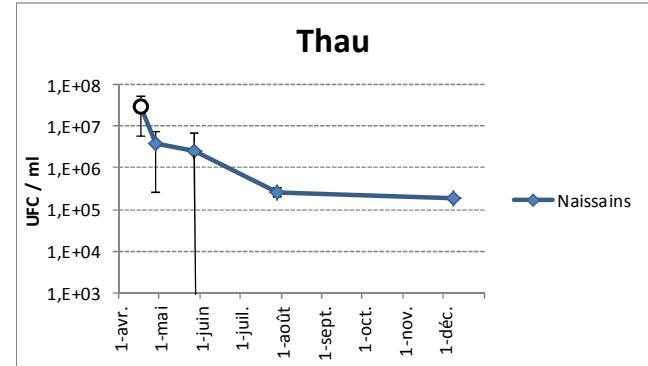
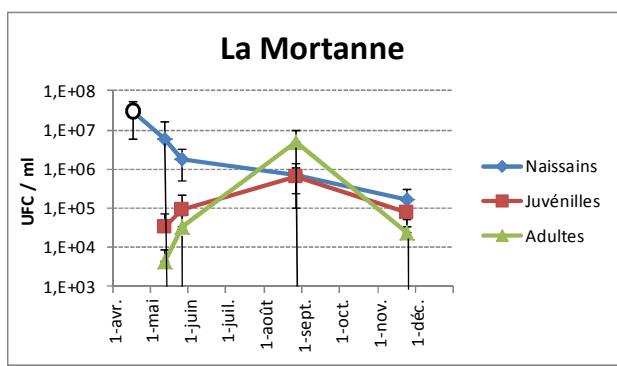
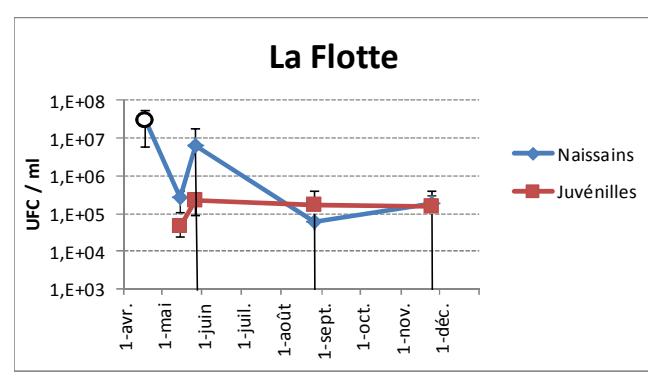
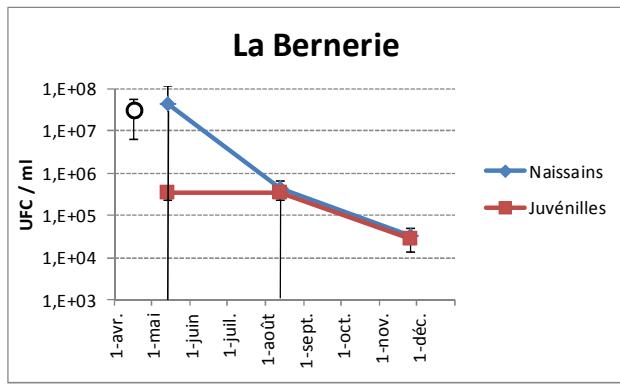
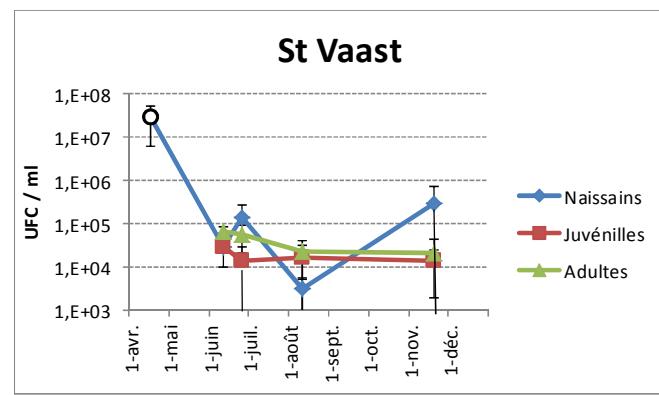
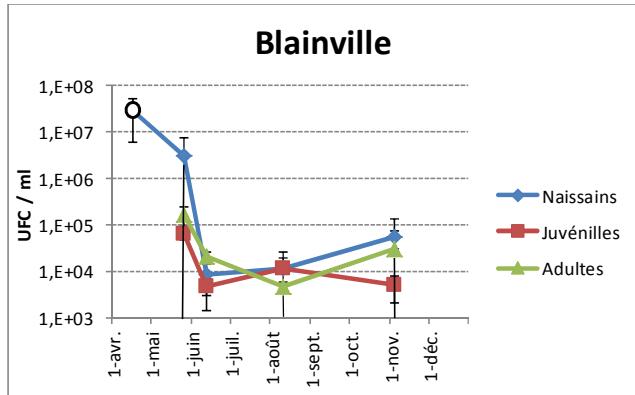


Fig 9 : Evolution de la charge bactérienne dans le temps pour chaque classe d'âge

La charge bactérienne moyenne observée sur le naissain au temps initial (à réception T0) est particulièrement forte au regard de l'évolution des charges observées sur site d'élevage ensuite.

Cependant, si des profils d'évolution différents s'observent sur les différents secteurs, ces mesures sont soumises à de grandes variabilités. Ainsi, pour les secteurs « sud » et « atlantiques » de Thau à la Bernerie, il sera difficile de discriminer des dates sur ce critère.

Au contraire, pour les secteurs normands, il est possible de voir une diminution de cette charge bactérienne moyenne une fois les naissains arrivés sur sites d'élevage.

Sur ce critère charge bactérienne, les observations obtenues à partir des huîtres d'autres classes d'âge suivies, déjà implantées dans les secteurs depuis un an pour les juvéniles et deux ans pour les adultes, montrent une fois mis en élevage, des profils similaires à celui des naissains.

Malgré tout, observons que les charges moyennes mesurées dans les secteurs normands sont sensiblement identiques pour Blainville et St Vaast et présentent les valeurs les plus faibles, de l'ordre de  $1.10^4$  UFC/ml en période estivale, comparées aux valeurs des autres secteurs plutôt autour de  $1.10^5$  UFC/ml.

Il semble là aussi, de manière concomitante pour les sites normands, que les charges bactériennes des naissains augmentent légèrement en fin d'année alors qu'elles restent stables dans les autres secteurs.

## Evolution de la flore vibronaceae

Classe d'âge

**NAISSAIN**

## To avant immersion sur site d'élevage

Date d'échantillonnage : 17 avril 2014

2 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe Rumoensis	1 %
Groupe Splendidus	49 %
Non identifié	48 %

6 souches observées
Autre
Vibrio rumoensis
Vibrio kanaloae
Vibrio lentus
Vibrio splendidus
Vibrio tasmaniensis

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 50% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

2 groupes de vibrions sont observés, le groupe Splendidus étant très largement représenté.

### Diversité des souches observées :

6 espèces sont observées dont 5 du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 6/6) :

2 espèces sont majoritaires : *V. splendidus* et *V.tasmaniensis*

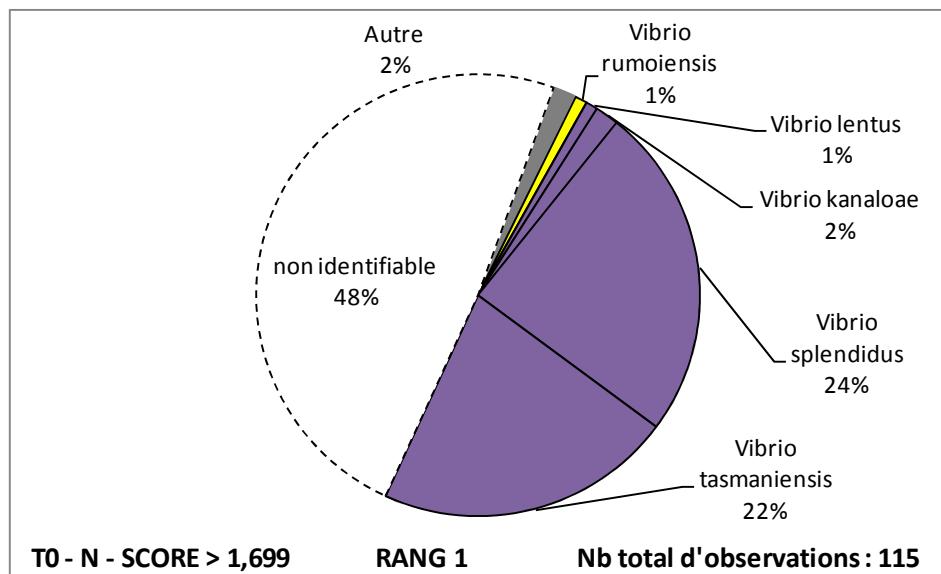
### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

*V. splendidus* représente en moyenne 24% des colonies analysées.

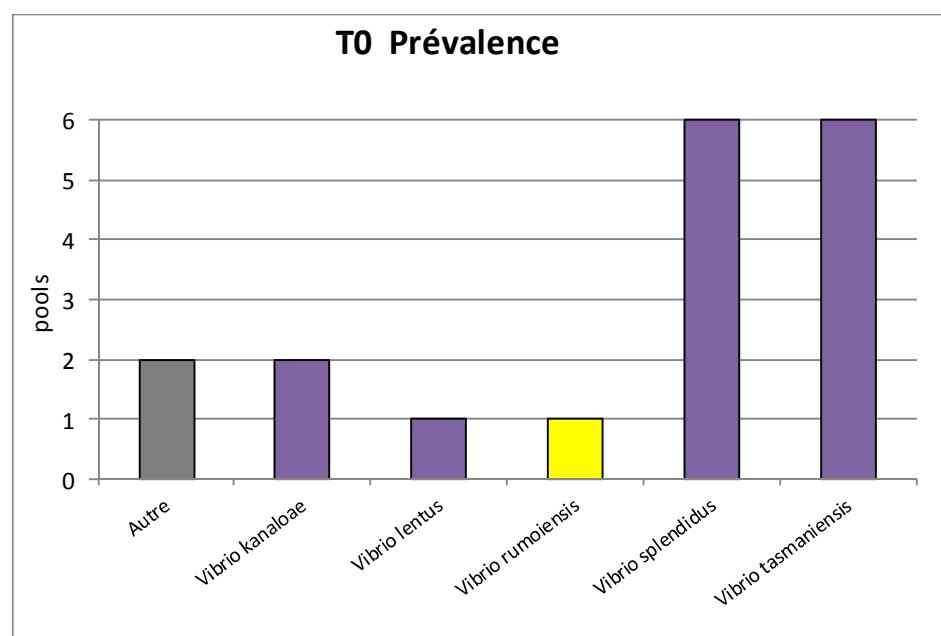
*V. tasmaniensis* représente en moyenne 22% des colonies analysées

Distribution des souches

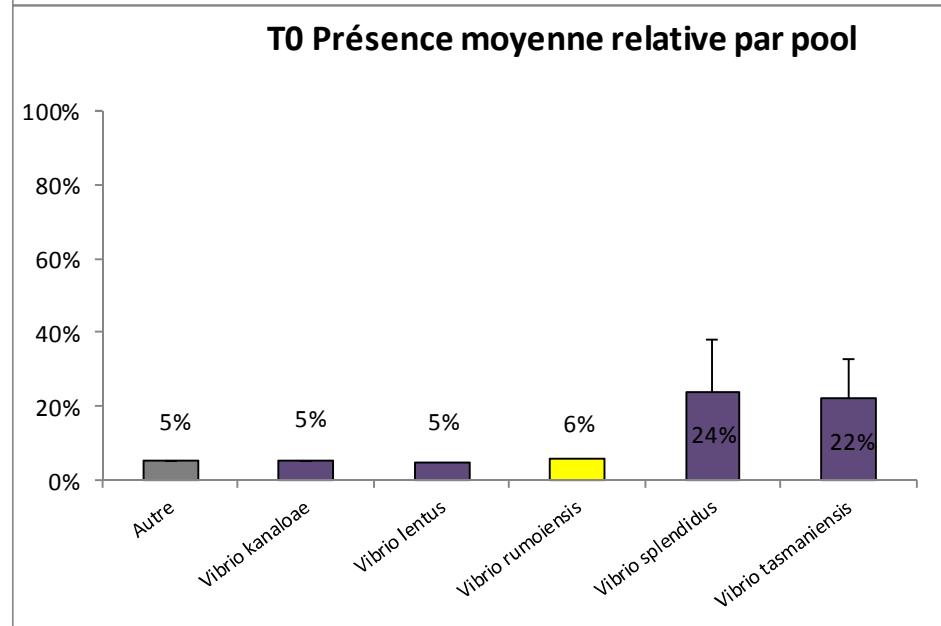
Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



Distribution des souches  
Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches  
Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de THAU – T1

Date d'échantillonnage : 28 avril 2014

2 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe <i>Anguillarum</i>	11 %
Groupe <i>Splendidus</i>	53 %
Non identifié	33 %

7 souches observées
Autre
<b><i>Vibrio aestuarianus</i></b>
<i>Vibrio crassostreae</i>
<i>Vibrio cyclitrophicus</i>
<i>Vibrio kanaloae</i>
<i>Vibrio splendidus</i>
<i>Vibrio tasmaniensis</i>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 64% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

2 groupes de vibrions sont observés, le groupe *Splendidus* étant majoritaire à 83%. Notons la présence du groupe *Anguillarum*.

### Diversité des souches observées :

7 espèces sont observées dont 6 du genre *Vibrio*.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

2 espèces sont majoritaires : *V. splendidus* et *V.tasmaniensis*

*V. aestuarianus* est présent dans 2 pools /3.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

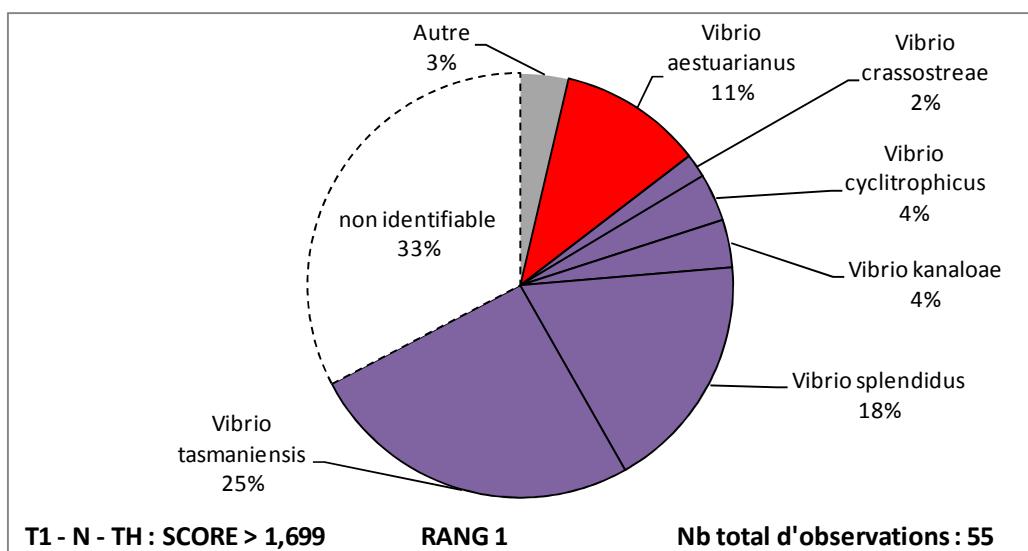
*V. splendidus* représente en moyenne 19% des colonies analysées.

*V. tasmaniensis* représente en moyenne 25% des colonies analysées.

*V. aestuarianus* représente 15% des colonies observées.

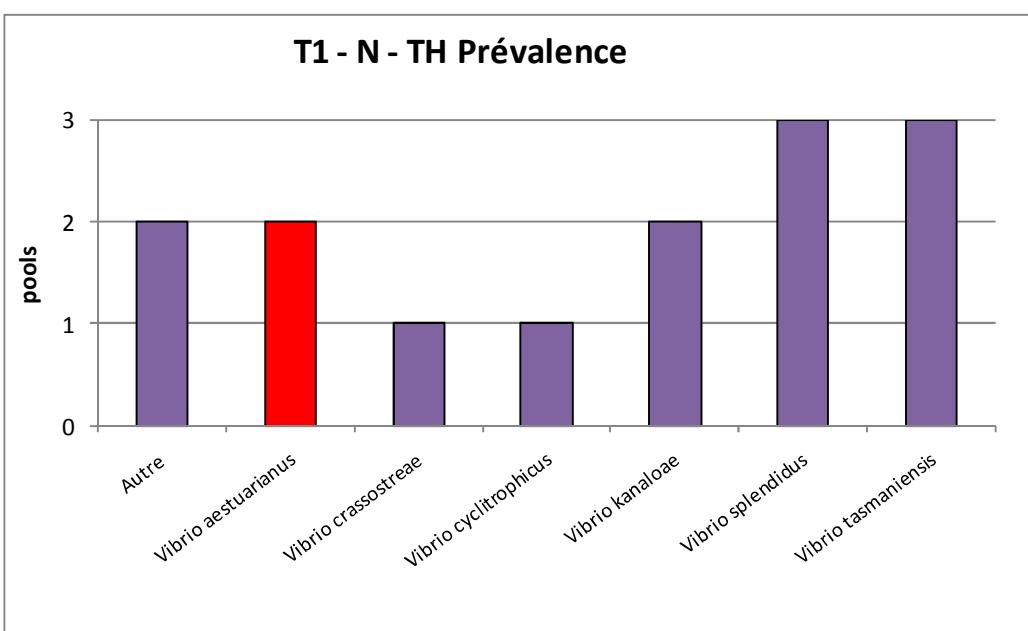
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



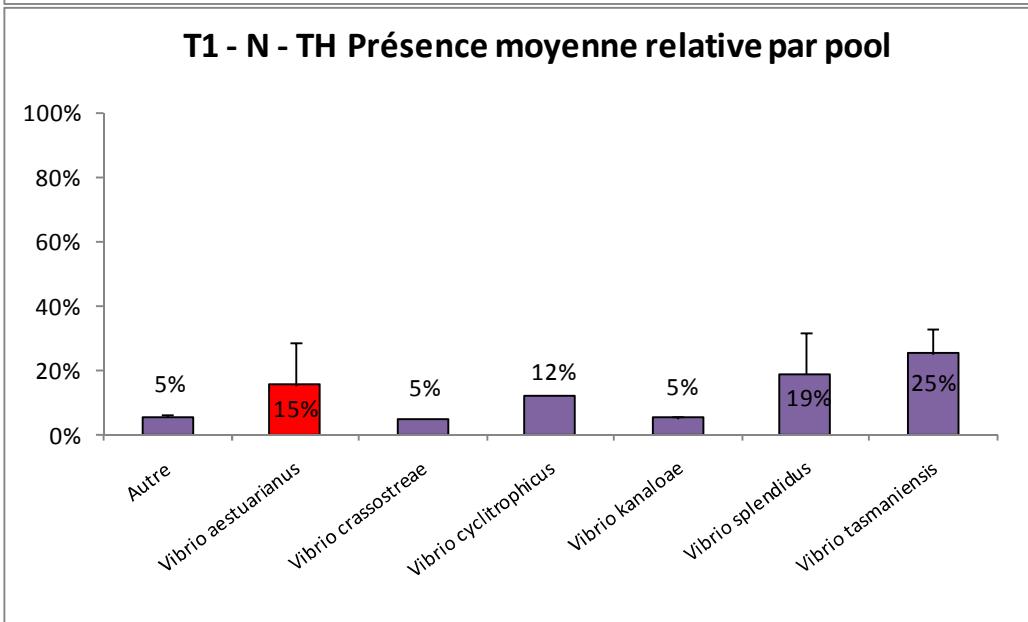
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de THAU – T2

Date d'échantillonnage : 27 mai 2014

1 Groupe familles Vibrio représenté - proportion	
Groupe Splendidus	54 %
Non identifié	46 %

6 souches observées
<i>Vibrio cyclotrophicus</i>
<i>Vibrio gigantis</i>
<i>Vibrio kanaloae</i>
<i>Vibrio lentus</i>
<i>Vibrio splendidus</i>
<i>Vibrio tasmaniensis</i>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 54% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

Seul le groupe Splendidus est représenté.

### Diversité des souches observées :

6 espèces sont observées, toutes du genre *Vibrio*.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

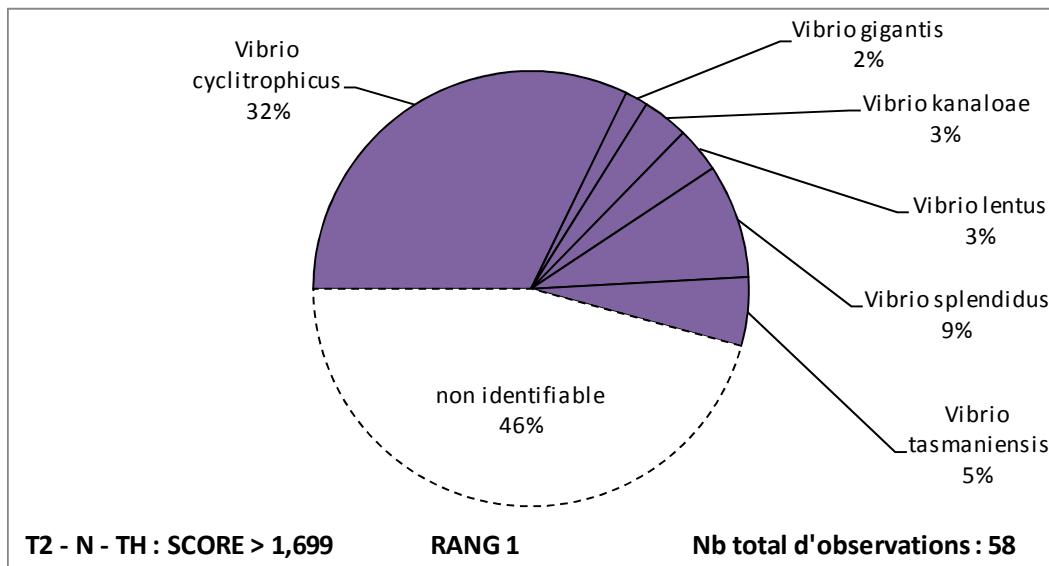
2 espèces sont majoritaires : *V. splendidus* et *V. cyclotrophicus*.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

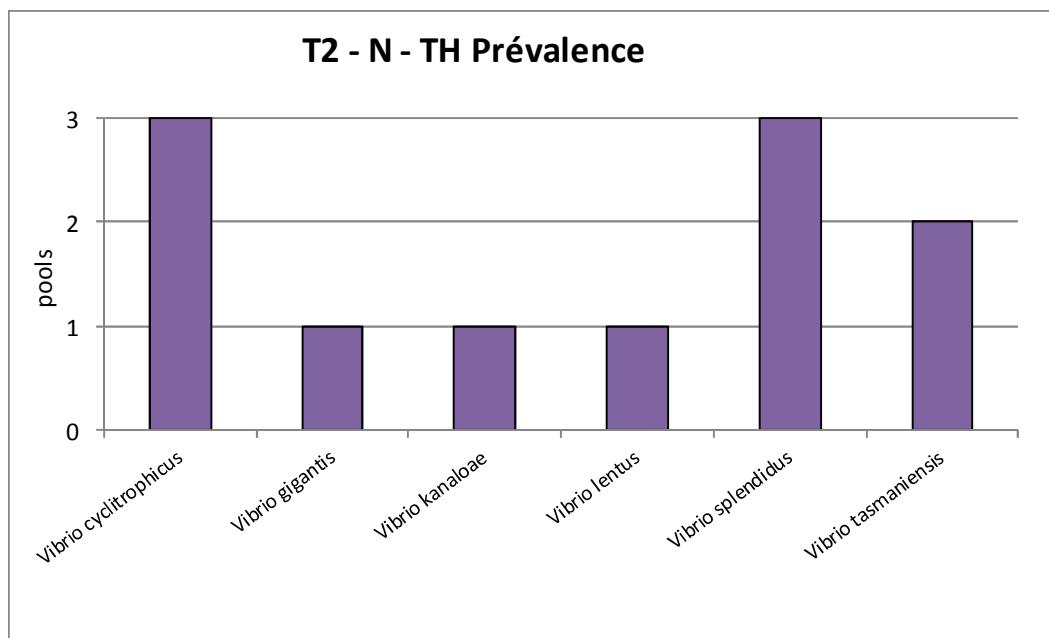
*V. splendidus* représente en moyenne 8% des colonies analysées.

*V. cyclotrophicus* représente en moyenne 32% des colonies analysées.

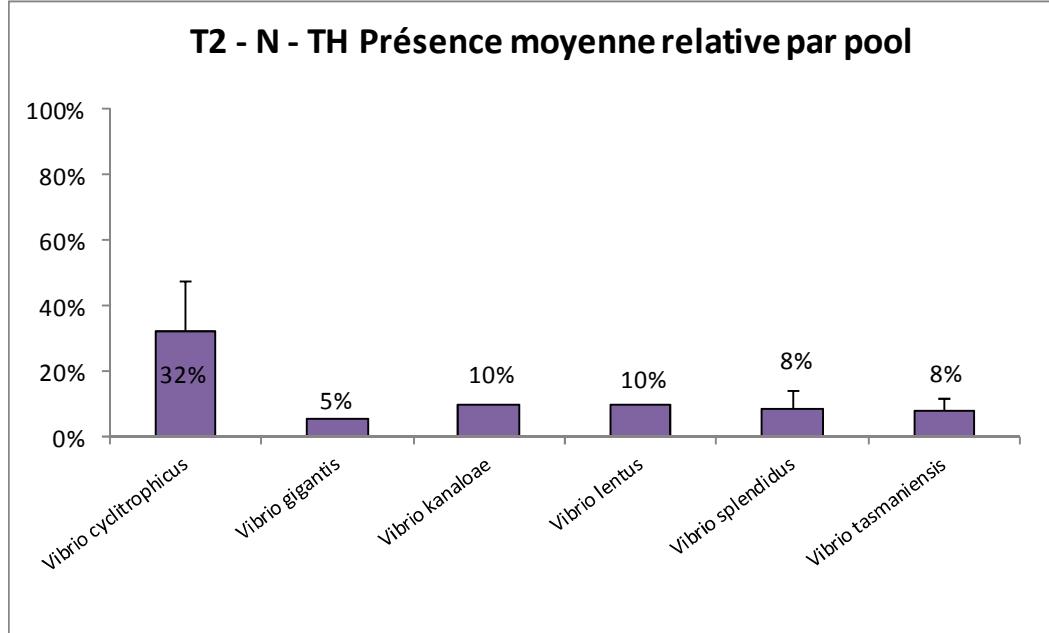
Distribution des souches  
Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



Distribution des souches  
Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches  
Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de THAU – T3

Date d'échantillonnage : 29 juillet 2014

6 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe Splendidus	51 %
Groupe Harveyi	2 %
Groupe Mediterranei	3 %
Groupe Halioticoli	7 %
Groupe Shilonii	2 %
Groupe Rumoiensis	2 %
Non identifié	33 %

14 souches observées
Autre
Vibrio chagasaki
Vibrio crassostreae
Vibrio cyclitrophicus
Vibrio fortis
Vibrio gigantis
Vibrio kanaloae
Vibrio lentinus
Vibrio tasmaniensis
Vibrio harveyi
Vibrio mediterranei
Vibrio superstes
Vibrio shilonii
Vibrio rumoiensis

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 67% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

6 groupes de vibrions sont représentés, le groupe Splendidus est majoritaire à 76%.

### Diversité des souches observées :

14 espèces sont observées, dont 13 du genre Vibrio.

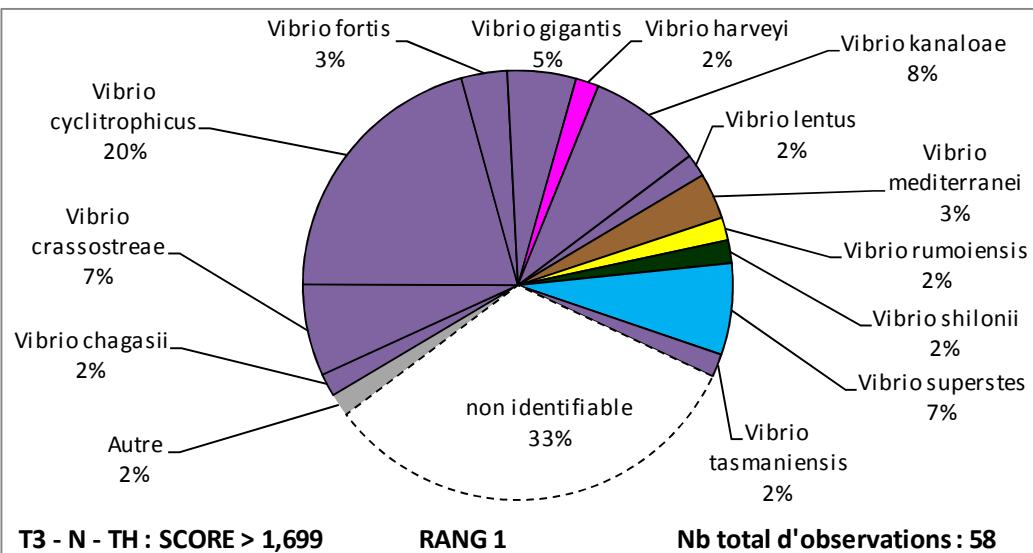
### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

3 espèces sont majoritaires : *V. crassostreae*, *V. cyclitrophicus* et *V. gigantis*.

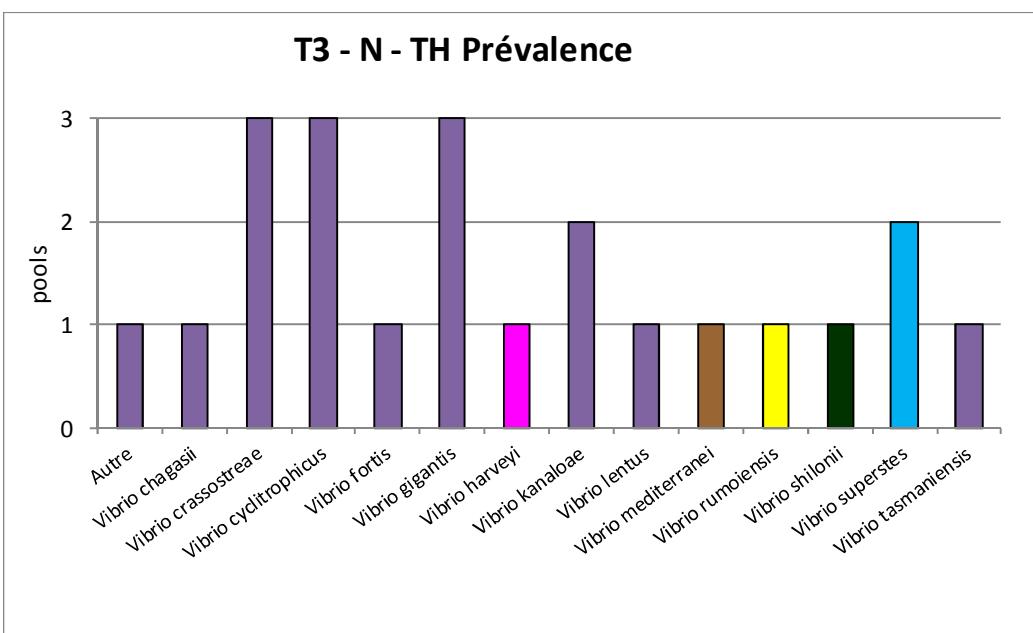
### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

*V. crassostreae* représente en moyenne 7% des colonies analysées, *V. gigantis* 5% des colonies analysées et *V. cyclitrophicus* 21% des colonies analysées.

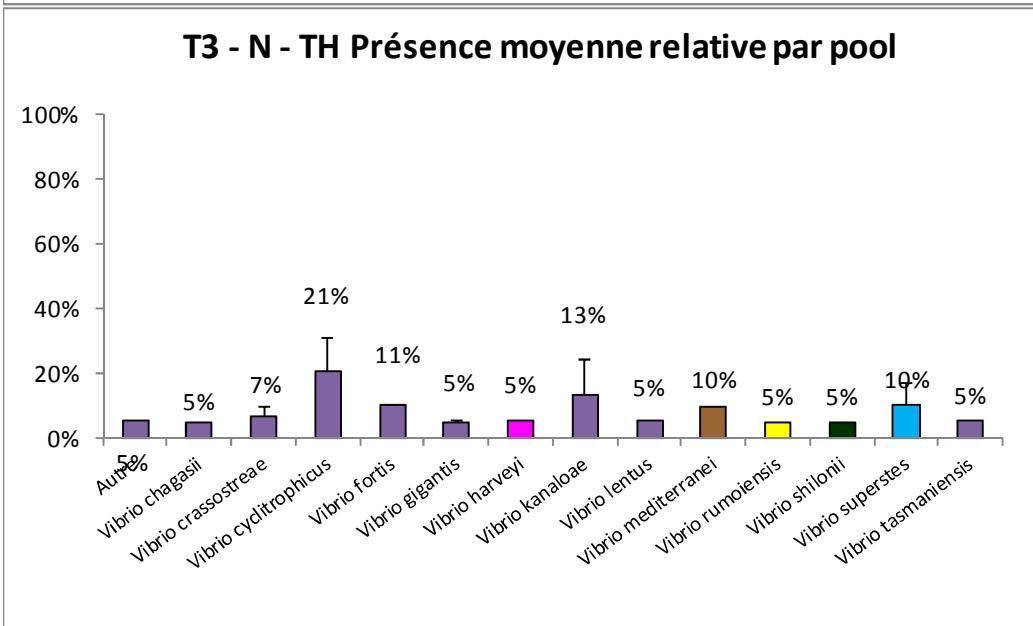
Distribution des souches  
Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



Distribution des souches  
Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches  
Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de THAU – T4

Date d'échantillonnage : 8 décembre 2014

2 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe Splendidus	73 %
Groupe Halioticoli	2 %
Non identifié	24 %

9 souches identifiées
Autre
<b>Vibrio crassostreae</b>
<b>Vibrio cyclitrophicus</b>
<b>Vibrio gigantis</b>
<b>Vibrio kanaloae</b>
<b>Vibrio lentinus</b>
<b>Vibrio splendidus</b>
<b>Vibrio tasmaniensis</b>
<b>Vibrio superstes</b>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 75% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

2 groupes de vibrions sont représentés, le groupe Splendidus majoritaire à 76%.

### Diversité des souches observées :

9 espèces sont observées, dont 8 du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

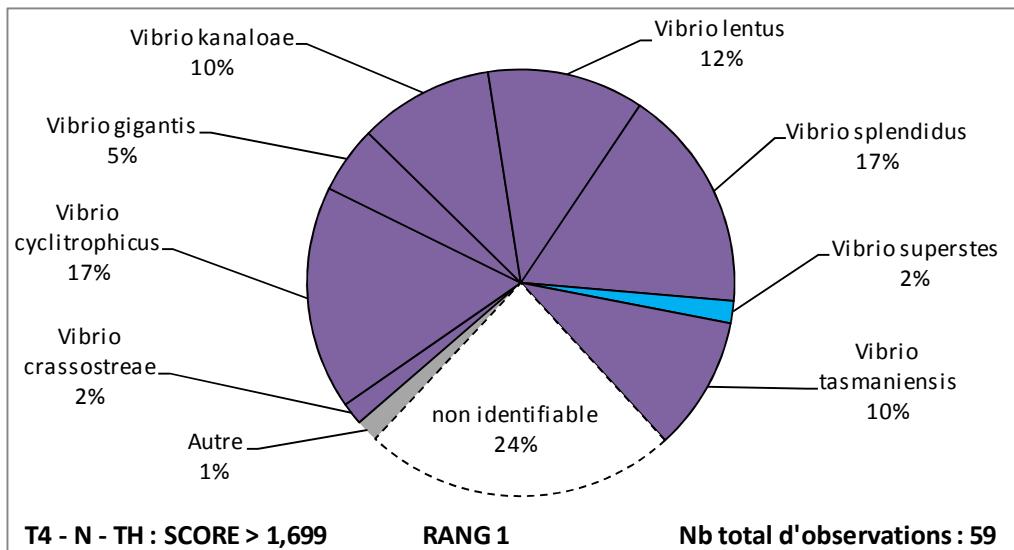
5 espèces sont majoritaires : *V. cyclitrophicus*, *V. kanaloae*, *V. lentinus*, *V. splendidus* et *V. tasmaniensis*.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

Ces espèces majoritaires représentent respectivement en moyenne 17%, 10%, 12%, 17% et 10% des colonies analysées.

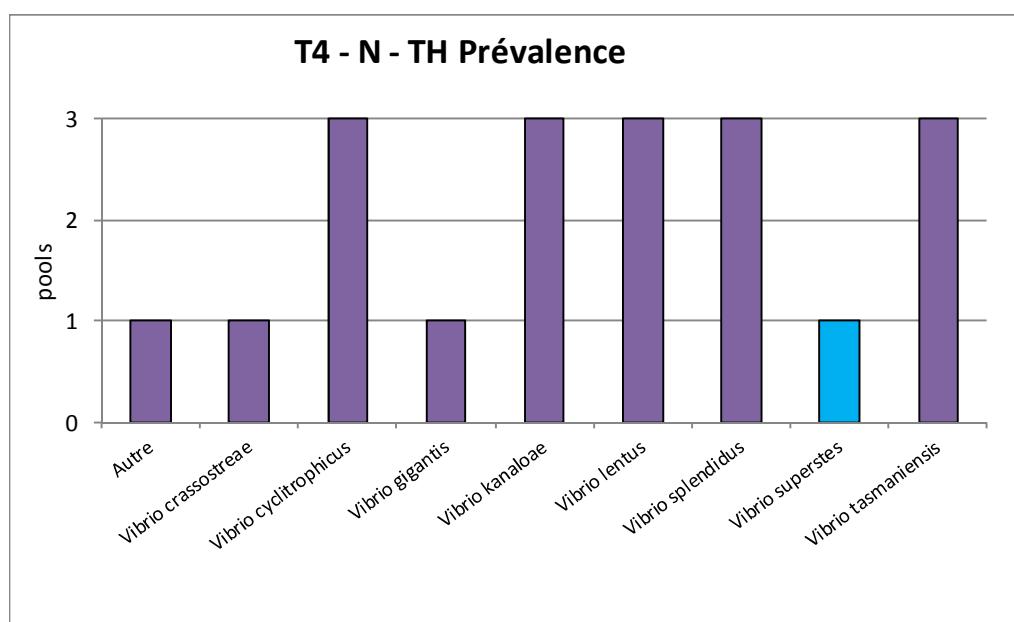
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



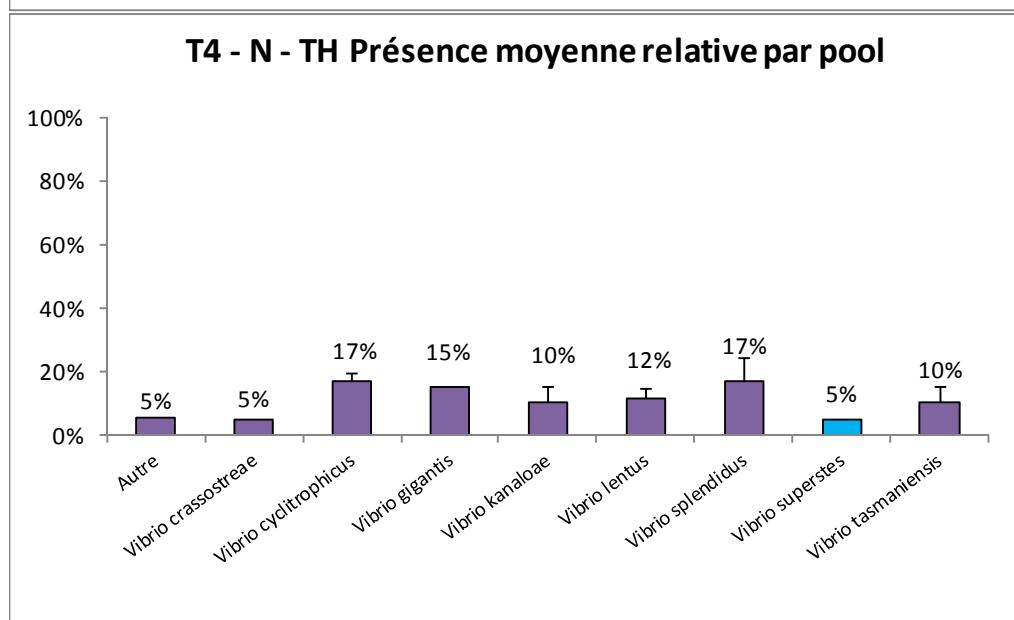
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de LA MORTANNE – T1

Date d'échantillonnage 13 mai 2014

1 Groupe familles Vibrio représenté - proportion	
Groupe Splendidus	42 %
Non identifié	58 %

5 souches observées
<b>Vibrio cyclitrophicus</b>
<b>Vibrio kanaloae</b>
<b>Vibrio lentus</b>
<b>Vibrio splendidus</b>
<b>Vibrio tasmaniensis</b>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 42% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

Seul le groupe Splendidus est représenté.

### Diversité des souches observées :

5 espèces sont observées, toutes du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

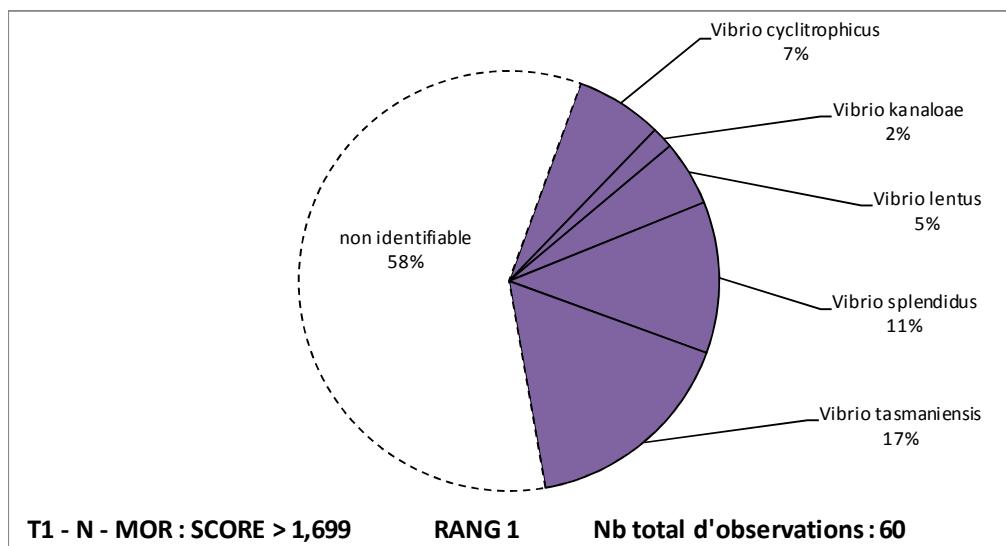
2 espèces sont majoritaires : *V. cyclitrophicus* et *V.tasmaniensis*.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

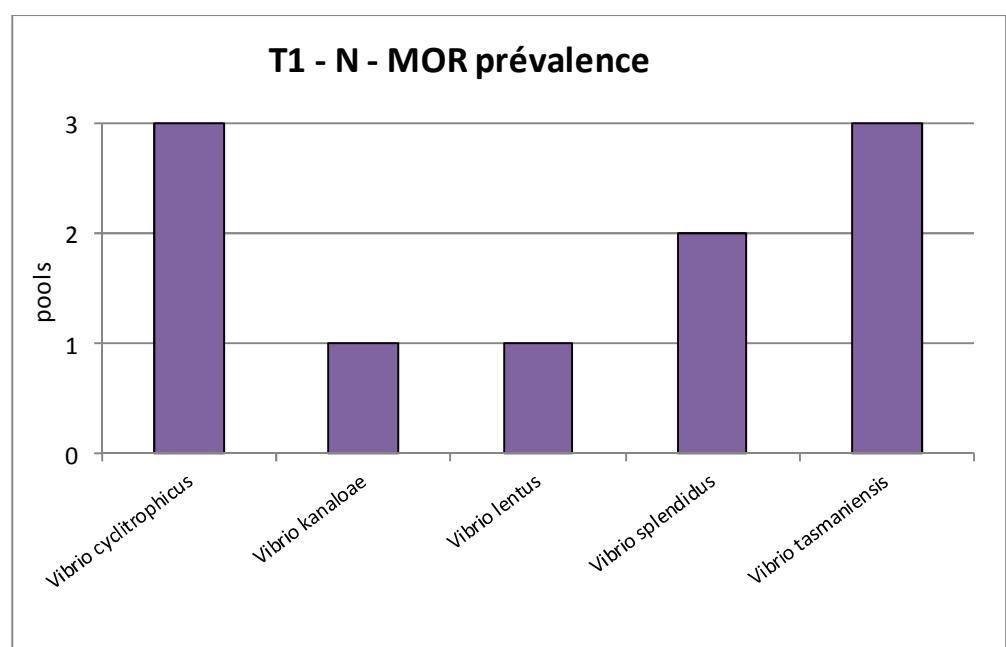
*V. cyclitrophicus* représente en moyenne 7% des colonies analysées.

*V. tasmaniensis* représente en moyenne 17% des colonies analysées.

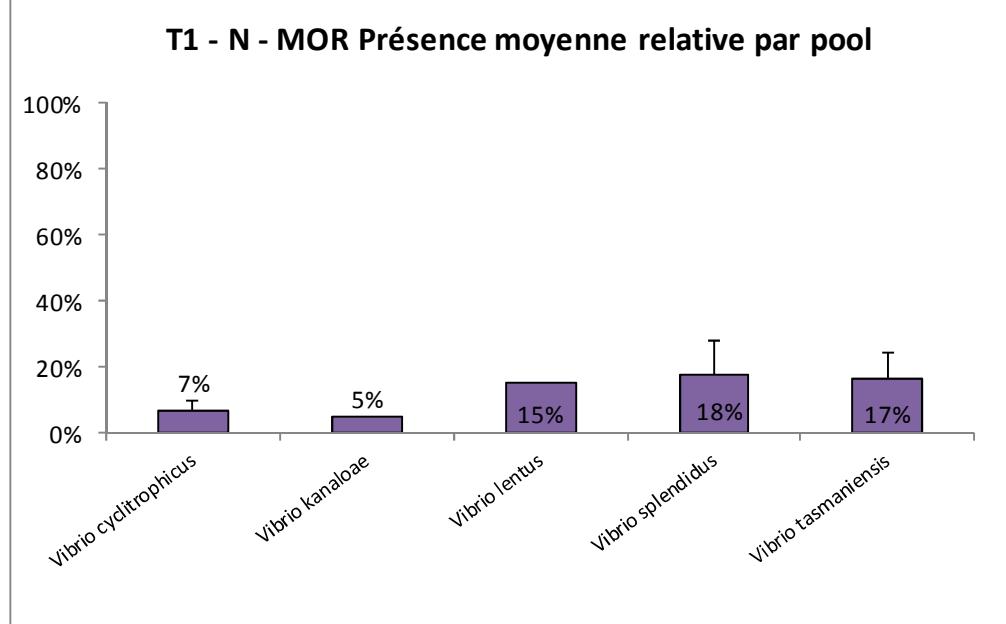
Distribution des souches  
Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



Distribution des souches  
Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches  
Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de LA MORTANNE – T2

Date d'échantillonnage : 26 mai 2014

1 Groupe familles Vibrio représenté - proportion	
Groupe Splendidus	40 %
Non identifié	56 %

4 souches observées
Autre
<b>Vibrio cyclotrophicus</b>
<b>Vibrio splendidus</b>
<b>Vibrio tasmaniensis</b>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 40% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

Seul le groupe Splendidus est représenté.

### Diversité des souches observées :

4 espèces sont observées, dont 3 du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

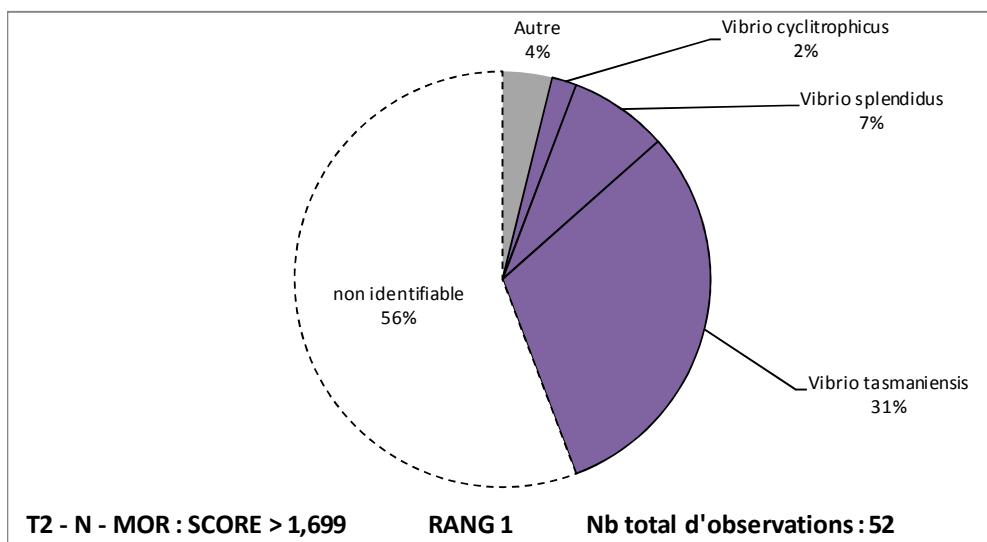
1 espèce est majoritaire : *V.tasmaniensis*.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

*V. tasmaniensis* représente en moyenne 30% des colonies analysées.

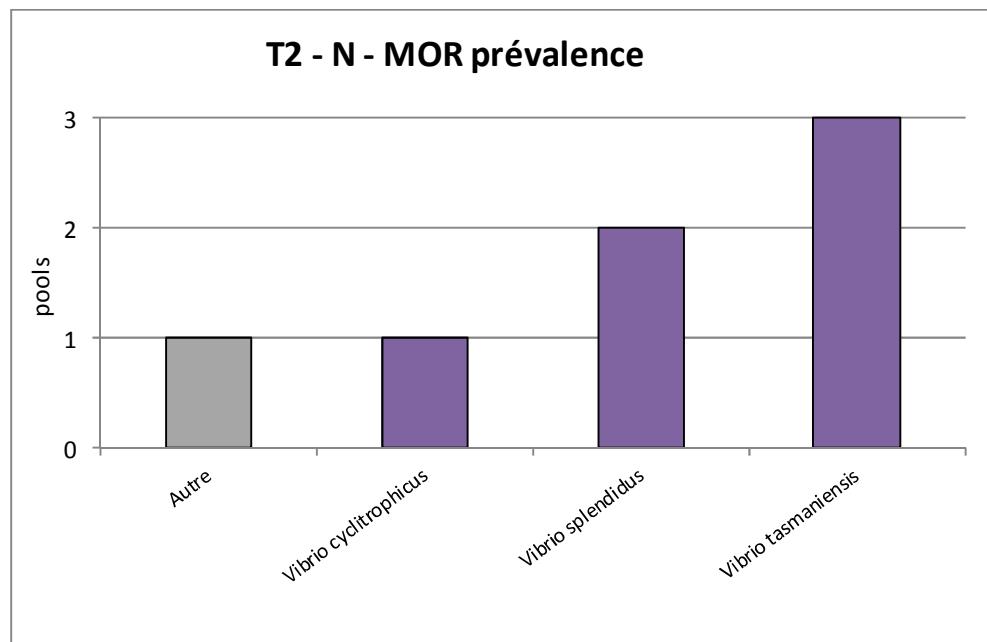
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



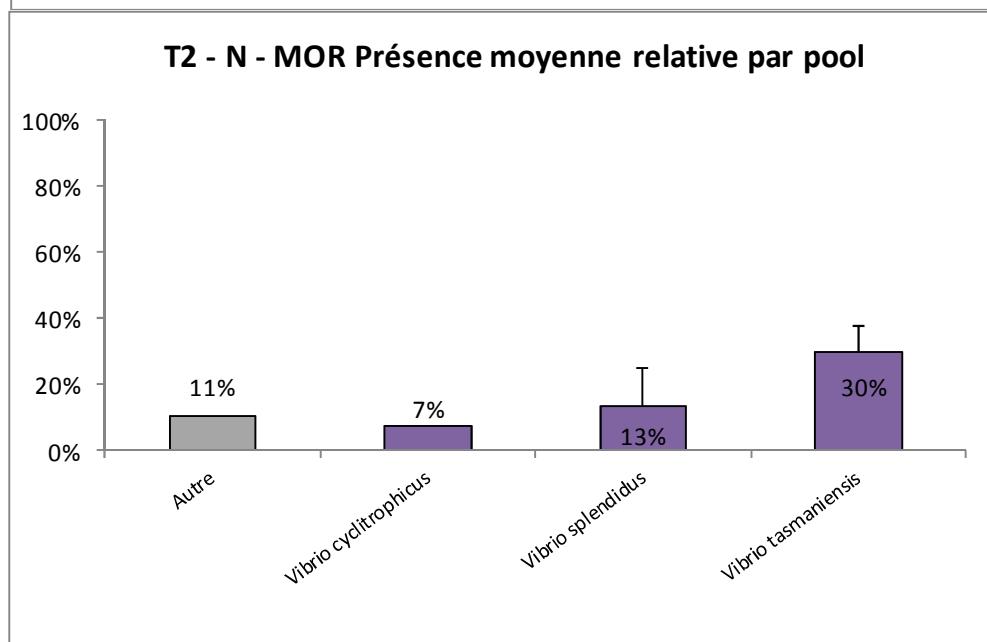
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de LA MORTANNE – T3

Date d'échantillonnage : 26 août 2014

2 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe Anguillarum	17 %
Groupe Splendidus	30 %
Non identifié	53 %

5 souches observées
<b>Vibrio aestuarianus</b>
<b>Vibrio crassostreae</b>
<b>Vibrio cyclitrophicus</b>
<b>Vibrio fortis</b>
<b>Vibrio chagasicii</b>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 47% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

2 groupes de vibrions sont observés, le groupe Splendidus étant majoritaire à 64%. Notons la présence du groupe Anguillarum.

### Diversité des souches observées :

5 espèces sont observées, toutes du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

1 espèce est majoritaire : *V. cyclitrophicus*.

*V. aestuarianus* n'est présent que dans 1 pools /3.

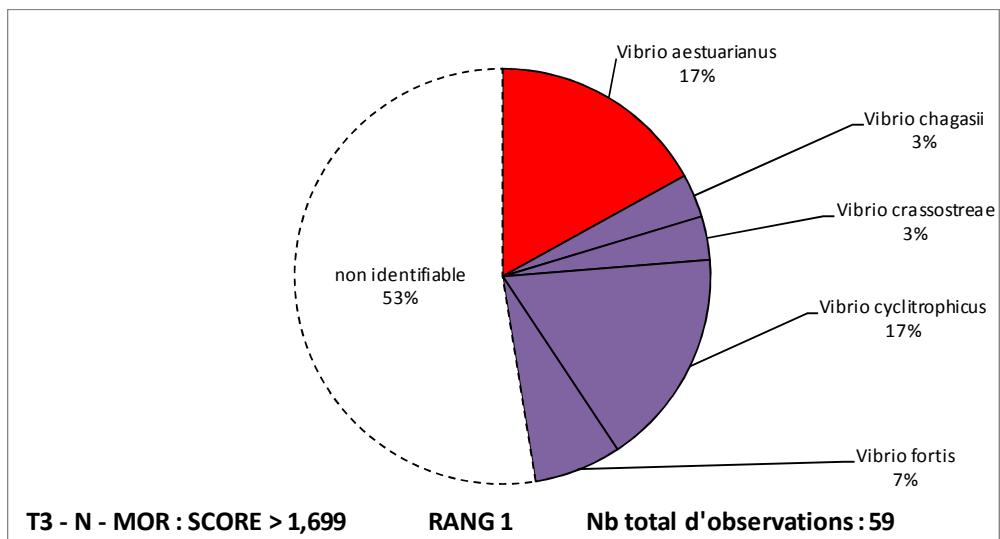
### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

*V. cyclitrophicus* représente en moyenne 17% des colonies analysées.

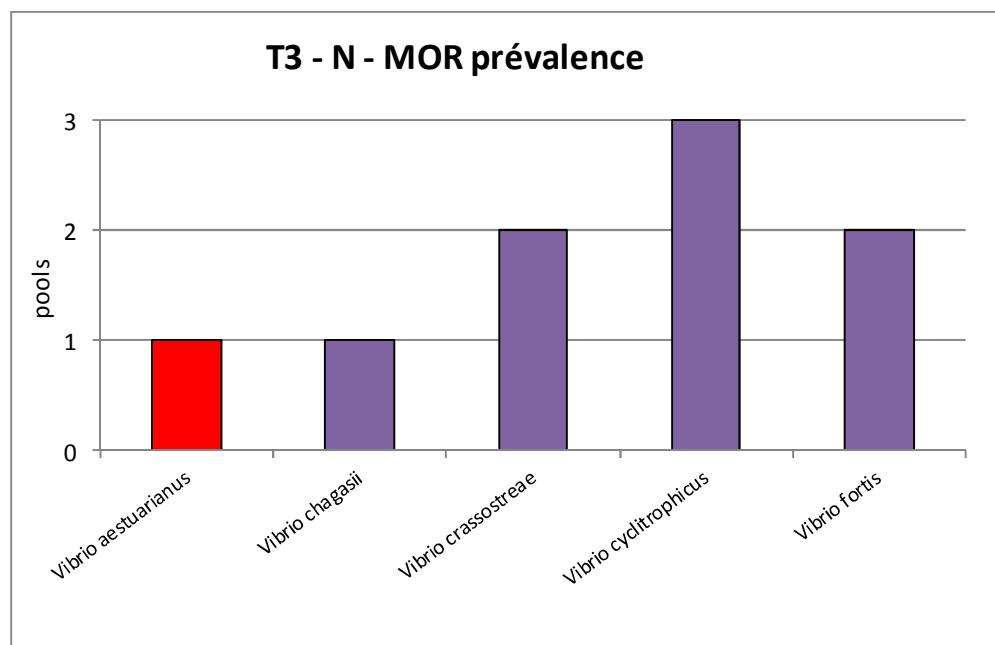
*V. aestuarianus* représente 50% des colonies observées dans un pool.

Distribution des souches

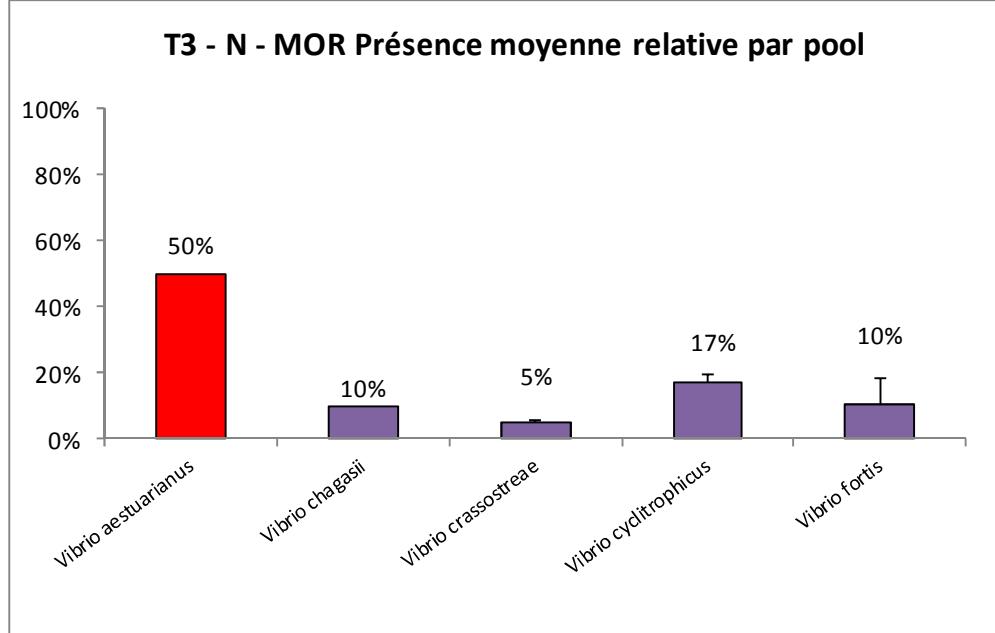
Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



Distribution des souches  
Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches  
Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de LA MORTANNE – T4

Date d'échantillonnage : 24 novembre 2014

1 Groupe familles Vibrio représenté - proportion	
Groupe Splendidus	37 %
Non identifié	63 %

7 souches observées
<i>Vibrio crassostreae</i>
<i>Vibrio cyclotrophicus</i>
<i>Vibrio gigantis</i>
<i>Vibrio kanaloae</i>
<i>Vibrio lentinus</i>
<i>Vibrio splendidus</i>
<i>Vibrio tasmaniensis</i>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 37% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

Seul le groupe Splendidus est représenté.

### Diversité des souches observées :

7 espèces sont observées, toutes du genre *Vibrio*.

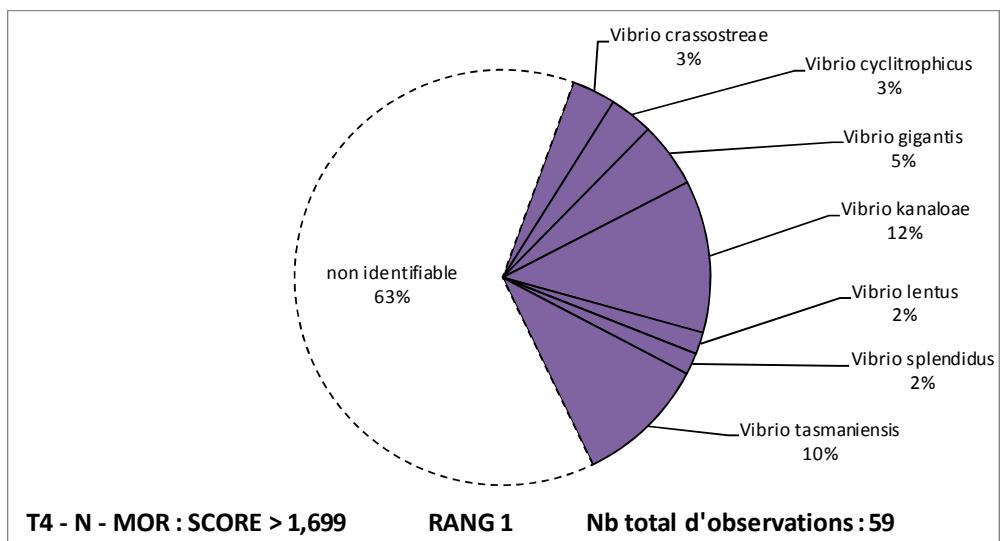
### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

1 espèce est majoritaire : *V.tasmaniensis*.

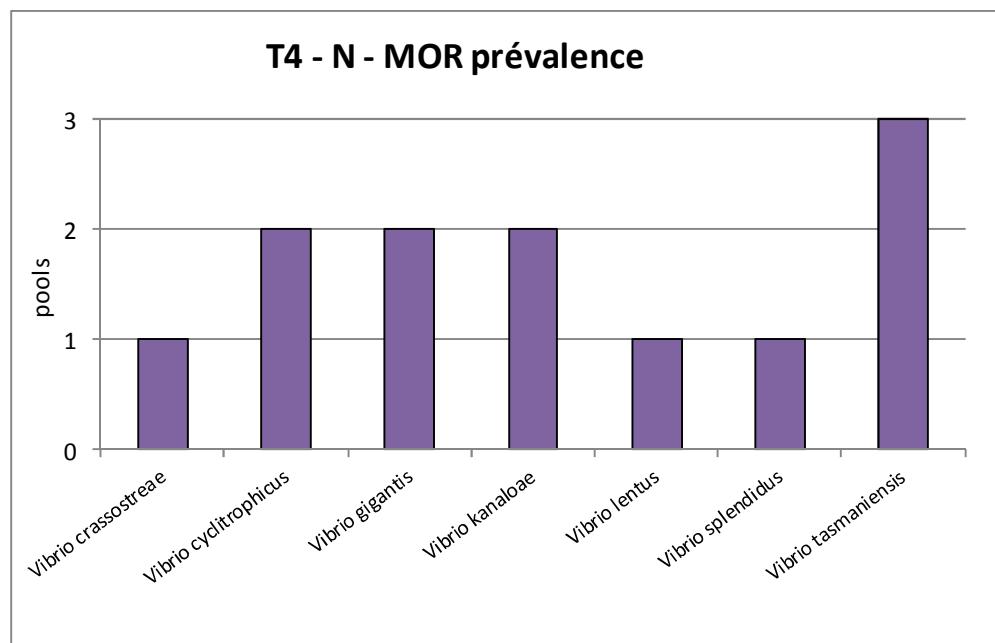
### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

*V. tasmaniensis* représente en moyenne 10% des colonies analysées.

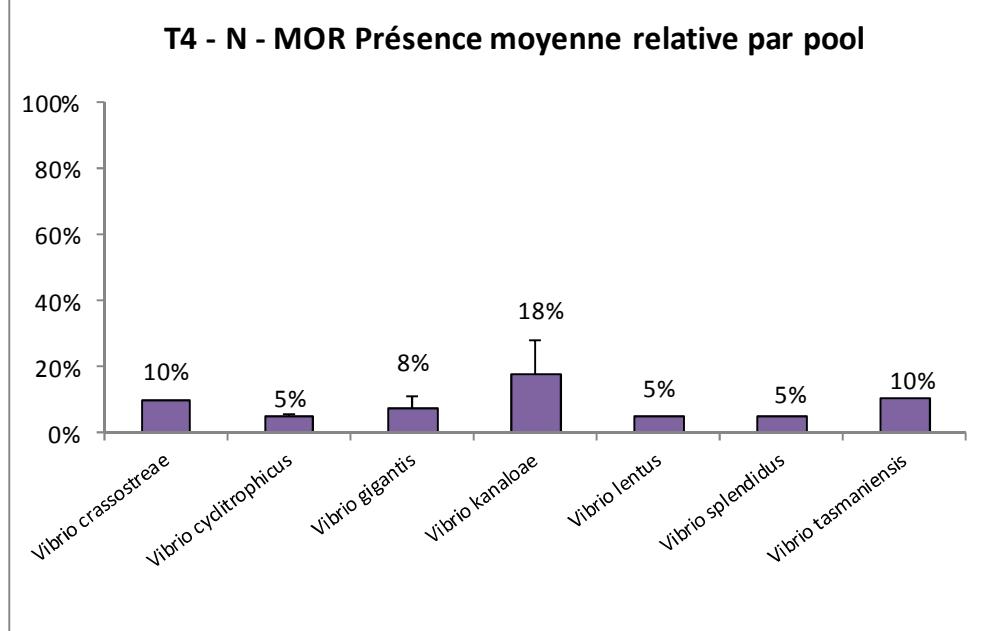
Distribution des souches  
Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



Distribution des souches  
Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches  
Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de LA FLOTTE – T1

Date d'échantillonnage : 14 mai 2014

2 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe Splendidus	66 %
Groupe Halioticoli	3 %
Non identifié	31 %

8 souches observées
<i>Vibrio crassostreae</i>
<i>Vibrio cyclitrophicus</i>
<i>Vibrio gigantis</i>
<i>Vibrio kanaloae</i>
<i>Vibrio lentinus</i>
<i>Vibrio splendidus</i>
<i>Vibrio tasmaniensis</i>
<i>Vibrio superstes</i>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 69% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

2 groupes sont représentés, le groupe Splendidus étant majoritaire à 96%.

### Diversité des souches observées :

8 espèces sont observées, toutes du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

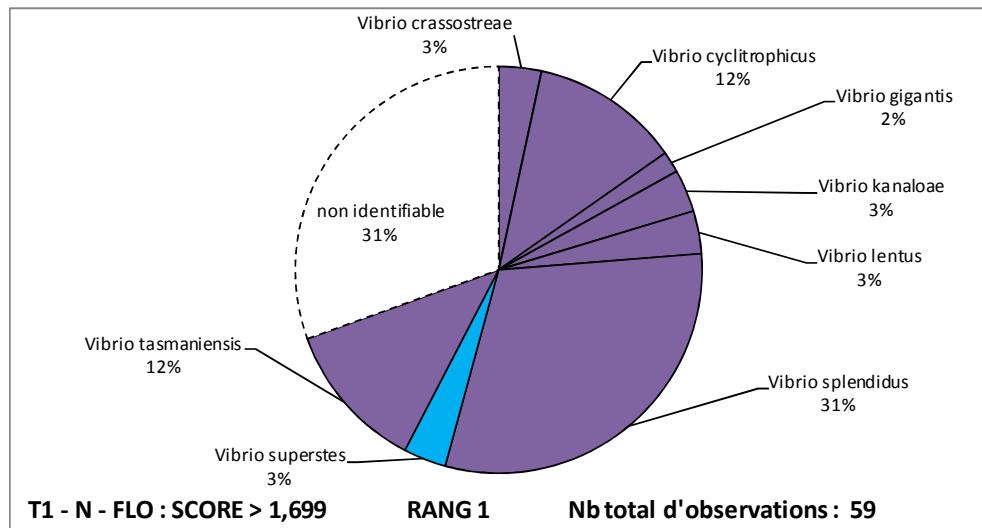
3 espèces sont majoritaires : *V. cyclitrophicus*, *V. splendidus* et *V.tasmaniensis*.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

Ces espèces représentent en moyenne respectivement 12%, 30% et 12% des colonies analysées.

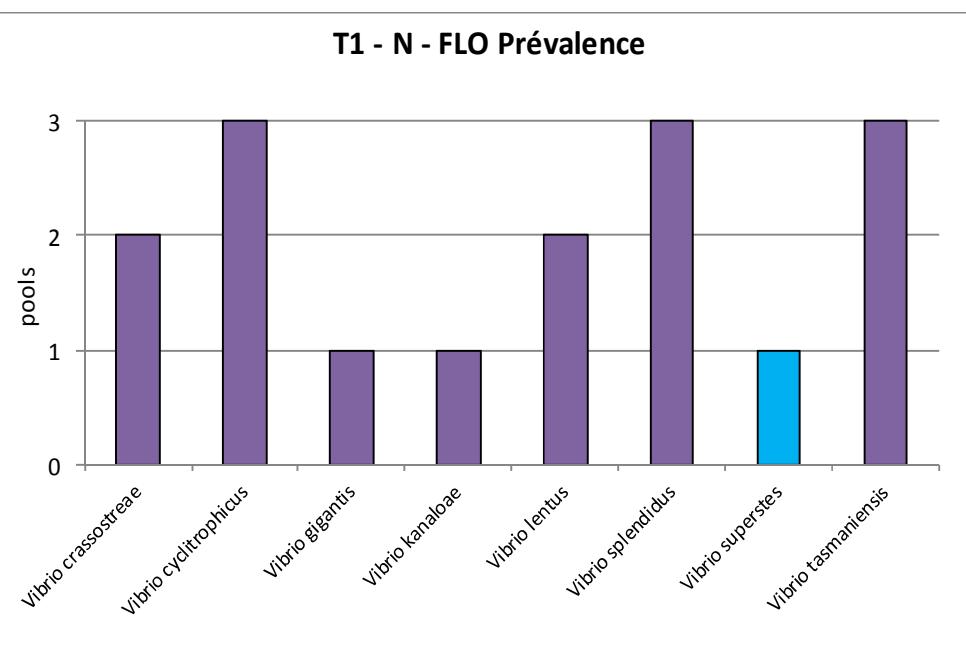
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



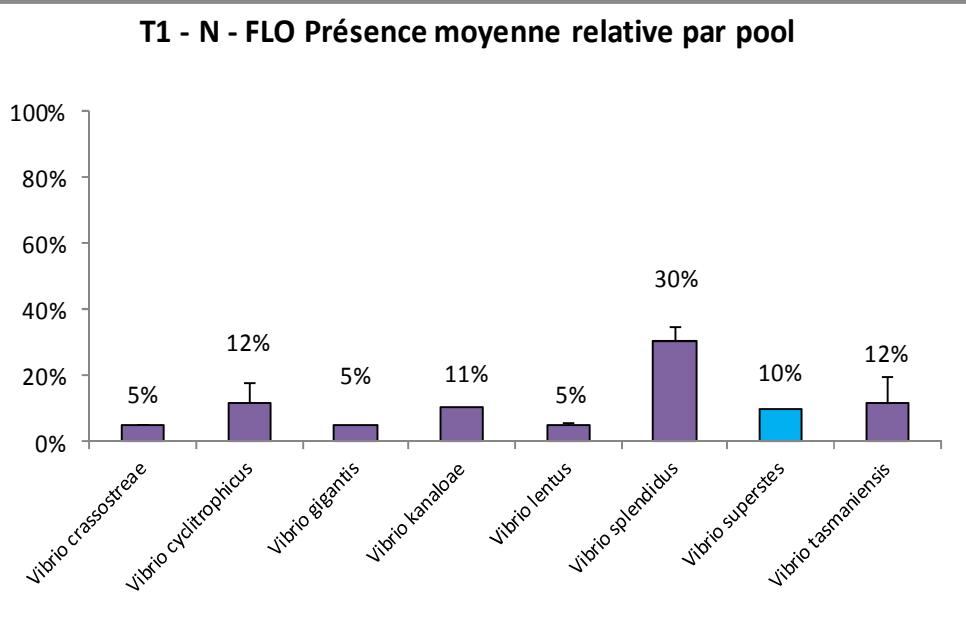
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de LA FLOTTE – T2

Date d'échantillonnage : 26 mai 2014

2 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe Splendidus	34 %
Groupe Halioticoli	2 %
Non identifié	64 %

6 souches observées
<i>Vibrio cyclitrophicus</i>
<i>Vibrio kanaloae</i>
<i>Vibrio lentus</i>
<i>Vibrio splendidus</i>
<i>Vibrio tasmaniensis</i>
<i>Vibrio superstes</i>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 36% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

2 groupes sont représentés, le groupe Splendidus étant majoritaire à 94%.

### Diversité des souches observées :

6 espèces sont observées, toutes du genre *Vibrio*.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

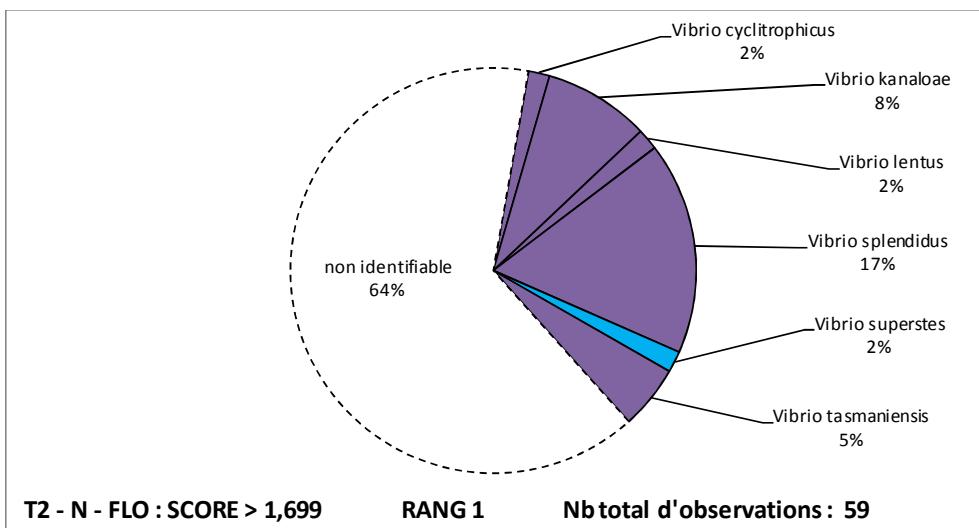
1 espèce est majoritaire : *V.tasmaniensis*.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

*V. tasmaniensis* représente en moyenne 5% des colonies analysées.

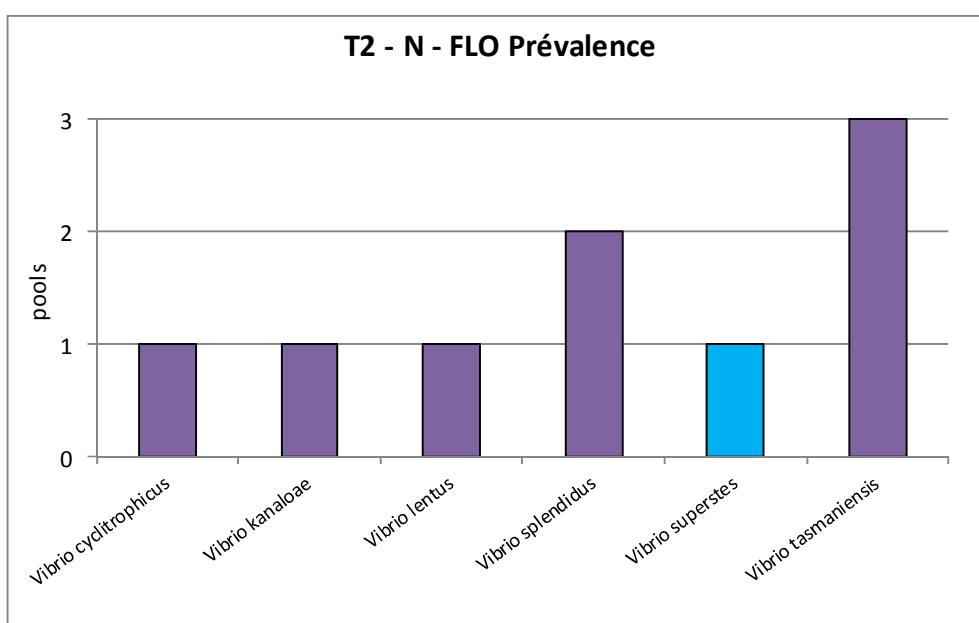
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



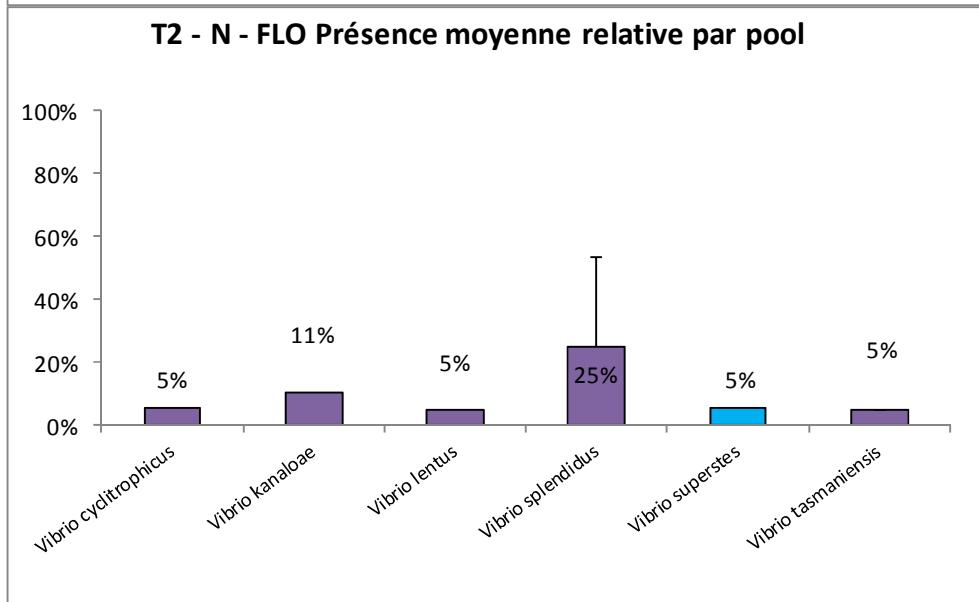
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de LA FLOTTE – T3

Date d'échantillonnage : 26 août 2014

2 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe Splendidus	16 %
Groupe Halioticoli	8 %
Non identifié	76 %

4 souches identifiées
<i>Vibrio cyclitrophicus</i>
<i>Vibrio fortis</i>
<i>Vibrio kanaloae</i>
<i>Vibrio superstes</i>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 24% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

2 groupes sont représentés, le groupe Splendidus étant majoritaire à 67%.

### Diversité des souches observées :

4 espèces sont observées, toutes du genre *Vibrio*.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

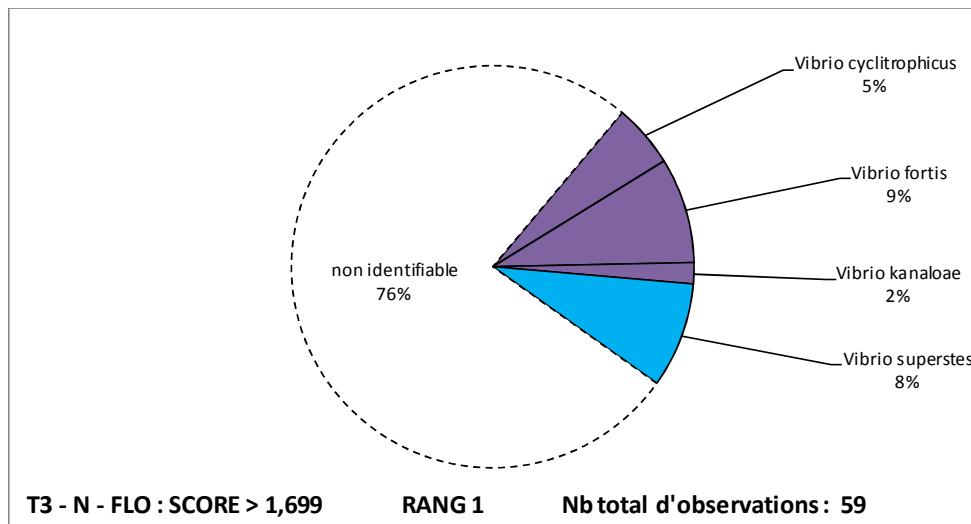
2 espèces sont majoritaires : *V. cyclitrophicus* et *V. fortis*.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

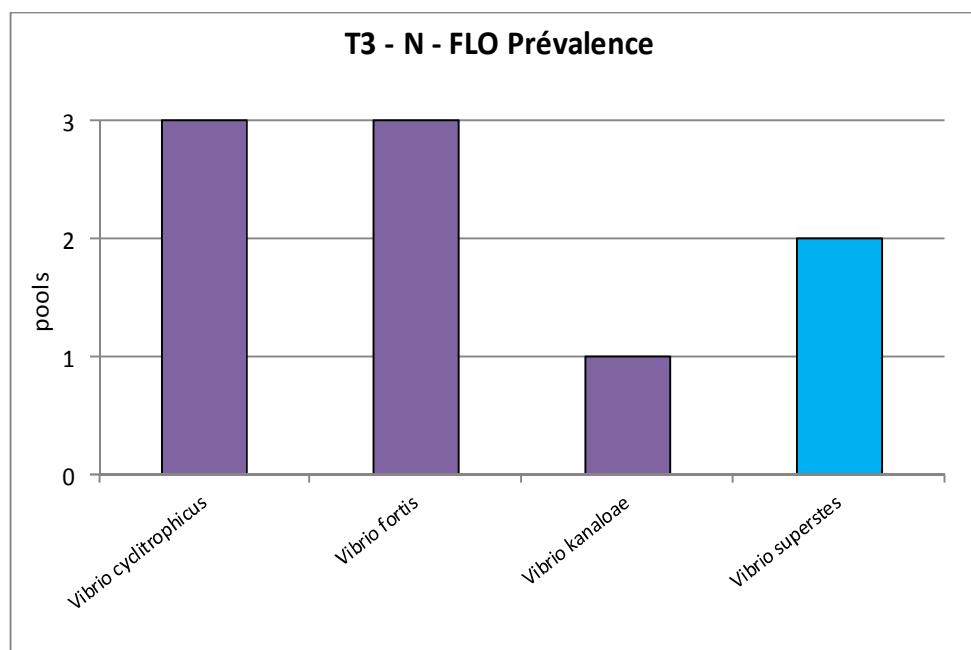
*V. cyclitrophicus* représente en moyenne 5% des colonies analysées.

*V. fortis* représente en moyenne 9% des colonies analysées.

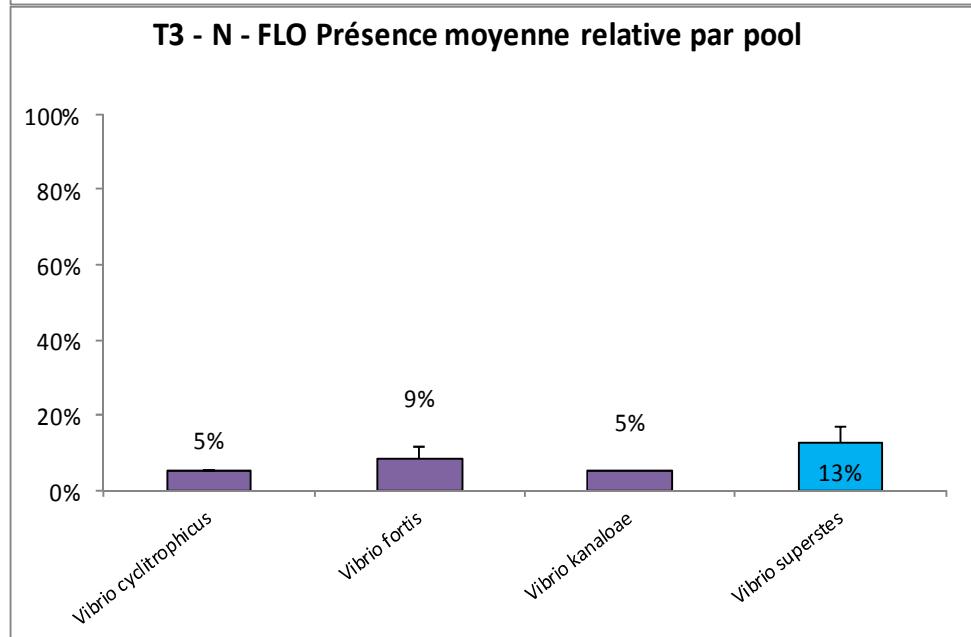
Distribution des souches  
Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



Distribution des souches  
Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches  
Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de LA FLOTTE – T4

Date d'échantillonnage : 24 novembre 2014

1 Groupe familles Vibrio représenté - proportion	
Groupe Splendidus	15 %
Non identifié	76 %

8 souches observées
Autre
<b>Vibrio tapetis</b>
<b>Vibrio crassostreae</b>
<b>Vibrio cyclitrophicus</b>
<b>Vibrio gigantis</b>
<b>Vibrio kanaloae</b>
<b>Vibrio lentus</b>
<b>Vibrio splendidus</b>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 15% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

Le groupe Splendidus est majoritaire à 75%. Notons la présence de *V. tapetis*.

### Diversité des souches observées :

8 espèces sont observées, dont 7 du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

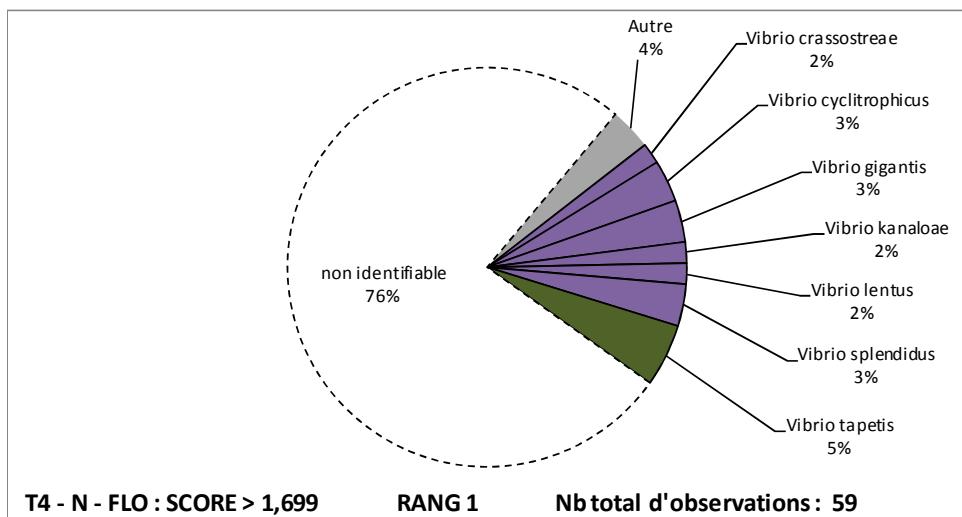
Aucune espèce n'est majoritaire : *V. splendidus* et *V. tapetis* sont retrouvées dans 2 pools sur 3.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

Ces deux espèces représentent en moyenne respectivement 5% et 8% des colonies analysées.

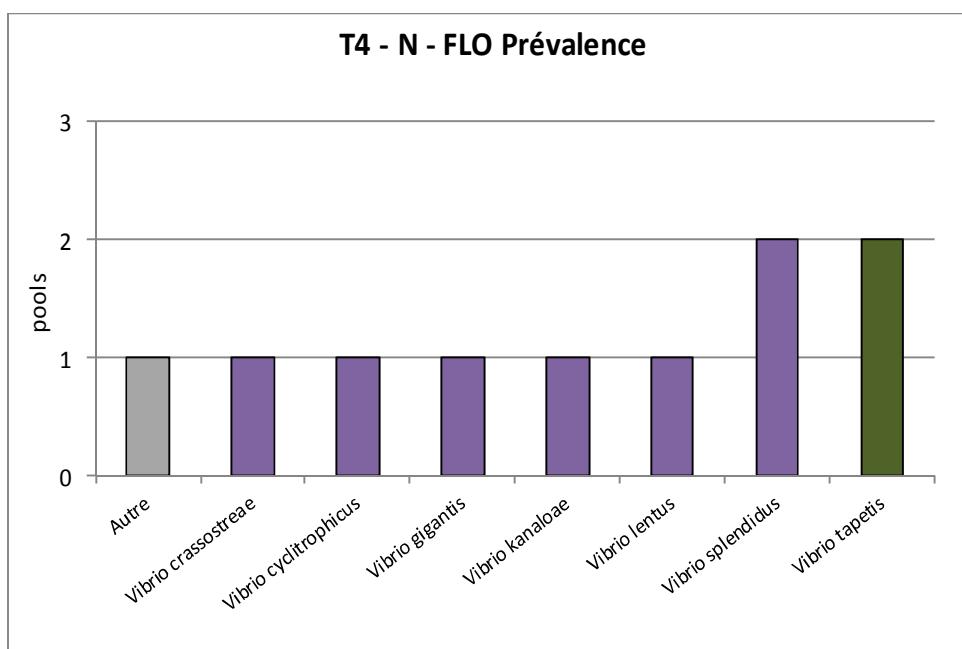
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



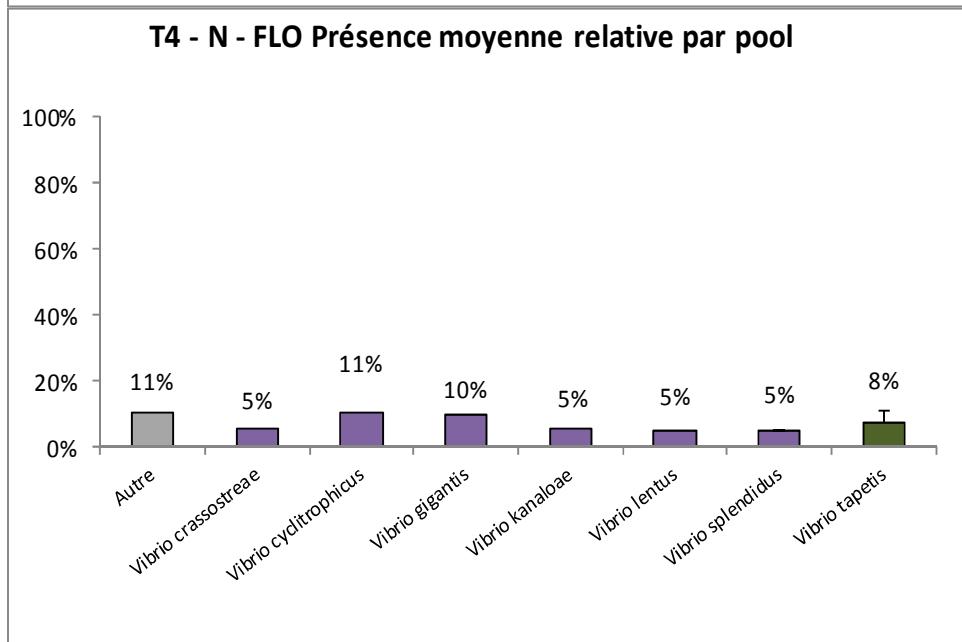
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de LA BERNERIE – T2

Date d'échantillonnage : 14 mai 2014

1 Groupe familles Vibrio représenté - proportion	
Groupe Splendidus	38 %
Non identifié	62 %

4 souches observées
<i>Vibrio cyclitrophicus</i>
<i>Vibrio kanaloae</i>
<i>Vibrio splendidus</i>
<i>Vibrio tasmaniensis</i>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 38% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

Seul le groupe Splendidus est représenté.

### Diversité des souches observées :

4 espèces sont observées, toutes du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

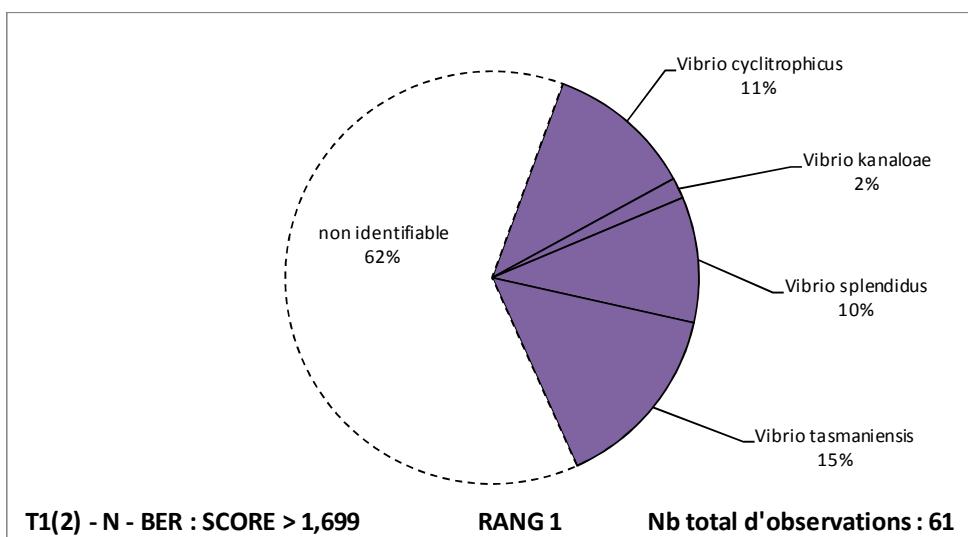
2 espèces sont majoritaires : *V. cyclitrophicus* et *V. splendidus*.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

Ces deux espèces représentent en moyenne respectivement 11% et 10% des colonies analysées.

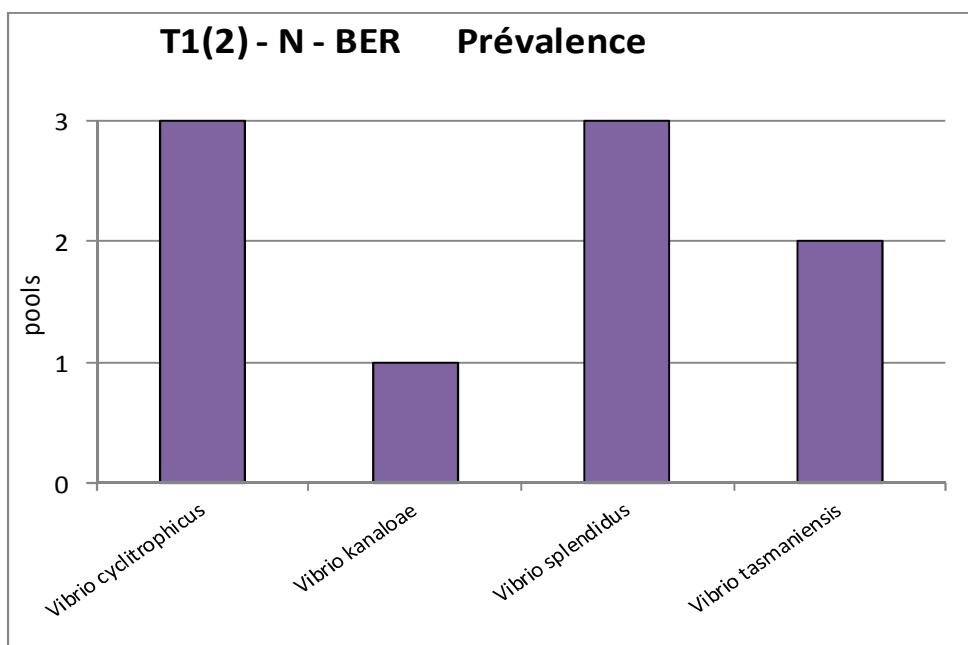
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



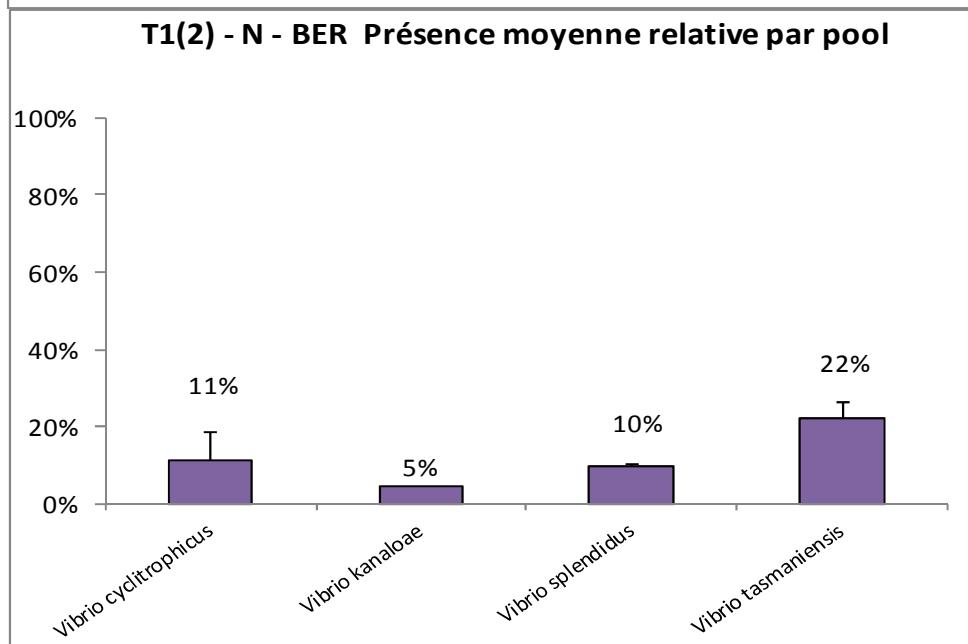
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de LA BERNERIE – T3

Date d'échantillonnage : 12 août 2014

3 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe Splendidus	17 %
Groupe Harveyi	9 %
Groupe Nereis	3 %
Non identifié	71 %

8 souches observées
Vibrio crassostreae
Vibrio cyclitrophicus
Vibrio fortis
Vibrio gigantis
Vibrio Kanaloae
Vibrio campbelli
Vibrio rotiferuanus
Vibrio nereis

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 29% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

3 groupes sont représentés, le groupe Splendidus étant majoritaire à 59%.

### Diversité des souches observées :

8 espèces sont observées, toutes du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

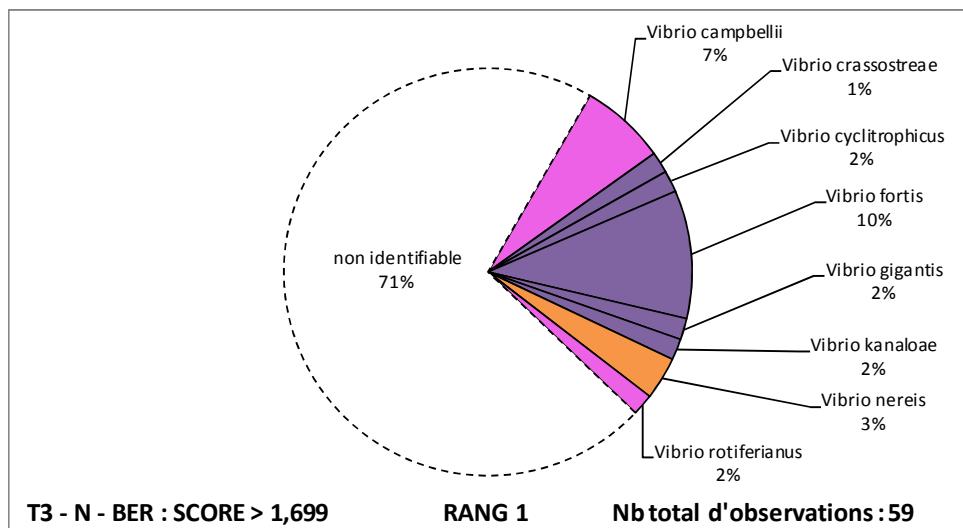
1 espèce est majoritaire : *V. fortis*.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

*V. fortis* représente en moyenne 10% des colonies analysées.

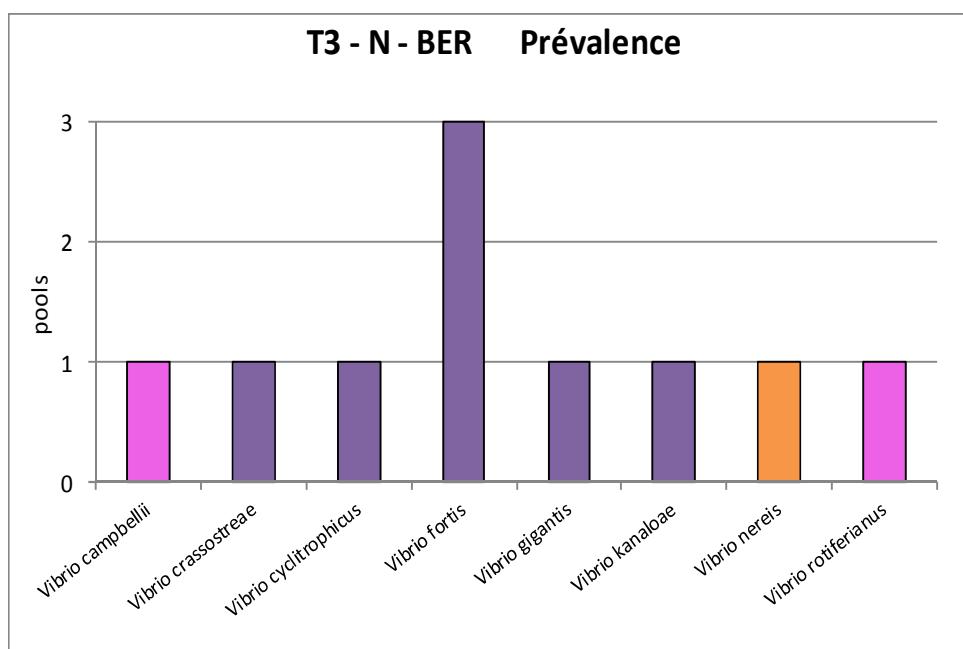
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



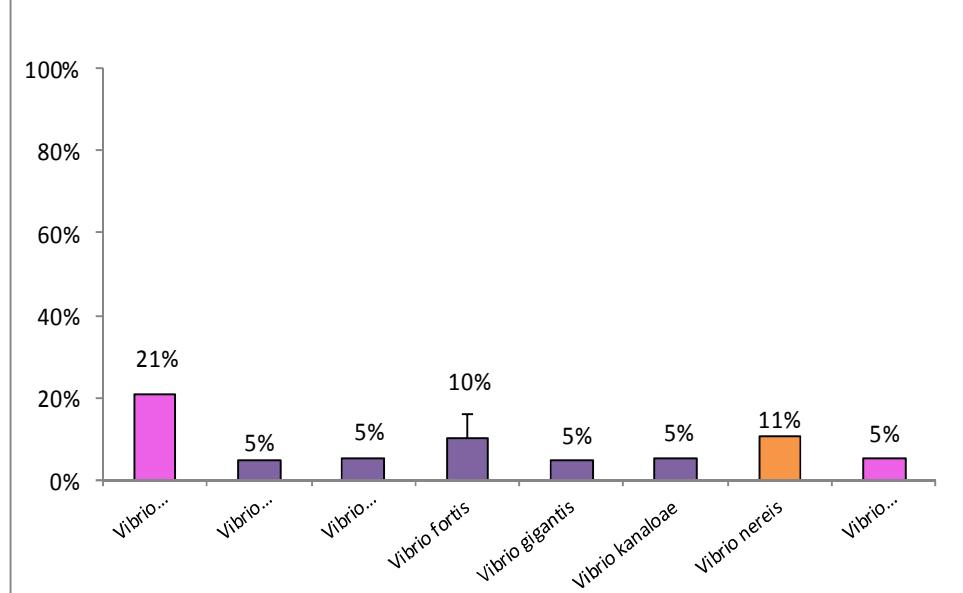
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de LA BERNERIE – T4

Date d'échantillonnage : 25 novembre 2014

1 Groupe familles Vibrio représenté - proportion	
Groupe Splendidus	30 %
Non identifié	70 %

6 souches observées
<i>Vibrio crassostreae</i>
<i>Vibrio cyclotrophicus</i>
<i>Vibrio kanaloae</i>
<i>Vibrio lentus</i>
<i>Vibrio splendidus</i>
<i>Vibrio tasmaniensis</i>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 30% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

Seul le groupe Splendidus est représenté.

### Diversité des souches observées :

6 espèces sont observées, toutes du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

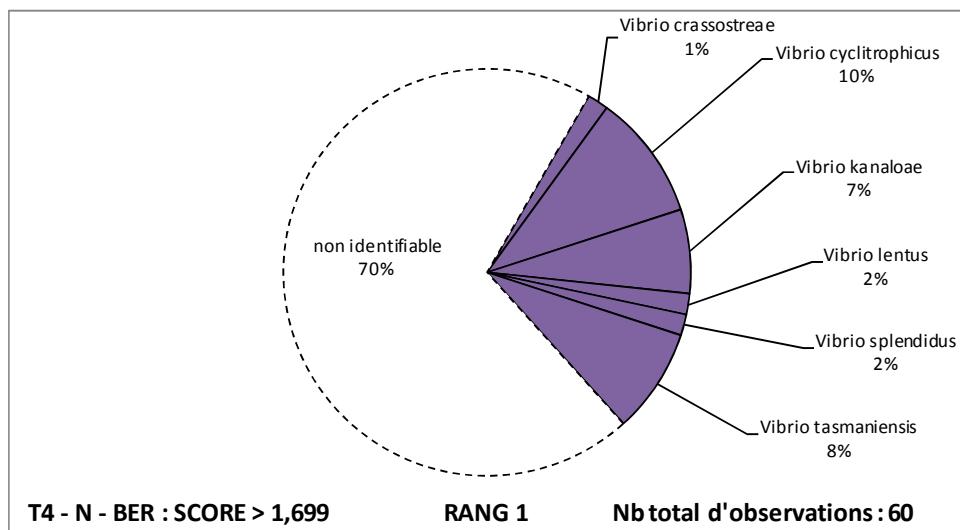
1 espèce est majoritaire : *V.tasmaniensis*.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

*V. tasmaniensis* représente en moyenne 8% des colonies analysées.

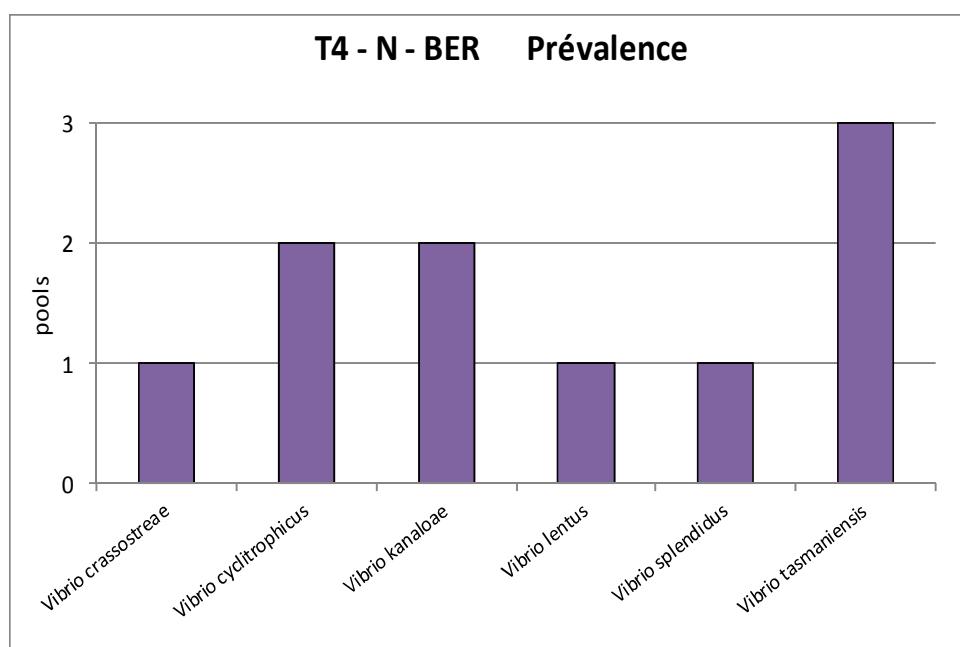
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



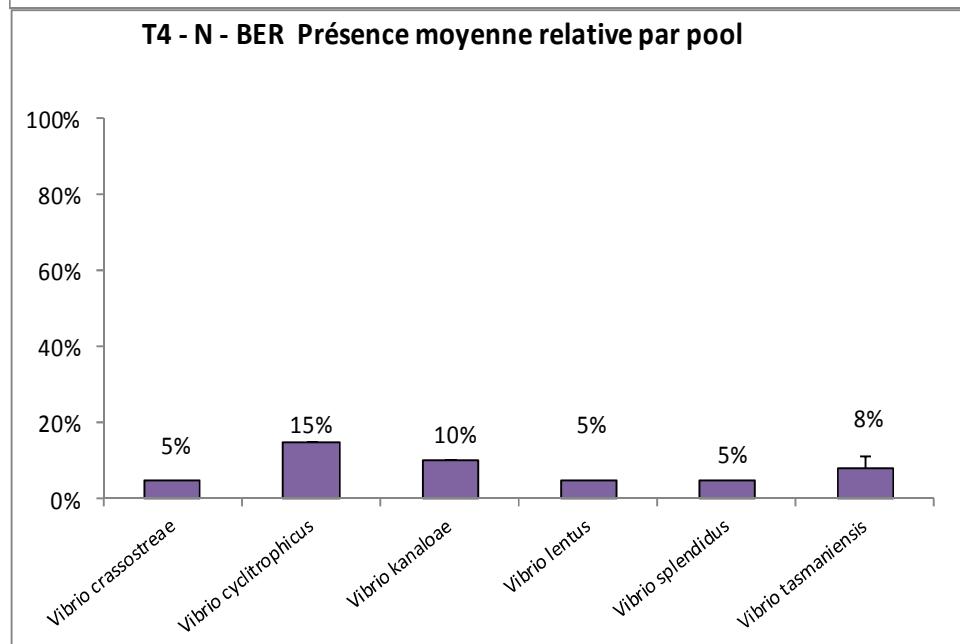
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de BLAINVILLE – T1

Date d'échantillonnage : 26 mai 2014

2 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe Splendidus	22 %
Groupe Halieticoli	1 %
Non identifié	75 %

5 souches observées
Autre
Vibrio kanaloae
Vibrio splendidus
Vibrio tasmaniensis
Vibrio superstes

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 23% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

2 groupes sont représentés, le groupe Splendidus étant majoritaire à 96%.

### Diversité des souches observées :

5 espèces sont observées, dont 4 du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

2 espèces sont majoritaires : *V. kanaloae* et *V. splendidus*.

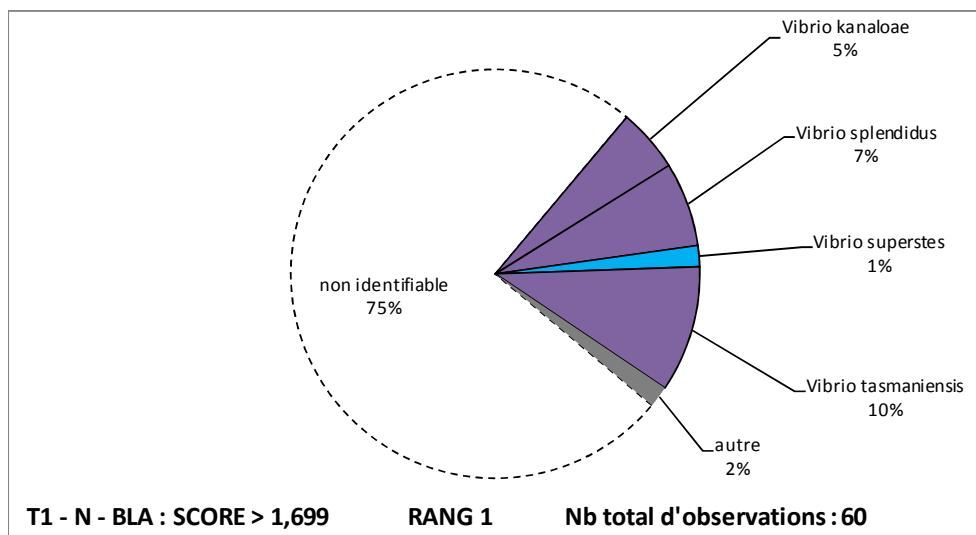
### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

*V. kanaloae* représente en moyenne 5% des colonies analysées.

*V. splendidus* représente en moyenne 7% des colonies analysées

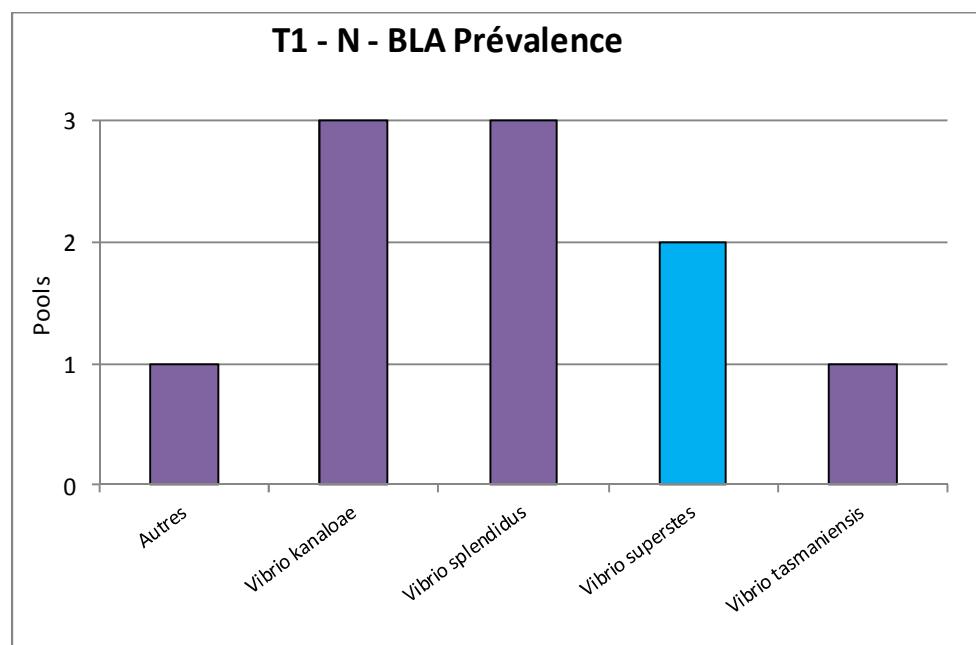
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



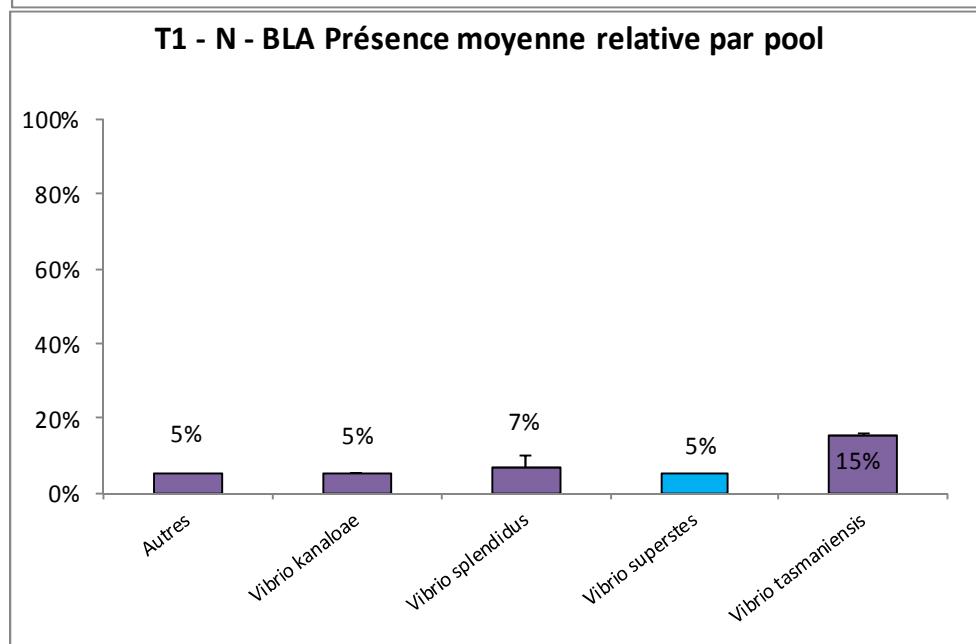
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de BLAINVILLE – T2

Date d'échantillonnage : 12 juin 2014

3 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe <i>Anguillarum</i>	25 %
Groupe <i>Splendidus</i>	20 %
Groupe <i>pepticulicida</i>	2 %
Non identifié	53 %

8 souches observées
<i>Vibrio aestuarianus</i>
<i>Vibrio crassostreae</i>
<i>Vibrio gigantis</i>
<i>Vibrio kanaloae</i>
<i>Vibrio lentus</i>
<i>Vibrio splendidus</i>
<i>Vibrio tasmaniensis</i>
<i>Vibrio pepticulicida</i>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 47% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

3 groupes sont représentés, le groupe *Anguillarum* étant majoritaire à 53%.

### Diversité des souches observées :

8 espèces sont observées, toutes du genre *Vibrio*.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

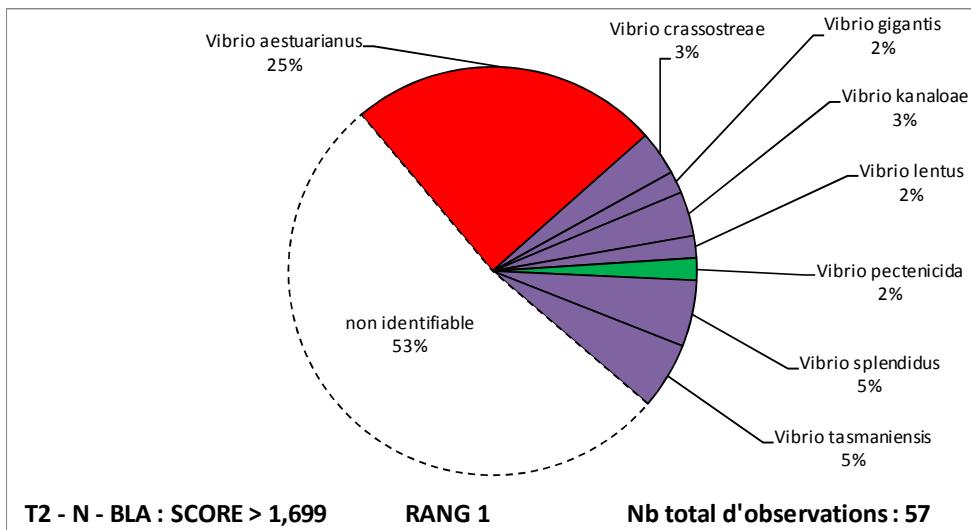
Aucune espèce n'est majoritaire : *V. crassostreae* est retrouvé dans 2 pools sur 3, *V. aestuarianus* dans un seul.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

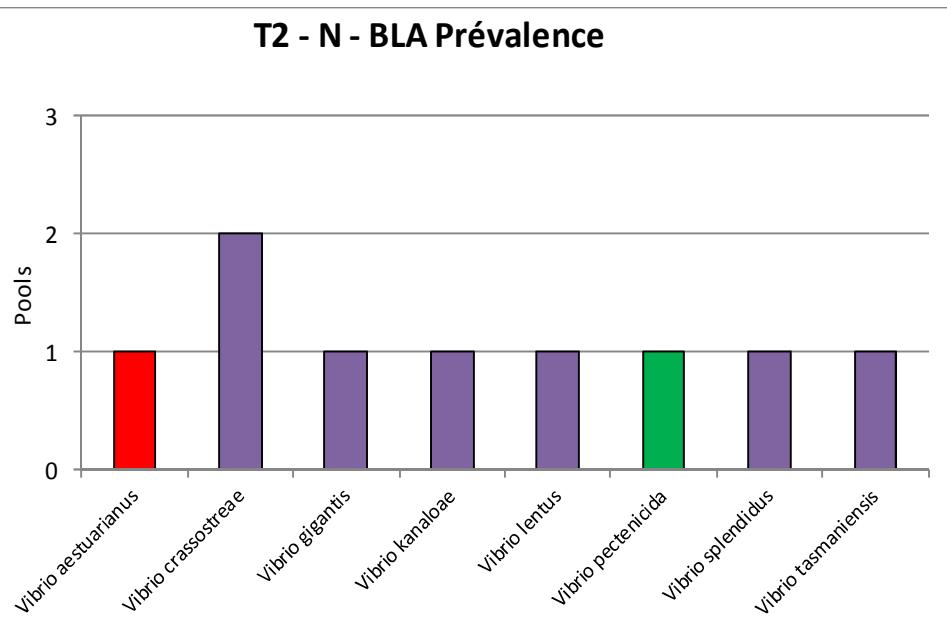
*V. aestuarianus* représente 70% des colonies analysées dans un pool.

Distribution des souches

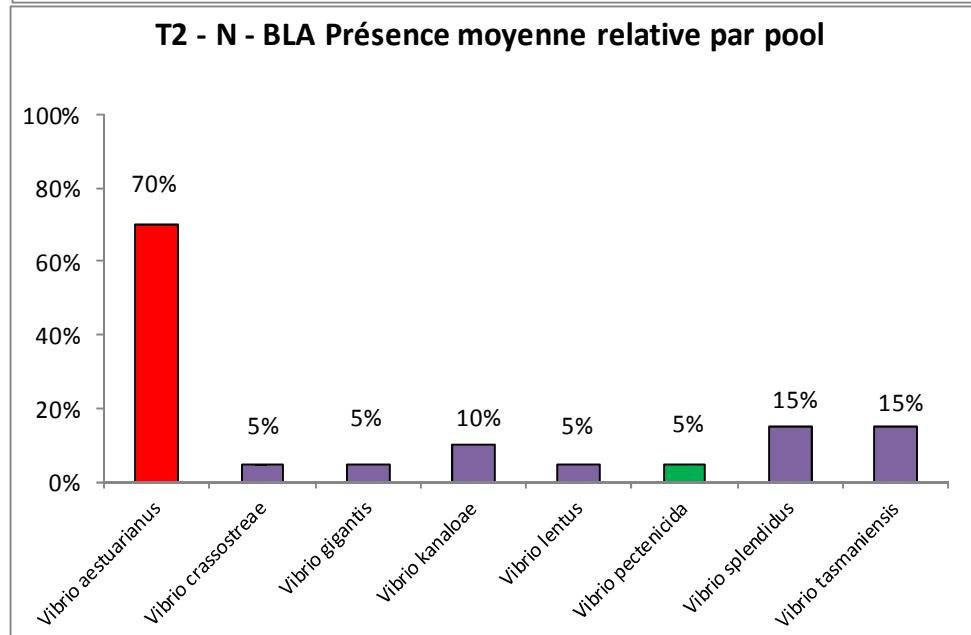
Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



Distribution des souches  
Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches  
Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de BLAINVILLE – T3

Date d'échantillonnage : 11 août 2014

4 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe Pectenicida	2 %
Groupe Harveyi	2 %
Groupe Halioticoli	5 %
Groupe Splendidus	6 %
Non identifié	84 %

7 souches observées
Autre
<b>Vibrio pectenicida</b>
<b>Vibrio harveyi</b>
<b>Vibrio superstes</b>
<b>Vibrio crassostreeae</b>
<b>Vibrio cyclotrophicus</b>
<b>Vibrio kanaloae</b>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 15% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

4 groupes sont représentés, le groupe Splendidus étant majoritaire à 40%, suivi du groupe Halioticoli à 33%.

### Diversité des souches observées :

7 espèces sont observées, dont 6 du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

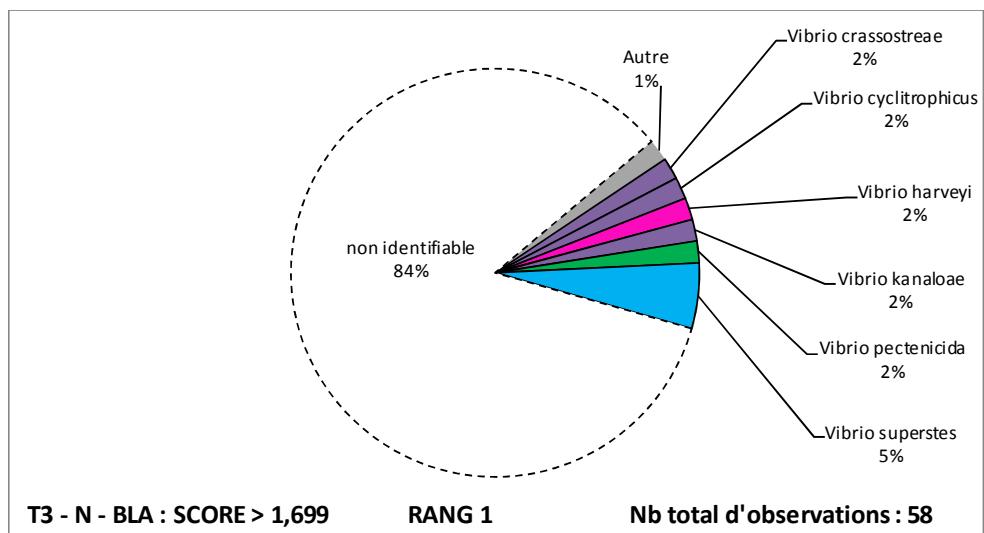
Aucune espèce n'est majoritaire : *V. superstes* est retrouvé dans 2 pools sur 3.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

*V. superstes* représente 8% des colonies analysées dans un pool.

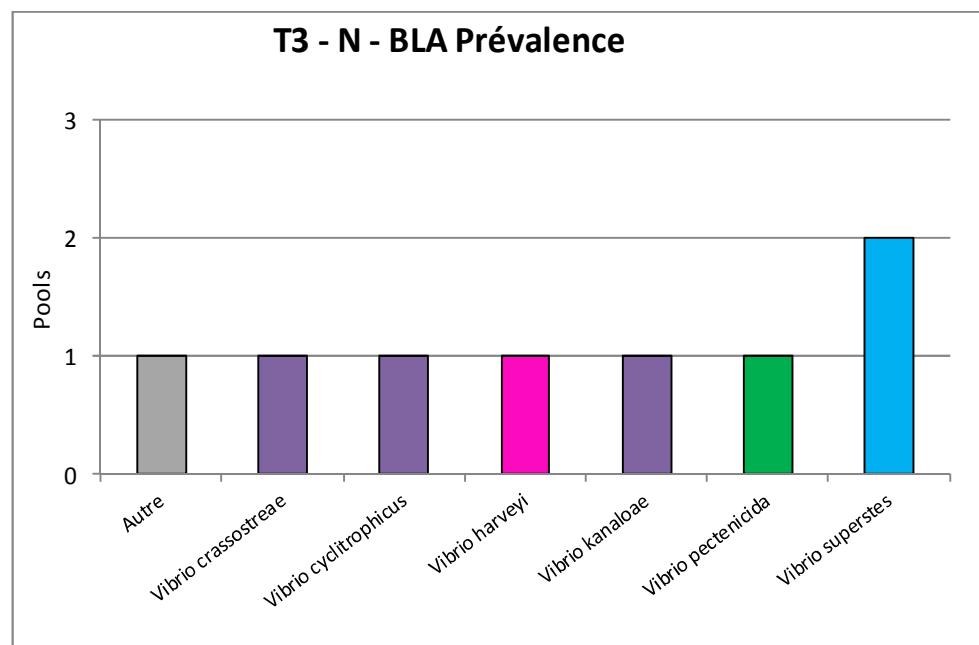
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



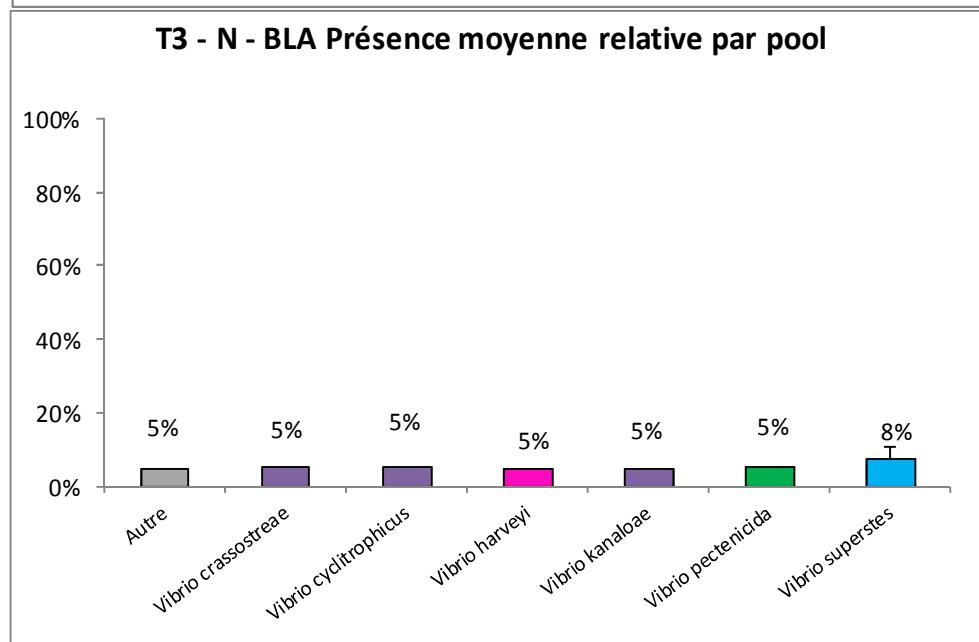
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de BLAINVILLE – T4

Date d'échantillonnage : 4 novembre 2014

1 Groupe familles Vibrio représenté - proportion	
Groupe Splendidus	20 %
Non identifié	80 %

3 souches observées
Vibrio kanaloae
Vibrio splendidus
Vibrio tasmaniensis

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 20% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

Seul le groupe Splendidus est représenté.

### Diversité des souches observées :

3 espèces sont observées, toutes du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

2 espèces sont majoritaires : *V. kanaloae* et *V.tasmaniensis*.

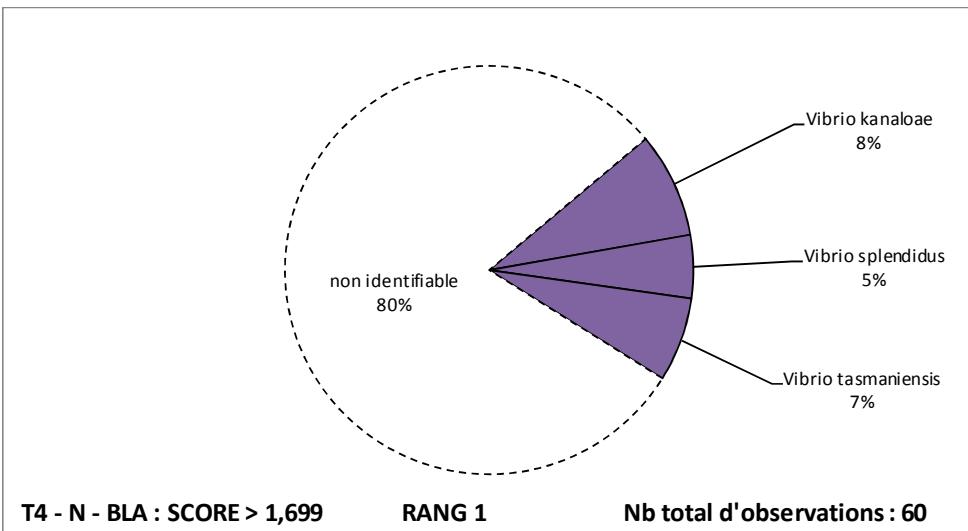
### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

*V. kanaloae* représente en moyenne 8% des colonies analysées.

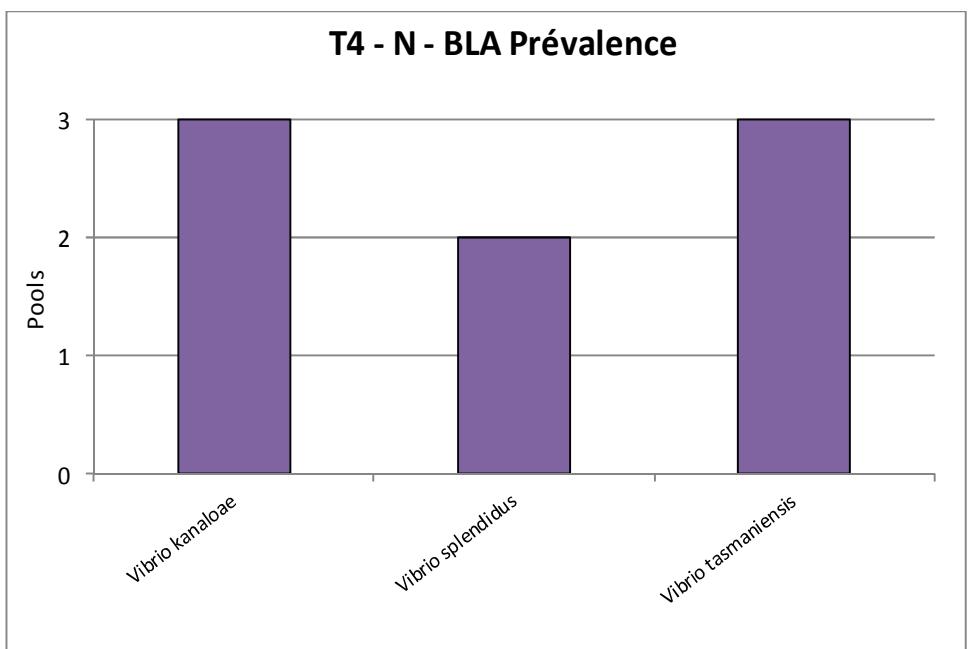
*V. tasmaniensis* représente en moyenne 7% des colonies analysées.

Distribution des souches

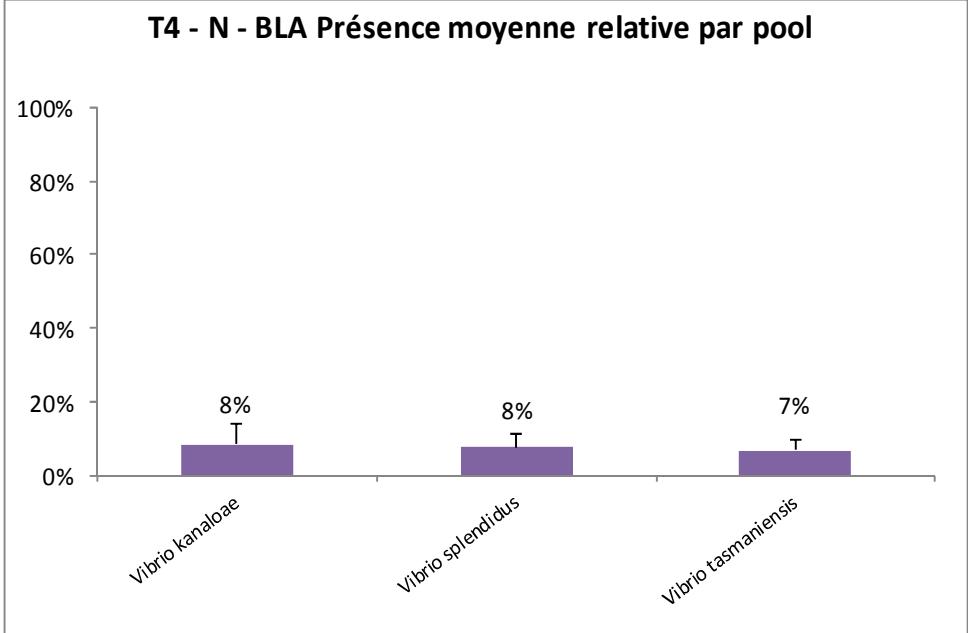
Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



Distribution des souches  
Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches  
Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de SAINT VAAST – T1

Date d'échantillonnage : 11 juin 2014

2 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe Splendidus	13 %
Groupe Pectenicida	2 %
Non identifié	85 %

5 souches observées
<i>Vibrio crassostreae</i>
<i>Vibrio kanaloae</i>
<i>Vibrio splendidus</i>
<i>Vibrio tasmaniensis</i>
<i>Vibrio pectenicida</i>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 15% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

2 groupes sont représentés, le groupe Splendidus étant majoritaire à 87%.

### Diversité des souches observées :

5 espèces sont observées, toutes du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

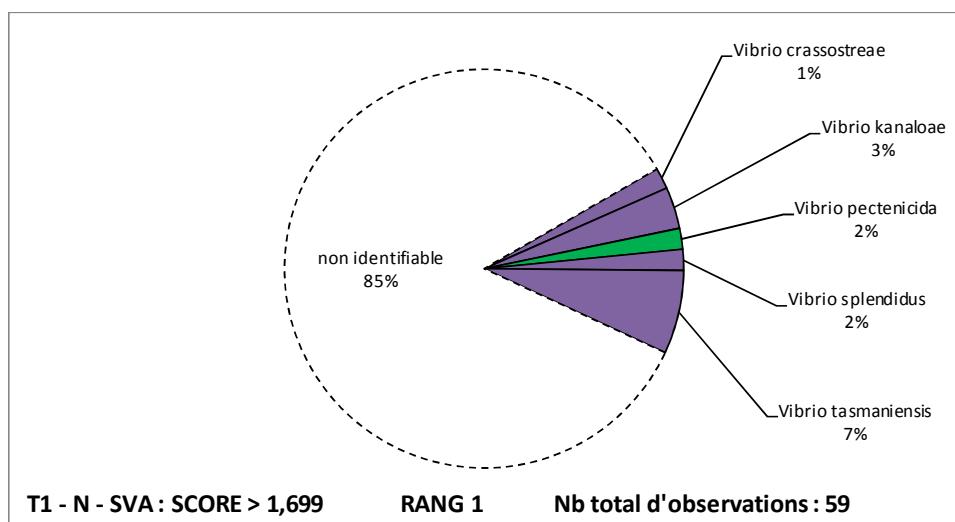
Aucune espèce n'est majoritaire : *V. kanaloae* et *V. tasmaniensis* sont retrouvés dans 2 pools sur 3.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

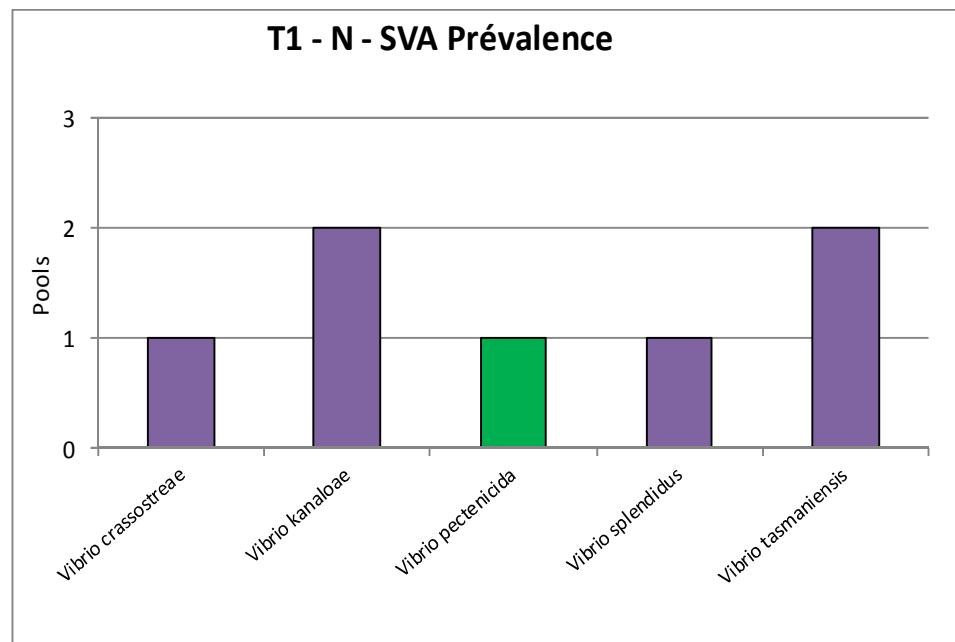
Ces deux espèces représentent en moyenne respectivement 5% et 10% des colonies analysées dans 2 pools.

Distribution des souches

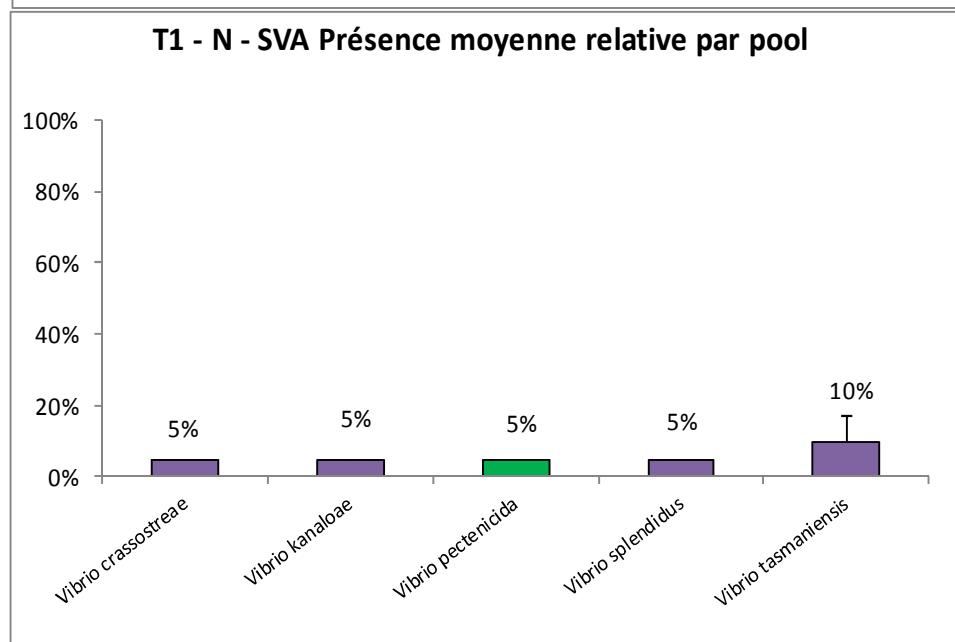
Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



Distribution des souches  
Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches  
Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de SAINT VAAST – T2

Date d'échantillonnage : 26 juin 2014

3 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe Halioticoli	10 %
Groupe Pectenicida	3 %
Groupe Splendidus	23 %
Non identifié	64 %

8 souches observées
Vibrio superstes
Vibrio pectenicida
Vibrio crassostreae
Vibrio cyclitrophicus
Vibrio kanaloae
Vibrio lentinus
Vibrio splendidus
Vibrio tasmaniensis

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 36% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

3 groupes sont représentés, le groupe Splendidus étant majoritaire à 64%.

### Diversité des souches observées :

8 espèces sont observées, toutes du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

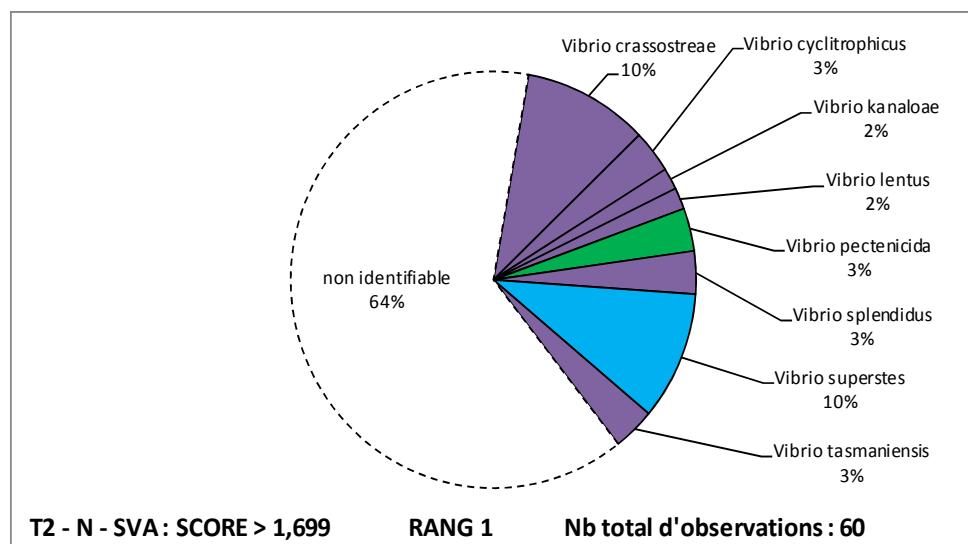
Aucune espèce n'est majoritaire : *V. crassostreae* et *V. tasmaniensis* sont retrouvés dans 2 pools sur 3 ainsi que *V. pectenicida* et *V. superstes*.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

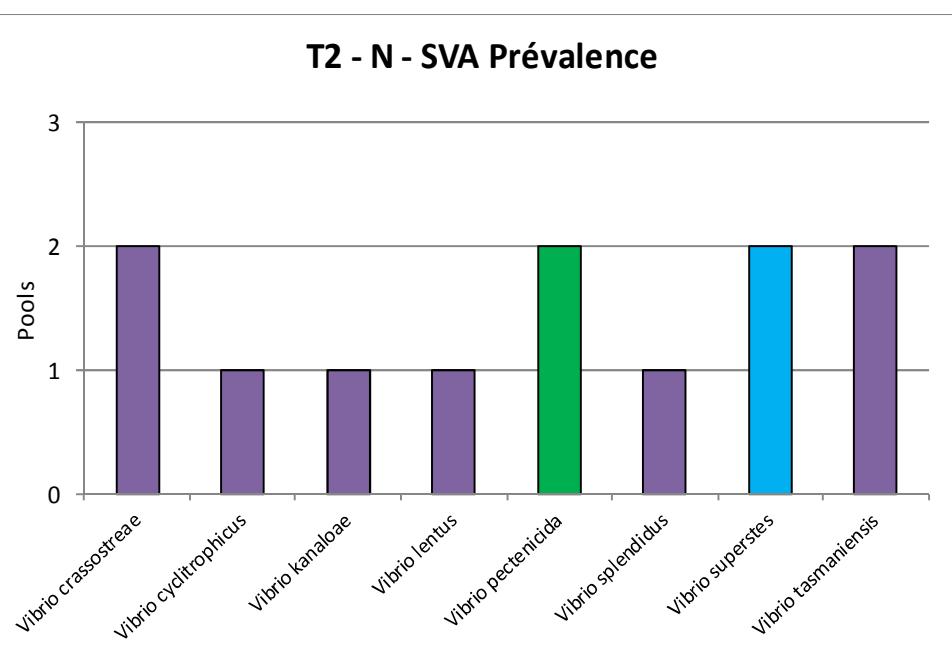
Ces espèces représentent en moyenne respectivement 15%, 5%, 5% et 15% des colonies analysées dans 2 pools.

Distribution des souches

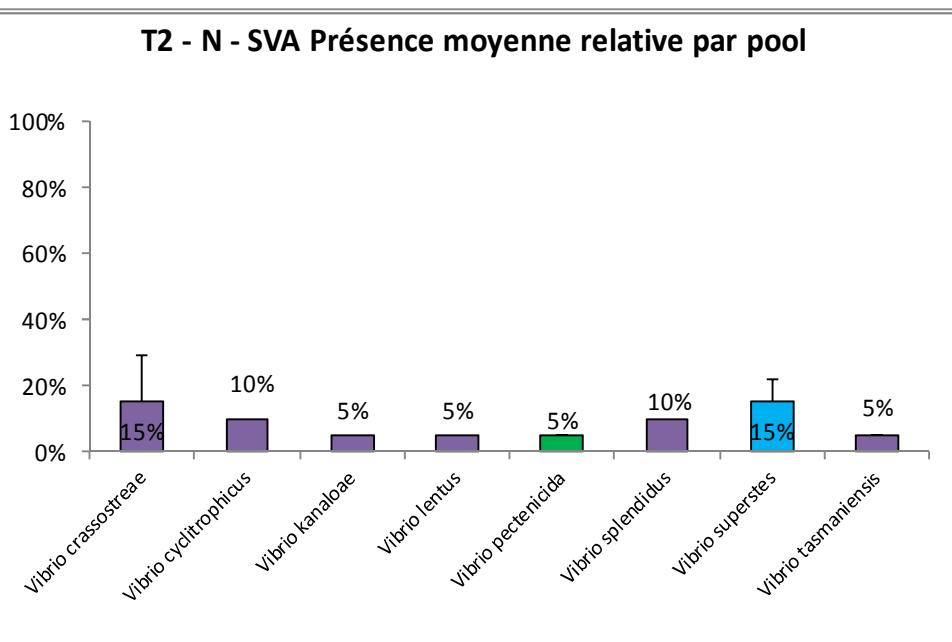
Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



Distribution des souches  
Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches  
Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de SAINT VAAST – T3

Date d'échantillonnage : 11 août 2014

3 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe <i>Halioticoli</i>	4 %
Groupe <i>Pectenicida</i>	2 %
Groupe <i>Splendidus</i>	18 %
Non identifié	74 %

7 souches observées
<i>Vibrio superstes</i>
<i>Vibrio pectenicida</i>
<i>Vibrio crassostreae</i>
<i>Vibrio cyclitrophicus</i>
<i>Vibrio gigantis</i>
<i>Vibrio kanaloae</i>
Autre

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 24% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

3 groupes sont représentés, le groupe *Splendidus* étant majoritaire à 75%.

### Diversité des souches observées :

7 espèces sont observées, dont 6 du genre *Vibrio*.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

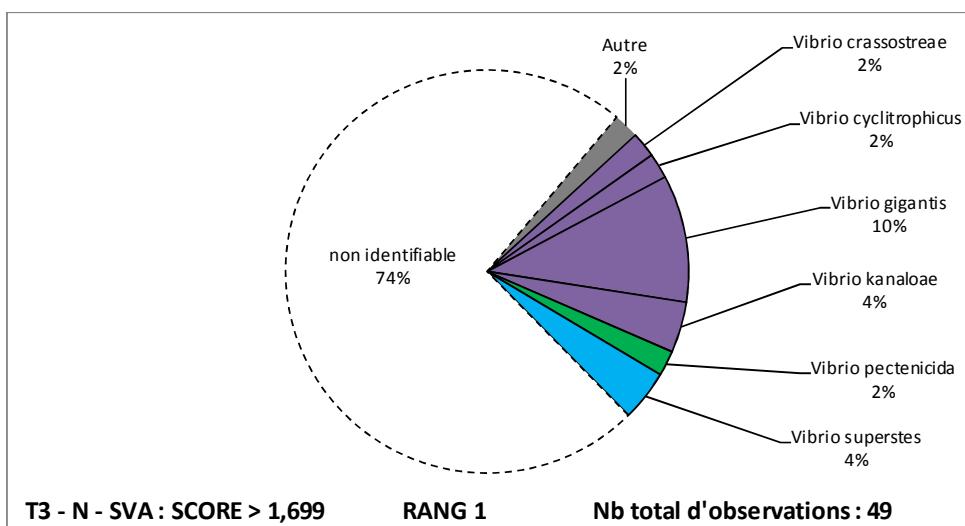
Aucune espèce n'est majoritaire : *V. gigantis* et *V. superstes* sont retrouvés dans 2 pools sur 3.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

Ces espèces représentent en moyenne respectivement 13% et 5% des colonies analysées dans 2 pools.

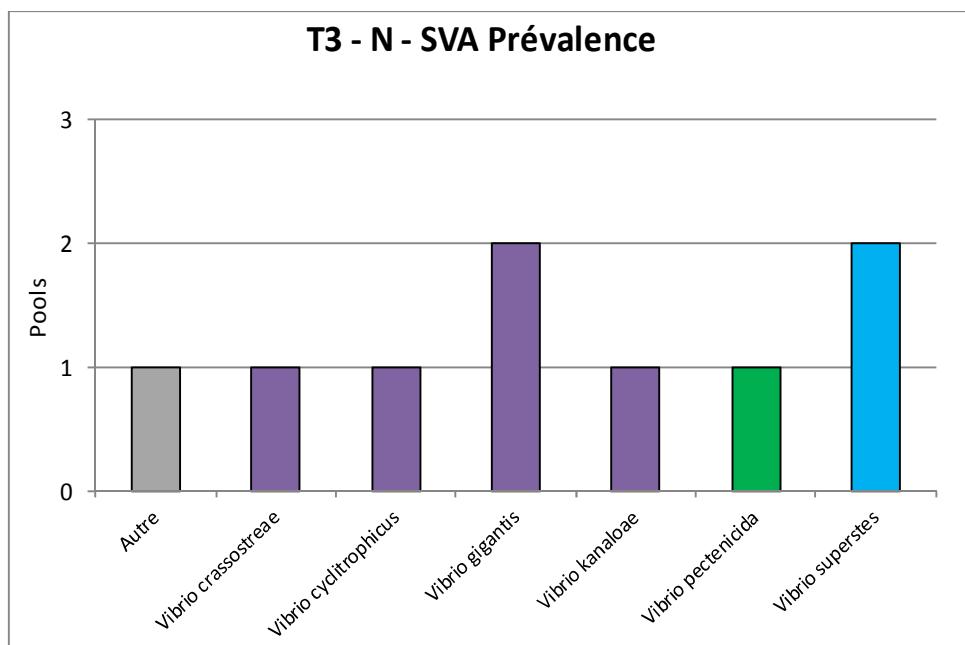
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



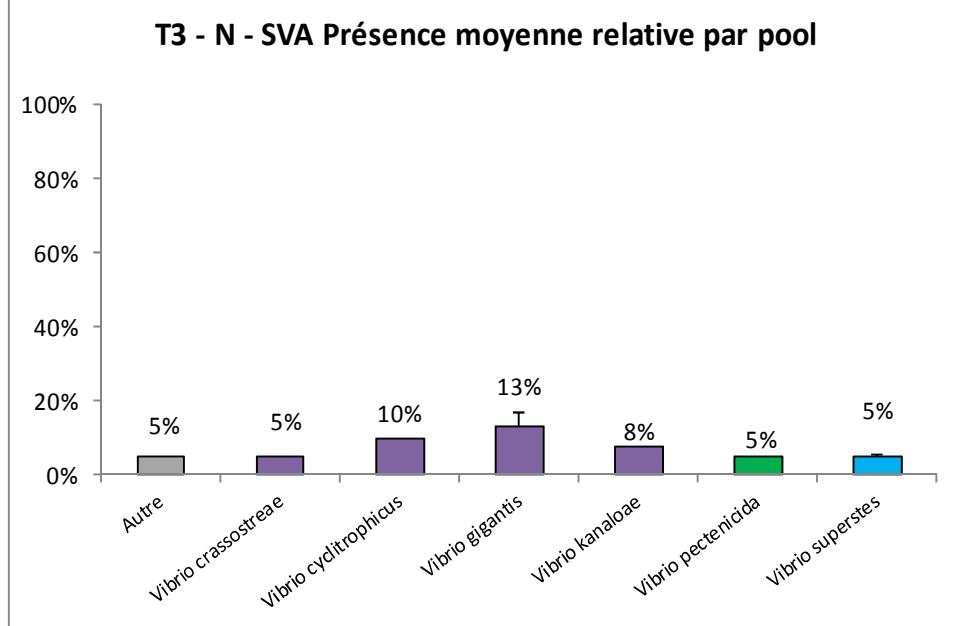
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de SAINT VAAST – T4

Date d'échantillonnage : 20 novembre 2014

1 Groupe familles Vibrio représenté - proportion	
Groupe Splendidus	2 %
Non identifié	98 %

1 souche observée
Vibrio kanaloae

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 2% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

Seul le groupe Splendidus est représenté.

### Diversité des souches observées :

1 seule espèce est observée.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

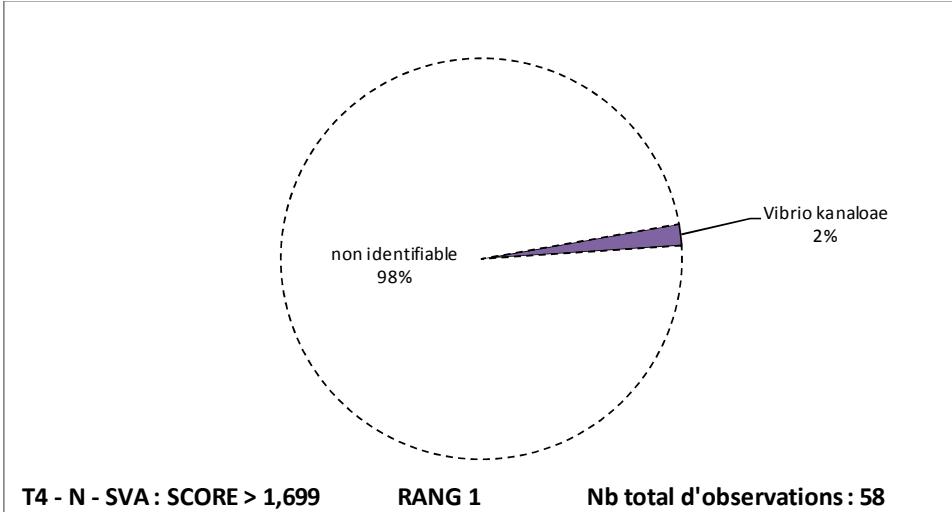
Non majoritaire, seul *V. kanaloae* est observé dans un pool.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

Il représente 6% des colonies analysées dans un pool.

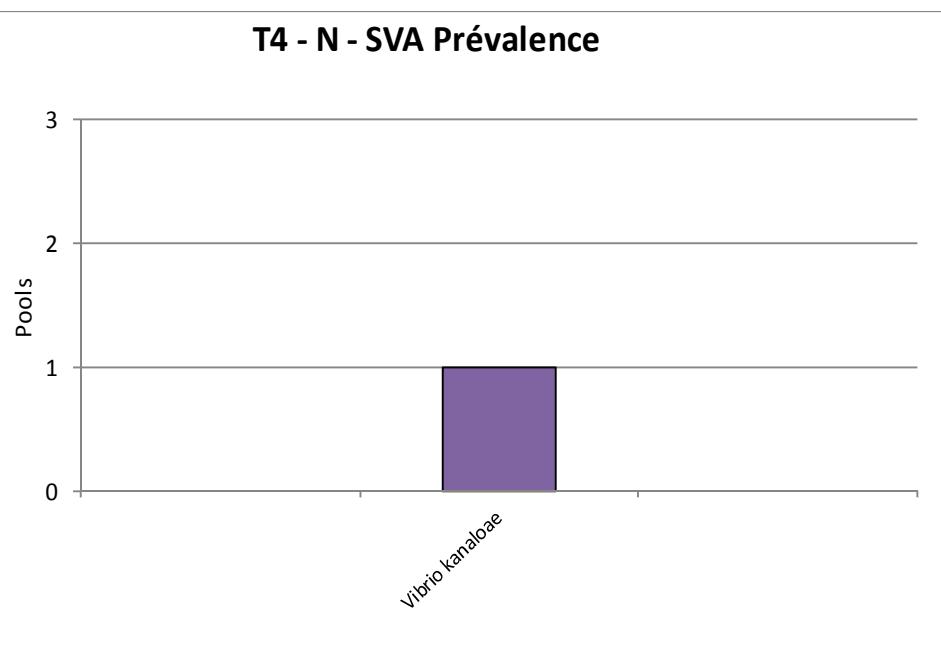
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



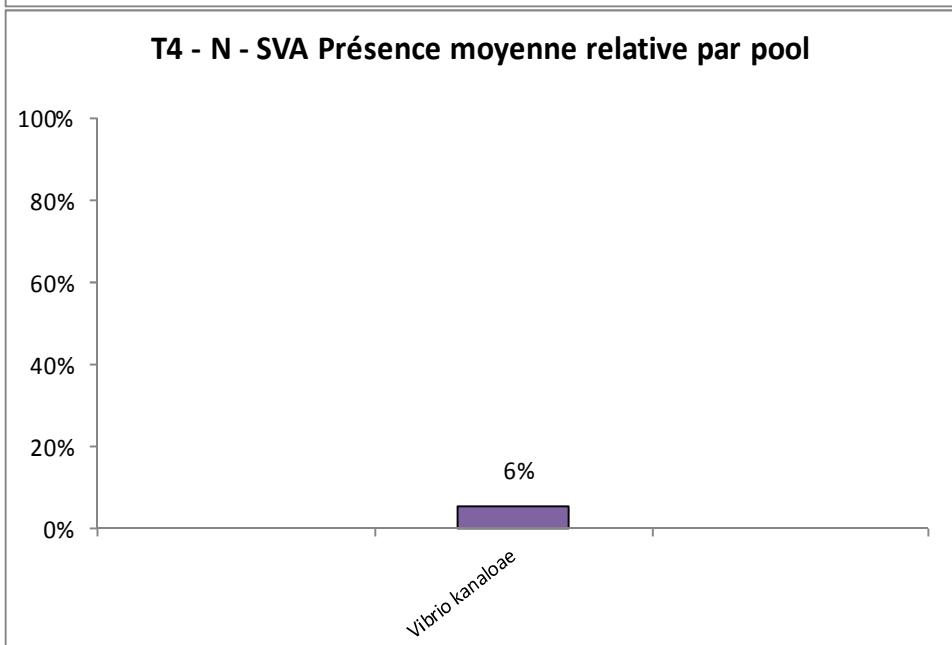
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Evolution de la flore vibriónaceae

Classe d'âge

**JUVENILE**

# Site de LA MORTANNE – T1

Date d'échantillonnage 13 mai 2014

1 Groupe familles Vibrio représenté - proportion	
Groupe Splendidus	87 %
Non identifié	13 %

5 souches observées
<i>Vibrio cyclitrophicus</i>
<i>Vibrio kanaloae</i>
<i>Vibrio lentus</i>
<i>Vibrio splendidus</i>
<i>Vibrio tasmaniensis</i>

## Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 87% des souches de la flore totale.

## Nombre de groupes de vibrions :

Seul le groupe Splendidus est présent.

## Diversité des souches observées :

5 espèces sont observées.

## Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

3 espèces sont majoritaires : *V. cyclitrophicus*, *V. lentus*, *V. splendidus*

## Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

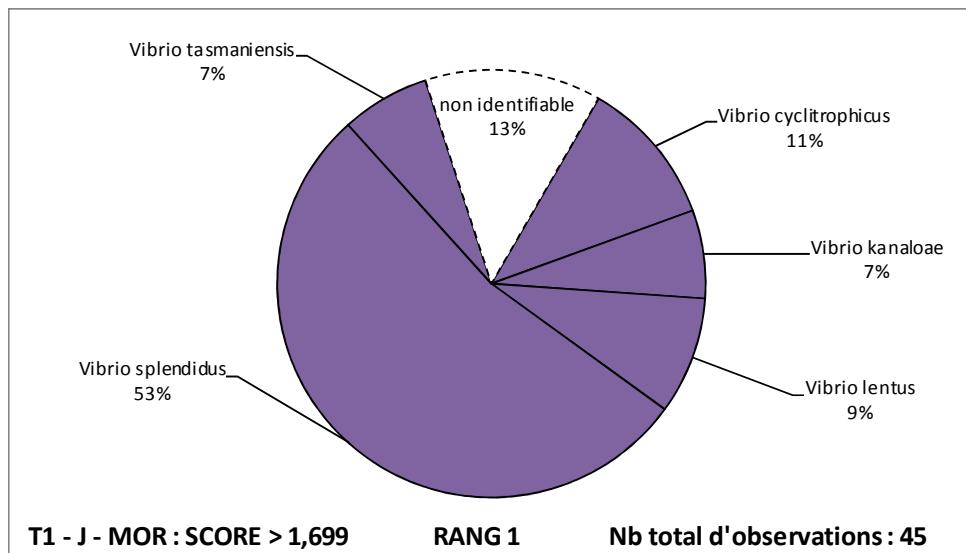
*V. cyclitrophicus* représente en moyenne 8% des colonies analysées.

*V. lentus* représente en moyenne 15% des colonies analysées.

*V. splendidus* représente en moyenne 35% des colonies analysées (grande variabilité).

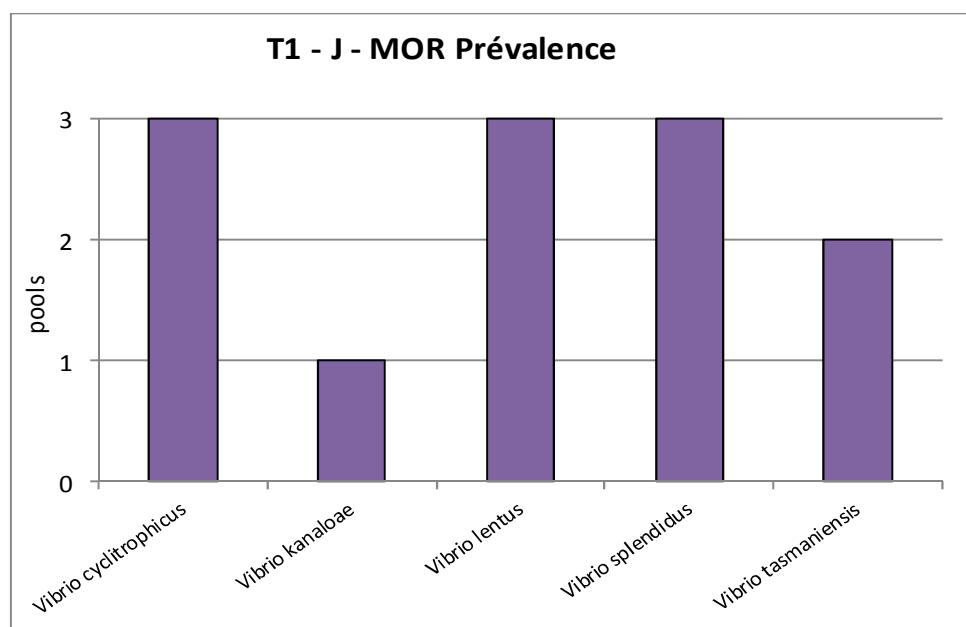
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



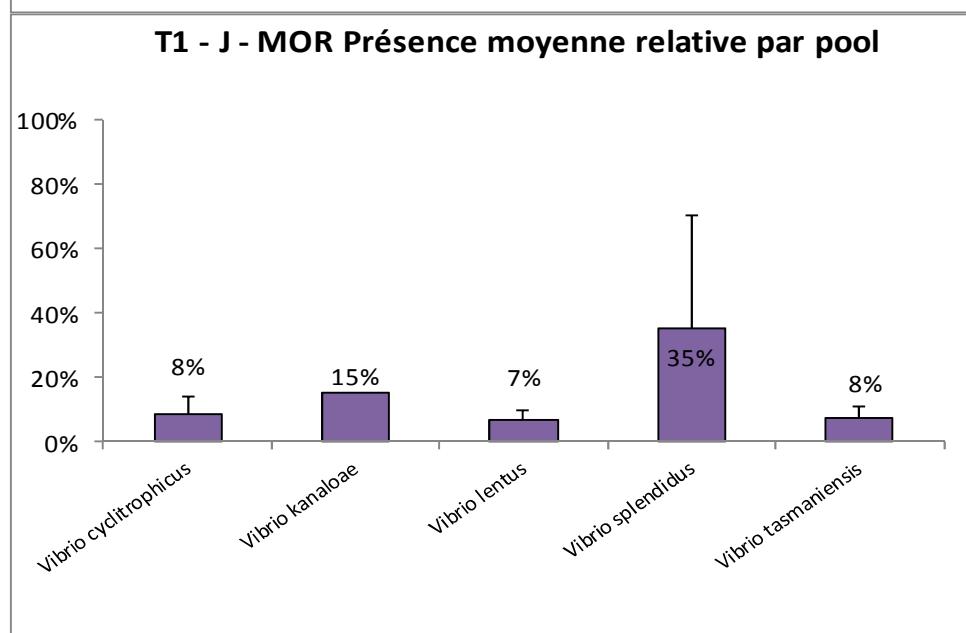
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de LA MORTANNE – T2

Date d'échantillonnage : 26 mai 2014

1 Groupe familles Vibrio représenté - proportion	
Groupe Splendidus	35 %
Non identifié	63 %

6 souches observées
Autre
<b>Vibrio gigantis</b>
<b>Vibrio kanaloae</b>
<b>Vibrio lentus</b>
<b>Vibrio splendidus</b>
<b>Vibrio tasmaniensis</b>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 35% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

Seul le groupe Splendidus est présent.

### Diversité des souches observées :

6 espèces sont observées dont 5 du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

2 espèces sont majoritaires : *V. lentus*, *V. splendidus*

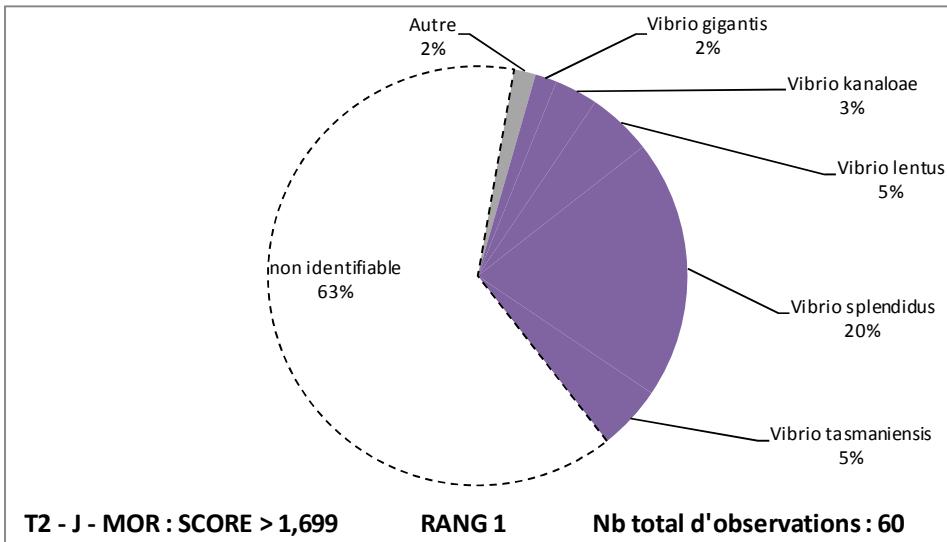
### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

*V. lentus* représente en moyenne 5% des colonies analysées.

*V. splendidus* représente en moyenne 20% des colonies analysées (grande variabilité).

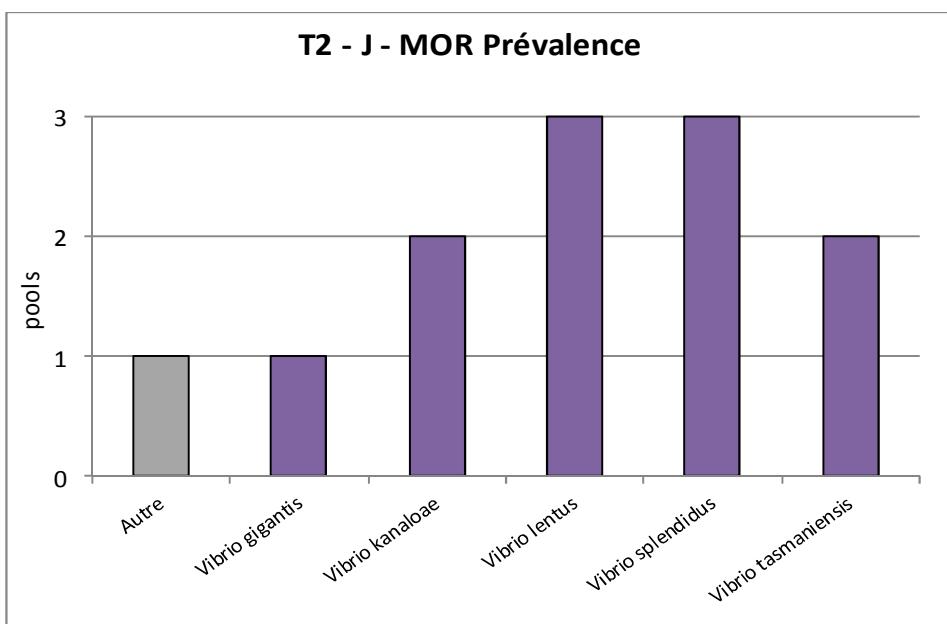
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



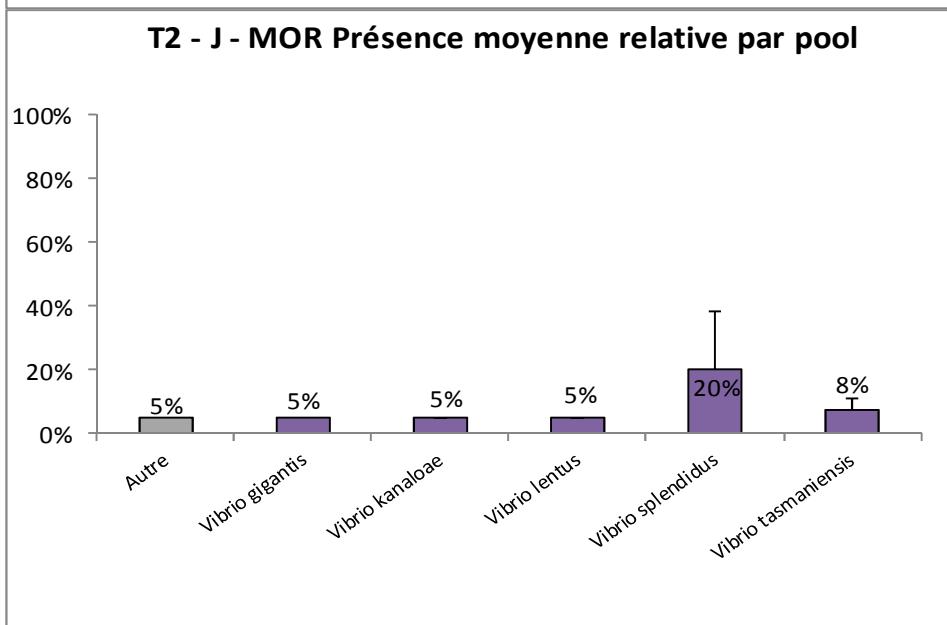
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de LA MORTANNE – T3

Date d'échantillonnage : 26 août 2014

4 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe <i>Anguillarum</i>	3 %
Groupe <i>Scopthalmi</i>	2 %
Groupe <i>Halioticoli</i>	2 %
Groupe <i>Splendidus</i>	27 %
Non identifié	64 %

7 souches observées
<i>Vibrio aestuarianus</i>
<i>Vibrio ponticus</i>
<i>Vibrio superstes</i>
<i>Vibrio cyclitrophicus</i>
<i>Vibrio fortis</i>
<i>Vibrio pelagius</i>
<i>Vibrio chagasicii</i>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 34% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

4 groupes sont présents, le groupe *Splendidus* étant largement majoritaire à 80%.

### Diversité des souches observées :

7 espèces sont observées, toutes du genre *Vibrio*.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

Pas d'espèce majoritaire mais 3 d'entre elles (groupe *Splendidus*) sont retrouvées dans 2 pools/3 :

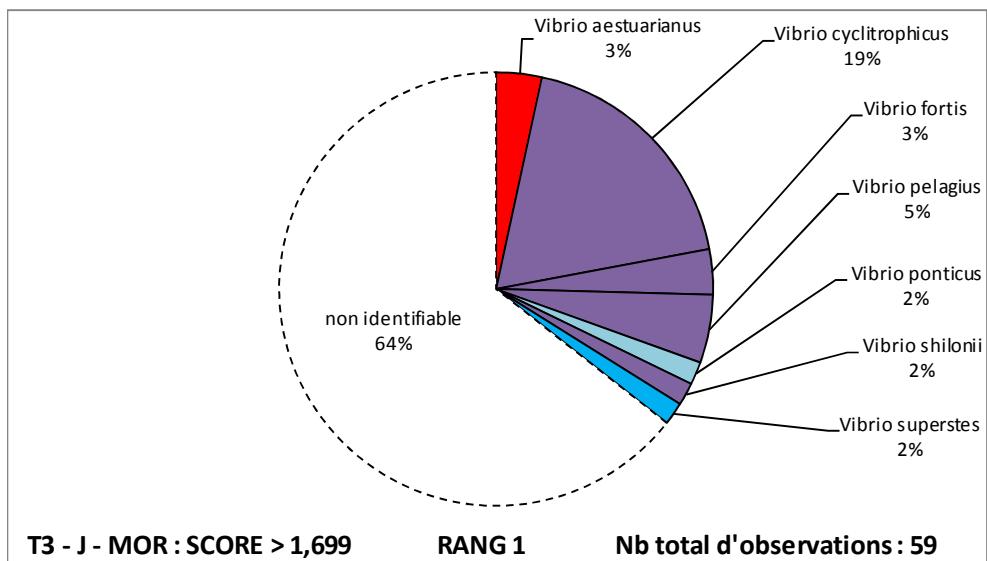
*V. cyclitrophicus*, *V. fortis* et *V. pelagius*

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

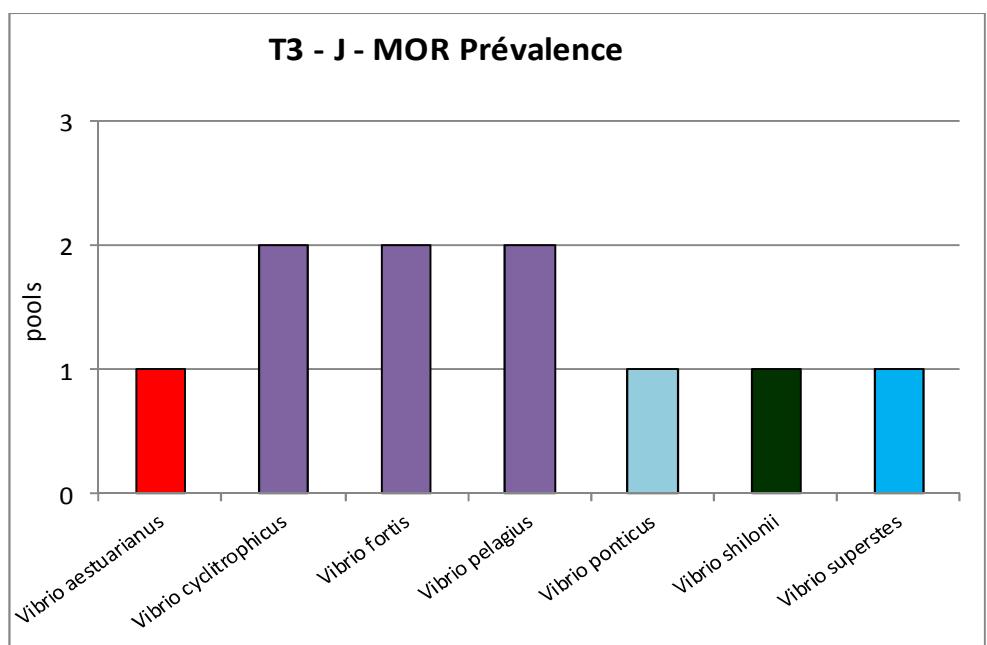
*V. cyclitrophicus* représente en moyenne 28% des colonies observées.

Distribution des souches

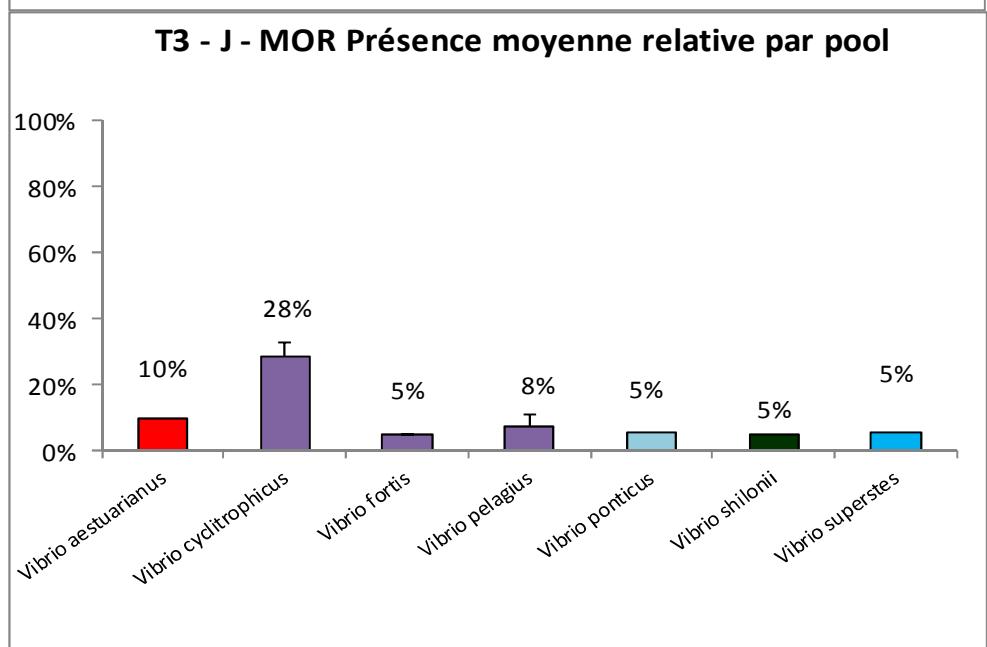
Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



Distribution des souches  
Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches  
Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de LA MORTANNE – T4

Date d'échantillonnage : 24 novembre 2014

1 Groupe familles Vibrio représenté - proportion	
Groupe Splendidus	20 %
Non identifié	78 %

7 souches observées
Autre
Vibrio crassostreae
Vibrio cyclotrophicus
Vibrio gigantis
Vibrio kanaloae
Vibrio splendidus
Vibrio tasmaniensis

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 20% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

Seul le groupe Splendidus est présent.

### Diversité des souches observées :

7 espèces sont observées dont 6 du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

Pas d'espèce majoritaire mais 2 d'entre elles sont retrouvées dans 2 pools/3 :

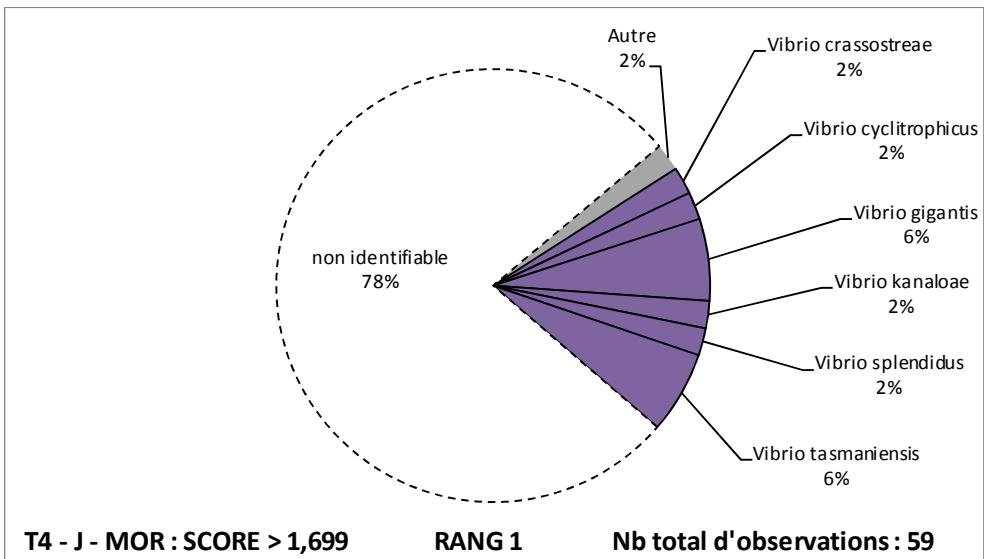
*V. gigantis* et *V. tasmaniensis*

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

Ces deux espèces représentent en moyenne 8% des colonies observées.

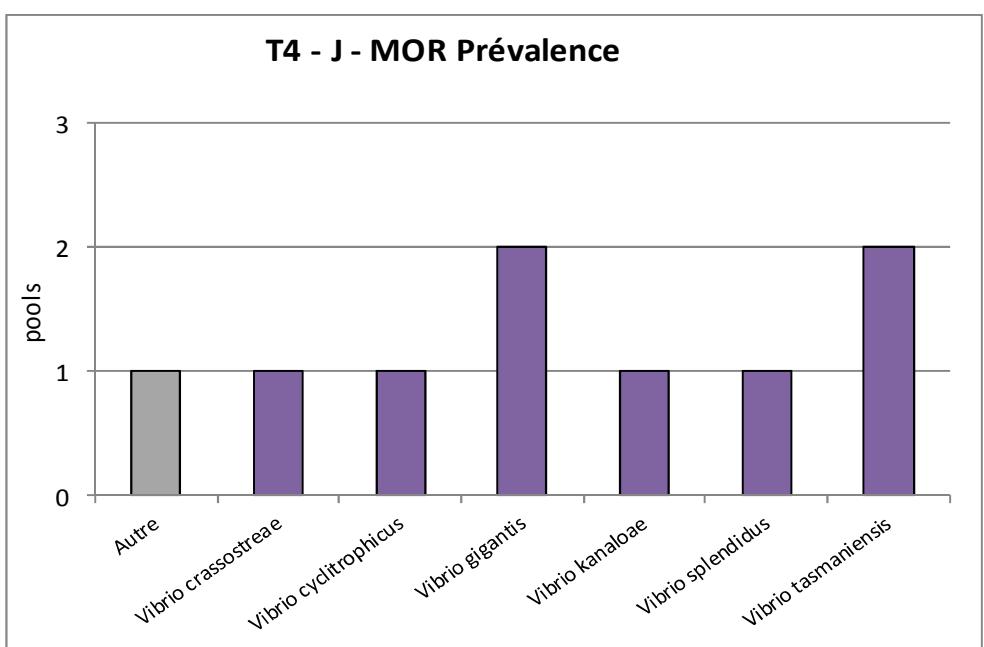
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



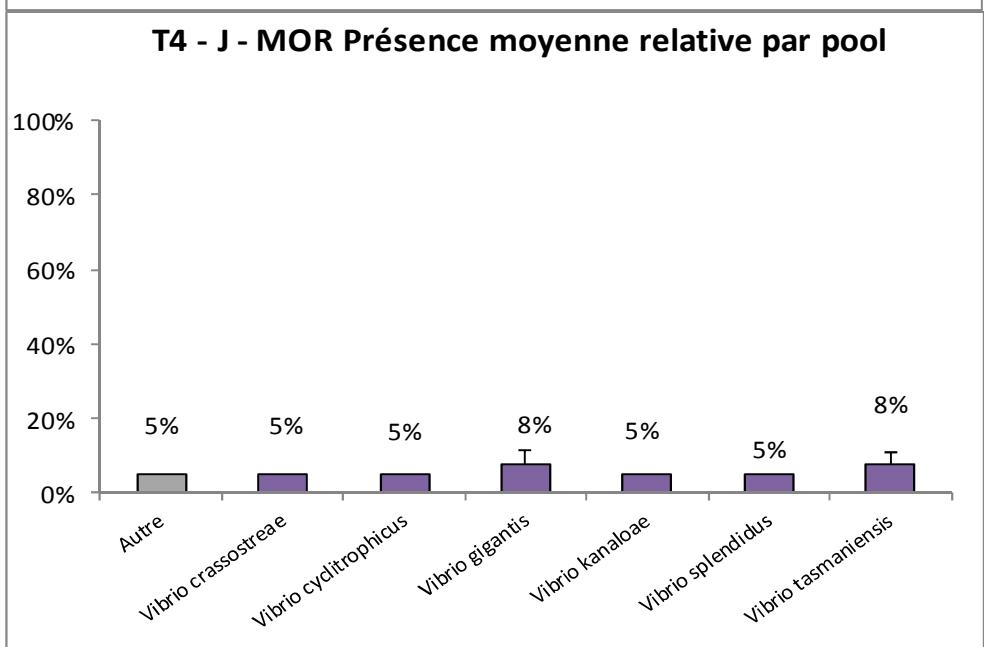
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de LA FLOTTE – T1

Date d'échantillonnage : 14 mai 2014

2 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe Splendidus	49 %
Groupe Halioticoli	2 %
Non identifié	49 %

7 souches observées
<i>Vibrio crassostreae</i>
<i>Vibrio cyclitrophicus</i>
<i>Vibrio fortis</i>
<i>Vibrio kanaloae</i>
<i>Vibrio splendidus</i>
<i>Vibrio tasmaniensis</i>
<i>Vibrio superstes</i>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 51% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

2 groupes sont présents mais le groupe Splendidus est majoritaire à 96%.

### Diversité des souches observées :

7 espèces sont observées, toutes du genre *Vibrio*.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

2 espèces sont majoritaires : *V. splendidus* et *V. tasmaniensis*

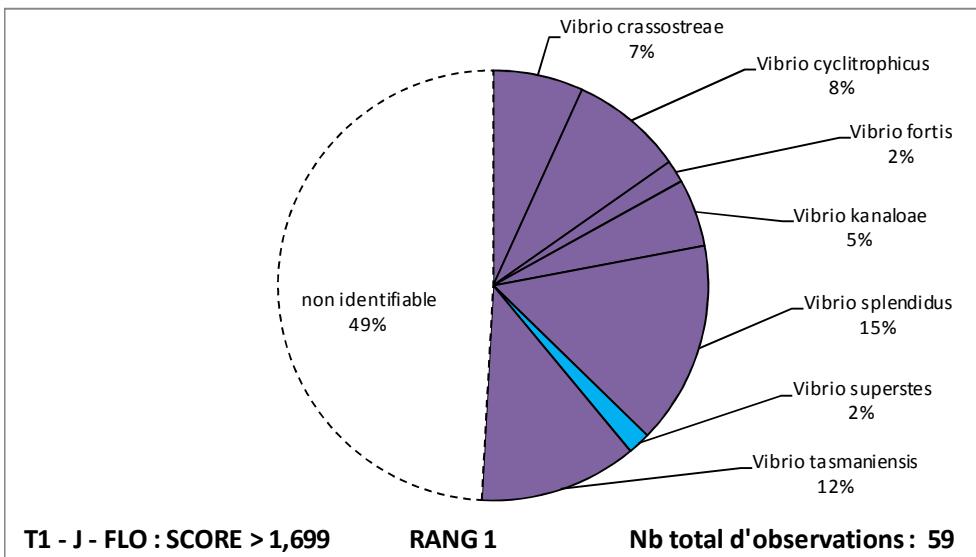
### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

*V. tasmaniensis* représente en moyenne 25% des colonies analysées.

*V. splendidus* représente en moyenne 31% des colonies analysées.

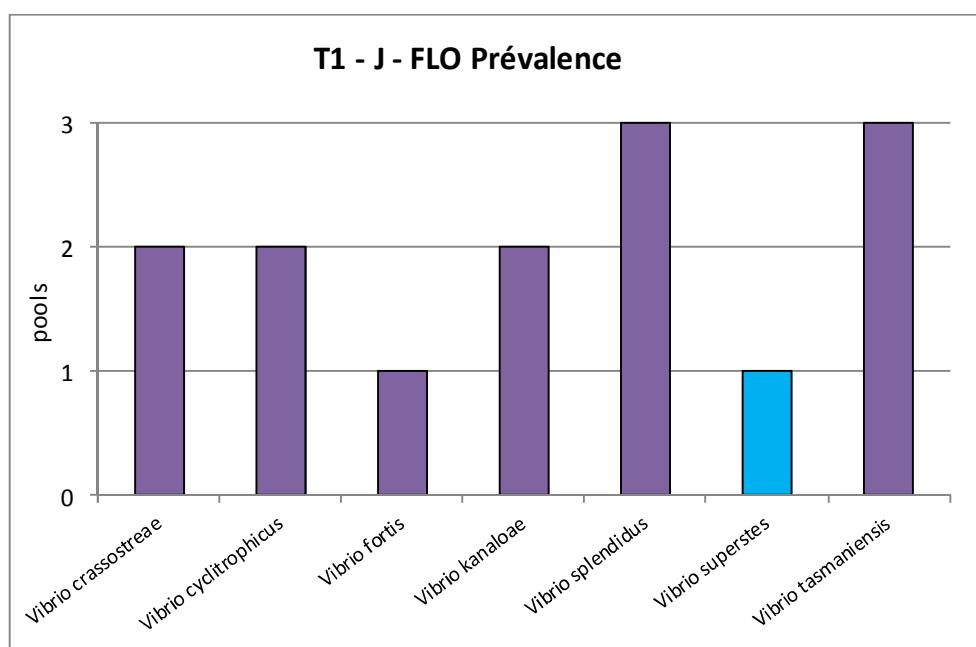
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



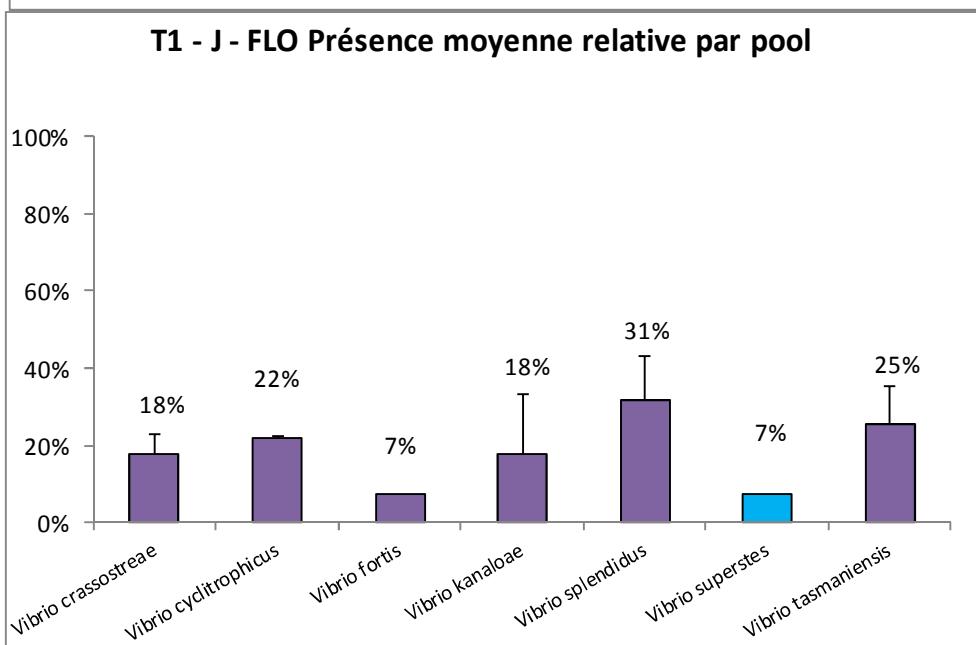
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de LA FLOTTE – T2

Date d'échantillonnage : 26 mai 2014

1 Groupe familles Vibrio représenté - proportion	
Groupe Splendidus	24 %
Non identifié	74 %

3 souches observées
Autre
Vibrio splendidus
Vibrio tasmaniensis

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 24% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

Seul le groupe Splendidus est présent.

### Diversité des souches observées :

3 espèces sont observées dont 2 du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

2 espèces sont majoritaires : *V. splendidus* et *V. tasmaniensis*

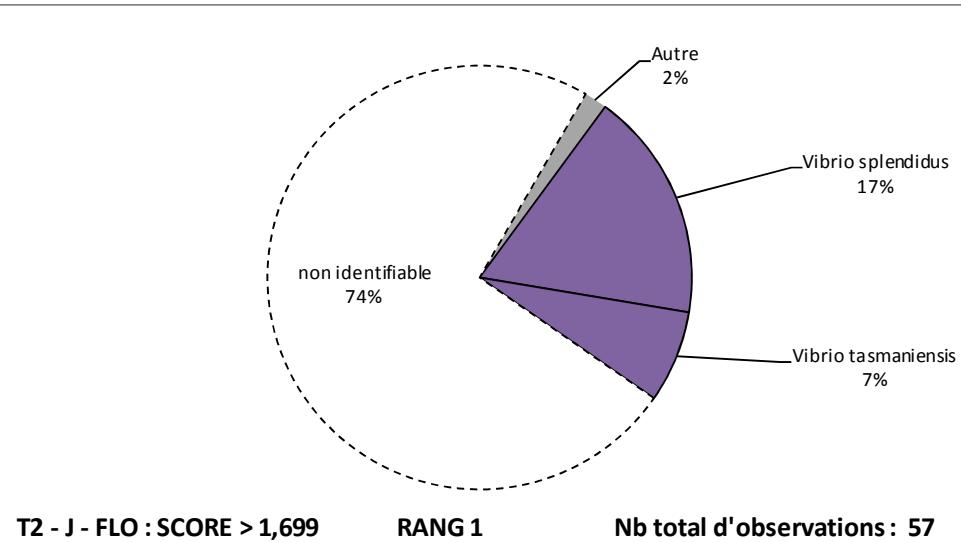
### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

*V. tasmaniensis* représente en moyenne 7% des colonies analysées.

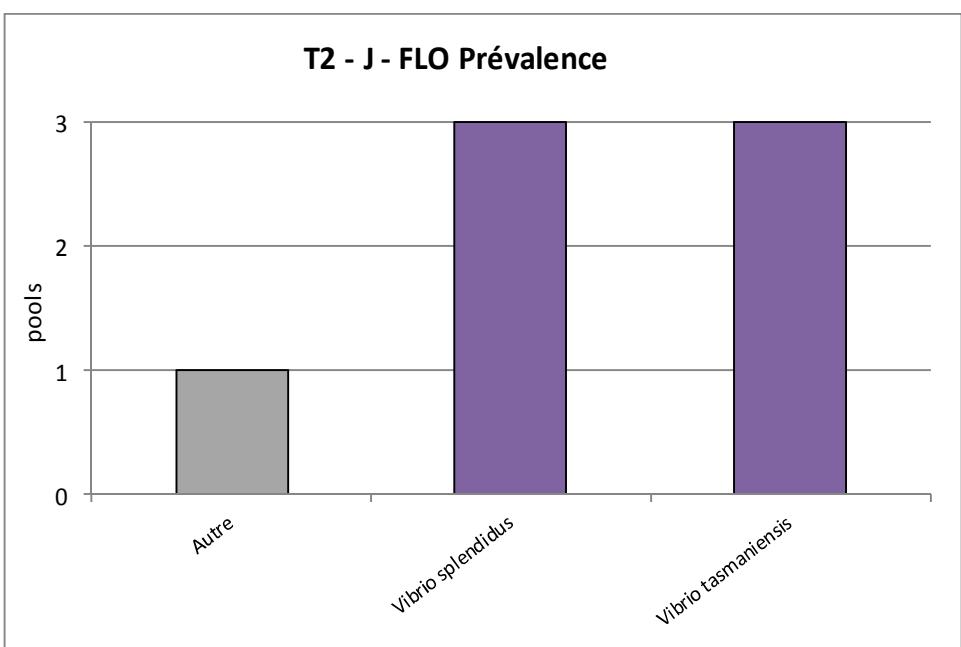
*V. splendidus* représente en moyenne 18% des colonies analysées.

Distribution des souches

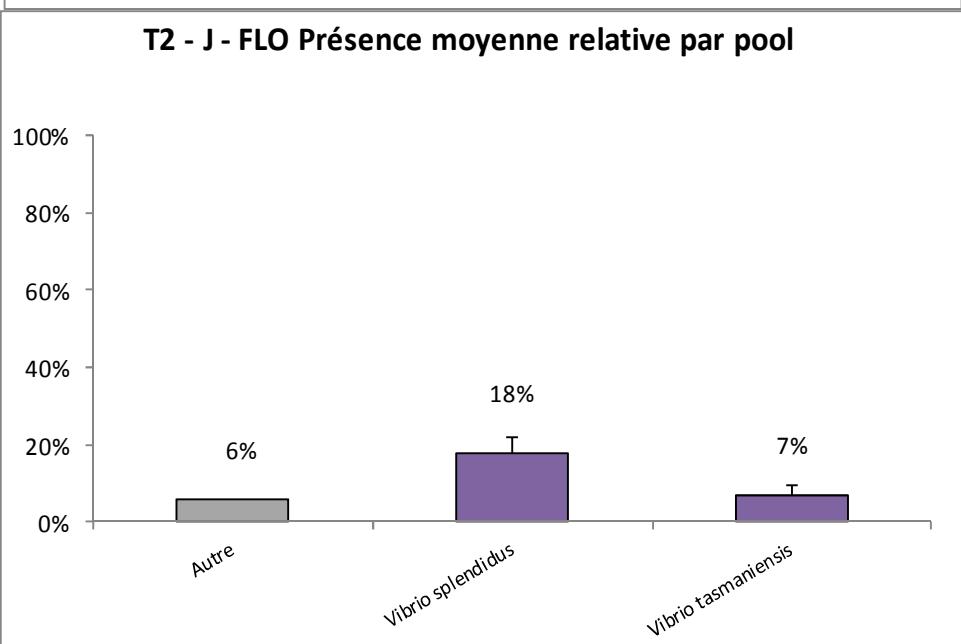
Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



Distribution des souches  
Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches  
Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de LA FLOTTE – T3

Date d'échantillonnage : 26 août 2014

<b>3 Groupes familles Vibrio représentés - proportion</b>	
<b>Groupe Splendidus</b>	<b>49 %</b>
<b>Groupe Halioticoli</b>	<b>5 %</b>
<b>Groupe Nereis</b>	<b>3 %</b>
<b>Non identifié</b>	<b>41 %</b>

<b>10 souches observées</b>	
Autre	
<b>Vibrio crassostreae</b>	
<b>Vibrio cyclitrophicus</b>	
<b>Vibrio fortis</b>	
<b>Vibrio gigantis</b>	
<b>Vibrio kanaloae</b>	
<b>Vibrio pelagius</b>	
<b>Vibrio tasmaniensis</b>	
<b>Vibrio superstes</b>	
<b>Vibrio nereis</b>	

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 57% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

3 groupes sont présents mais le groupe Splendidus est majoritaire à 86%.

### Diversité des souches observées :

10 espèces sont observées, dont 9 du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

2 espèces sont majoritaires : *V. cyclitrophicus* et *V. fortis*

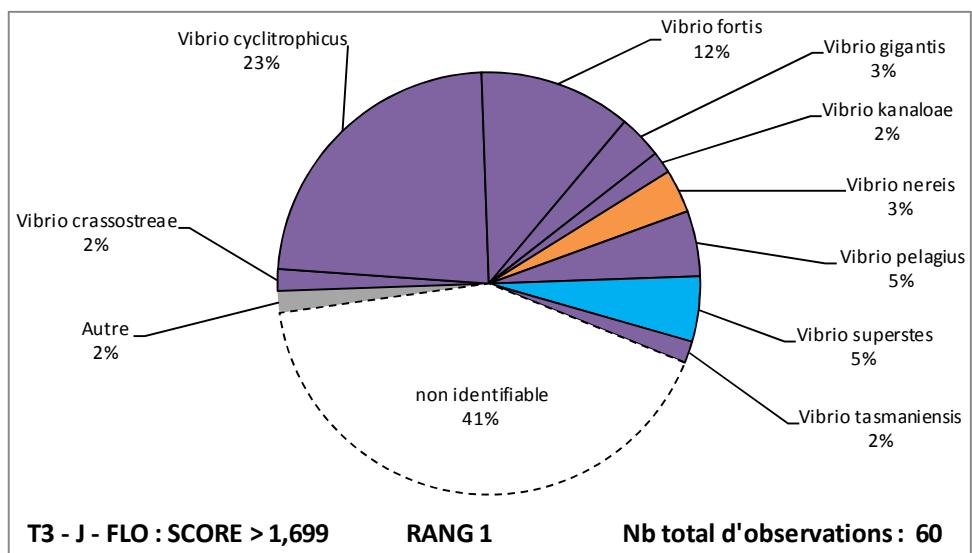
### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

*V. cyclitrophicus* représente en moyenne 23% des colonies analysées.

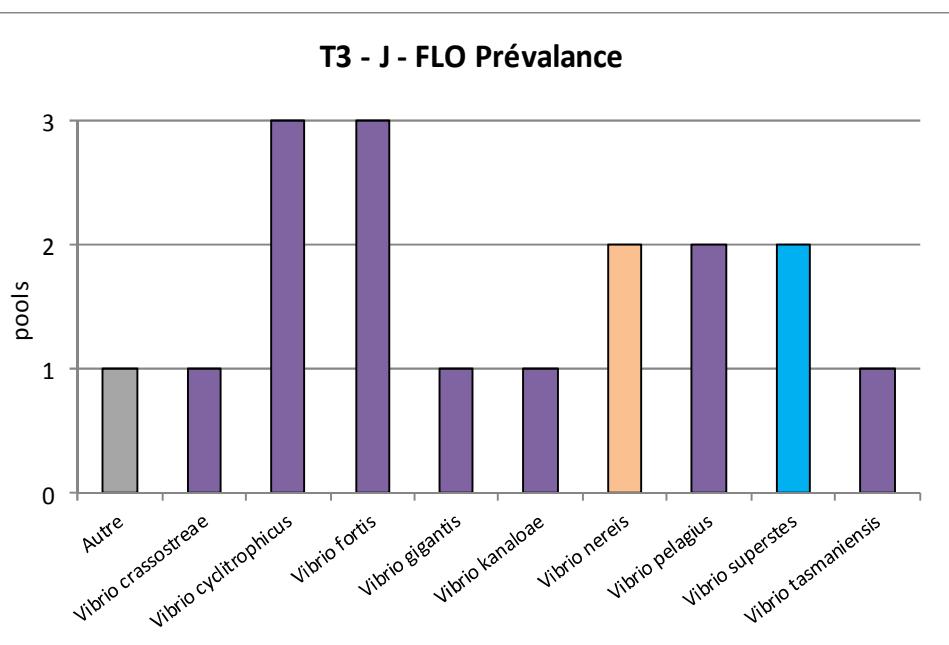
*V. fortis* représente en moyenne 12% des colonies analysées.

Distribution des souches

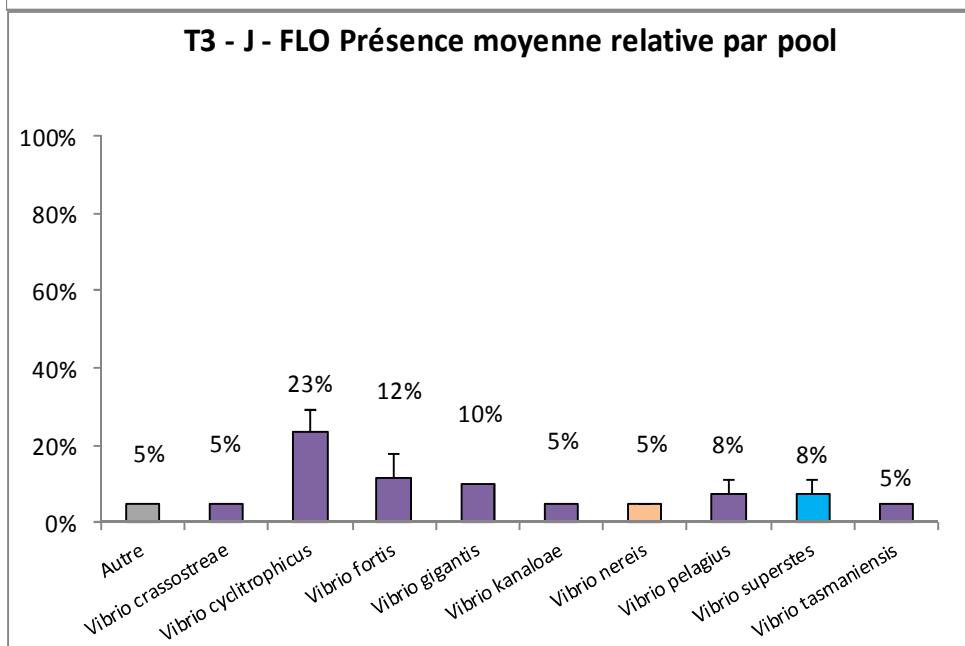
Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



Distribution des souches  
Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches  
Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de LA FLOTTE – T4

Date d'échantillonnage : 24 novembre 2014

3 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe Splendidus	30 %
Groupe Pectenicida	2 %
Groupe Halioticoli	2 %
Non identifié	66 %

9 souches observées
Vibrio crassostreae
Vibrio cyclitrophicus
Vibrio gigantis
Vibrio kanaloae
Vibrio lentus
Vibrio splendidus
Vibrio tasmaniensis
Vibrio pectenicida
Vibrio superstes

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 34% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

3 groupes sont présents mais le groupe Splendidus est majoritaire à 88%.

### Diversité des souches observées :

9 espèces sont observées, toutes du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

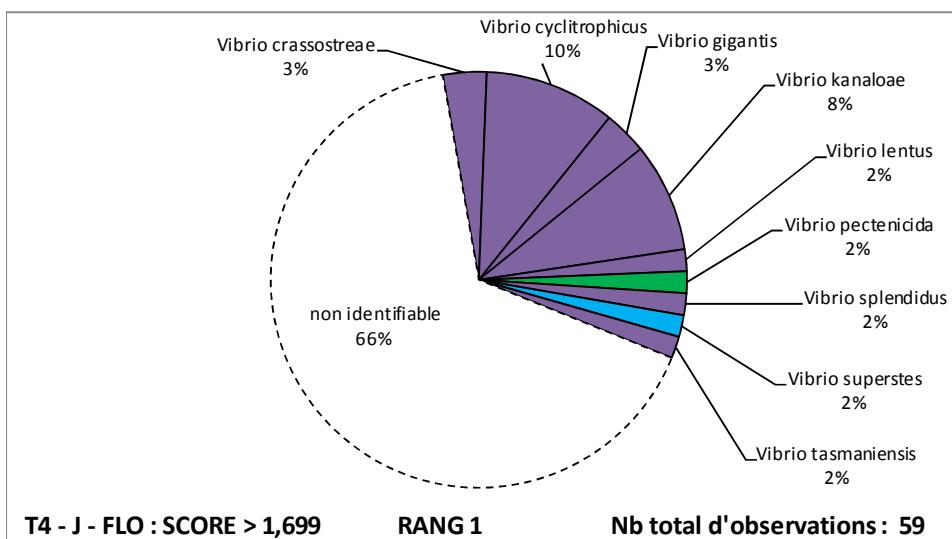
1 espèce est majoritaire : *V. cyclitrophicus*.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

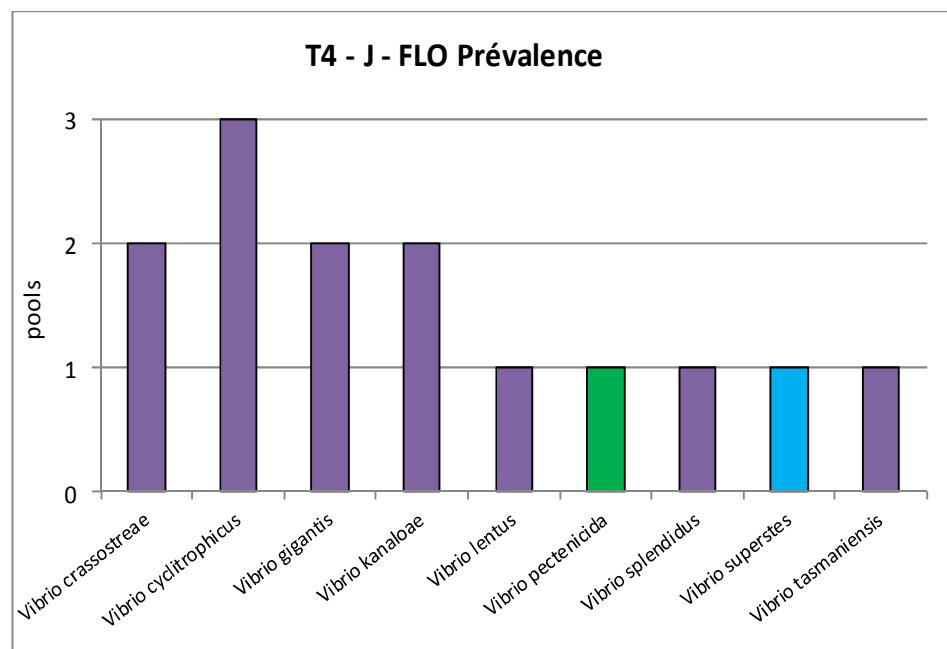
*V. cyclitrophicus* représente en moyenne 10% des colonies analysées.

Distribution des souches

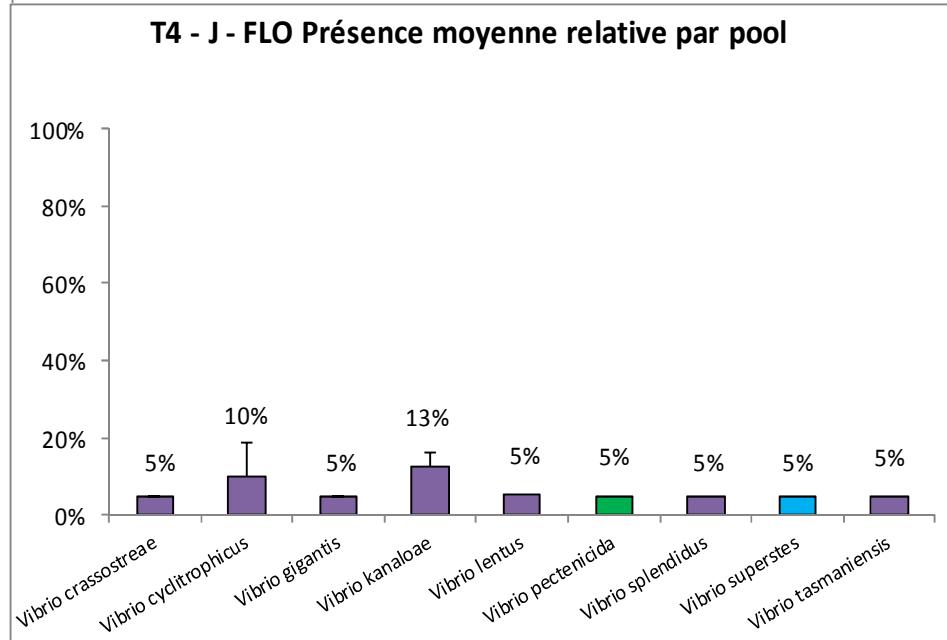
Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



Distribution des souches  
Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches  
Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de LA BERNERIE – T(2)

Date d'échantillonnage : 14 mai 2014

1 Groupe familles Vibrio représenté - proportion	
Groupe Splendidus	67 %
Non identifié	33 %

5 souches observées
<i>Vibrio crassostreae</i>
<i>Vibrio cyclitrophicus</i>
<i>Vibrio lento</i>
<i>Vibrio splendidus</i>
<i>Vibrio tasmaniensis</i>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 67% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

Seul le groupe Splendidus est présent.

### Diversité des souches observées :

5 espèces sont observées, toutes du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

3 espèces sont majoritaires : *V. cyclitrophicus*, *V. splendidus* et *V. tasmaniensis*

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

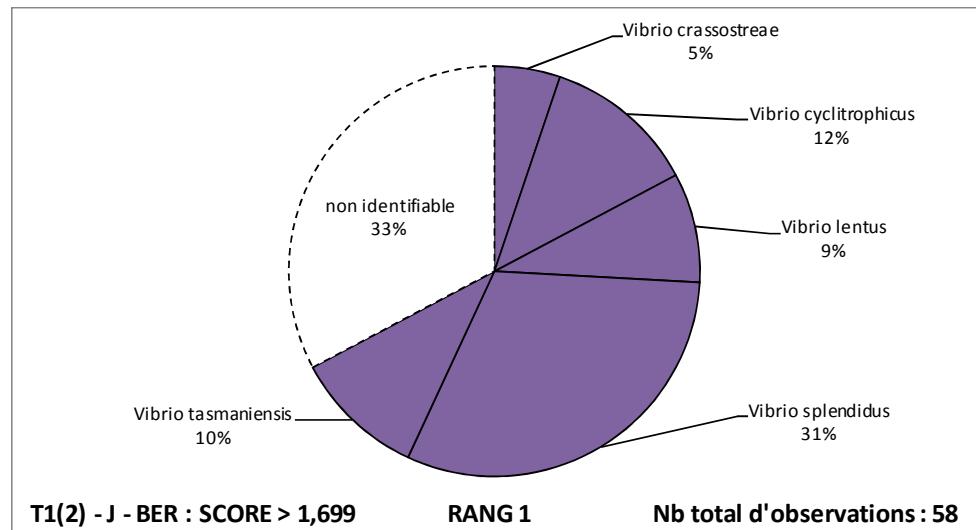
*V. cyclitrophicus* représente en moyenne 11% des colonies observées.

*V. splendidus* représente en moyenne 29% des colonies analysées.

*V. tasmaniensis* représente en moyenne 10% des colonies analysées.

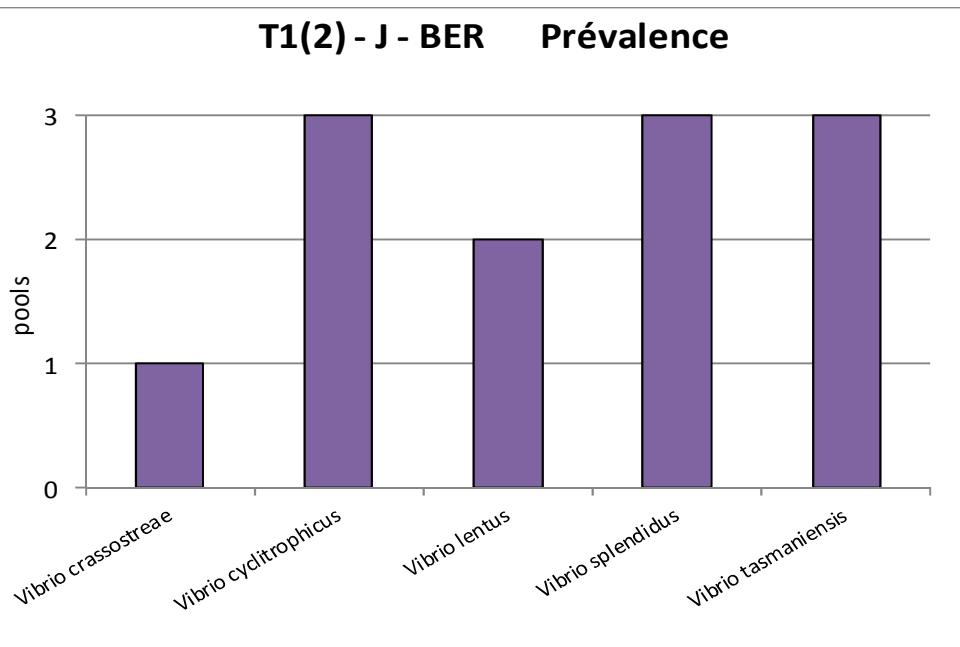
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



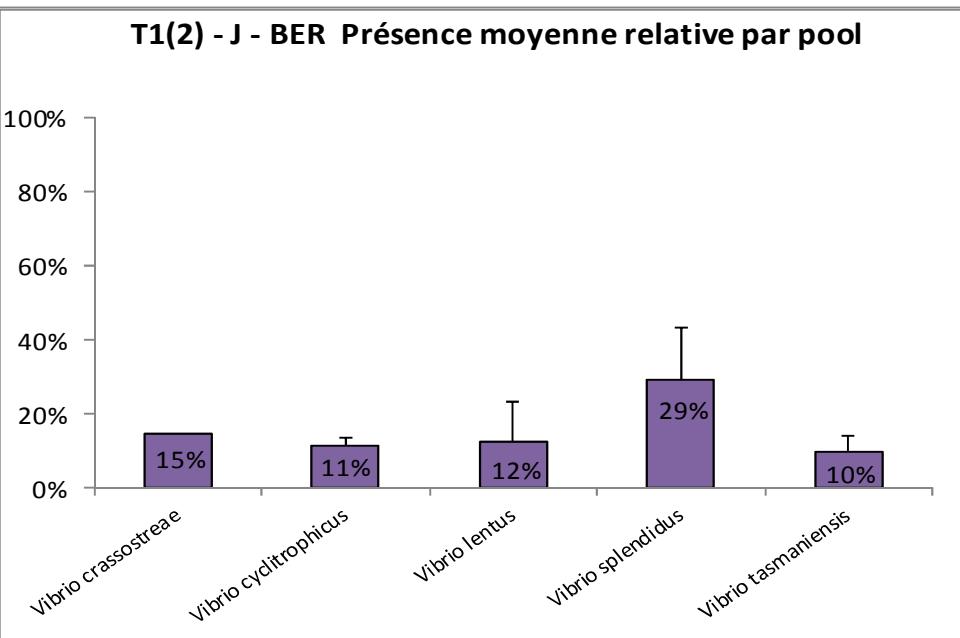
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de LA BERNERIE – T3

Date d'échantillonnage : 12 août 2014

1 Groupe familles Vibrio représenté - proportion	
Groupe Splendidus	7 %
Non identifié	90 %

4 souches observées
<i>Vibrio cyclotrophicus</i>
<i>Vibrio fortis</i>
<i>Vibrio pelagius</i>
<i>Vibrio tapetis</i>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 10% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

Seul le groupe Splendidus est représenté en plus de *V. tapetis*.

### Diversité des souches observées :

4 espèces sont observées, toutes du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

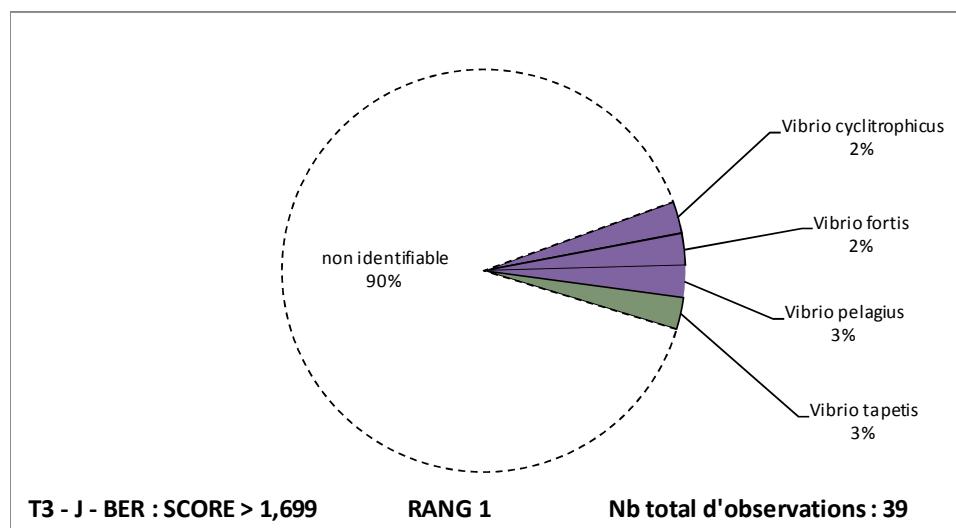
Aucune espèce n'est majoritaire.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

Les espèces retrouvées représentent 5% des colonies observées.

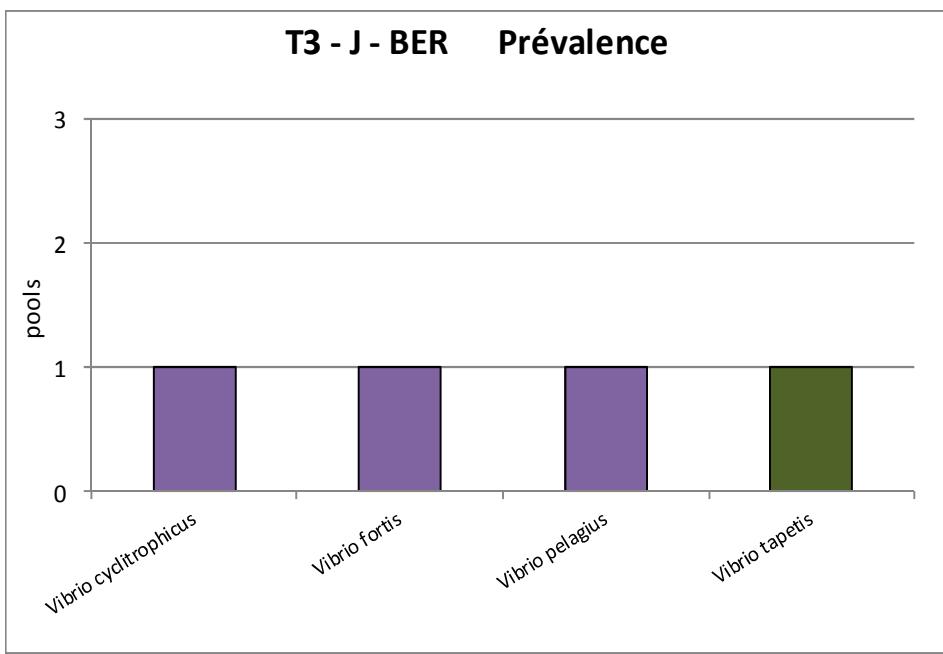
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



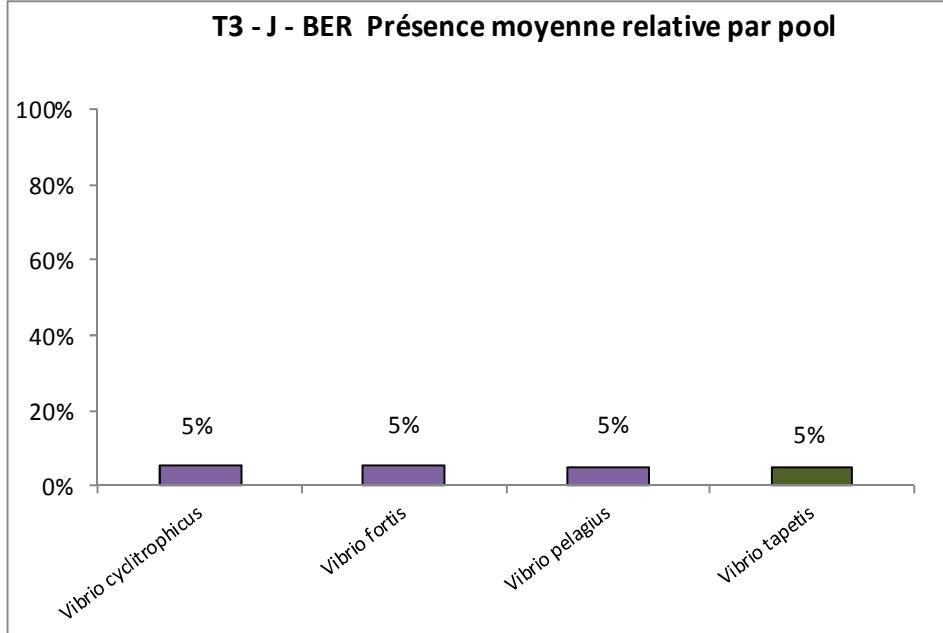
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de LA BERNERIE – T4

Date d'échantillonnage : 25 novembre 2014

1 Groupe familles Vibrio représenté - proportion	
Groupe Splendidus	32 %
Non identifié	68 %

5 souches observées
Vibrio crassostreae
Vibrio cyclitrophicus
Vibrio kanaloae
Vibrio lentinus
Vibrio splendidus

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 32% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

Seul le groupe Splendidus est représenté.

### Diversité des souches observées :

5 espèces sont observées, toutes du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

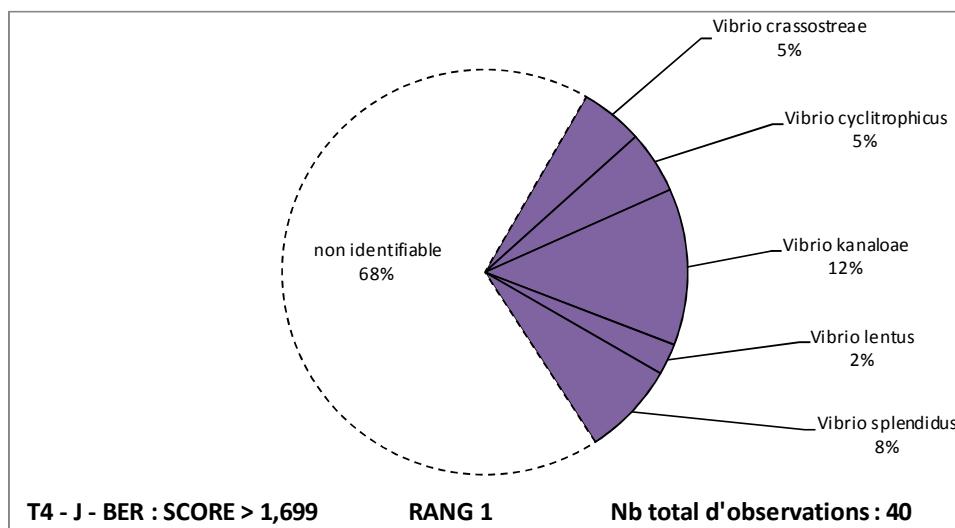
Aucune espèce n'est majoritaire.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

Les espèces retrouvées représentent 5% à 15% des colonies observées.

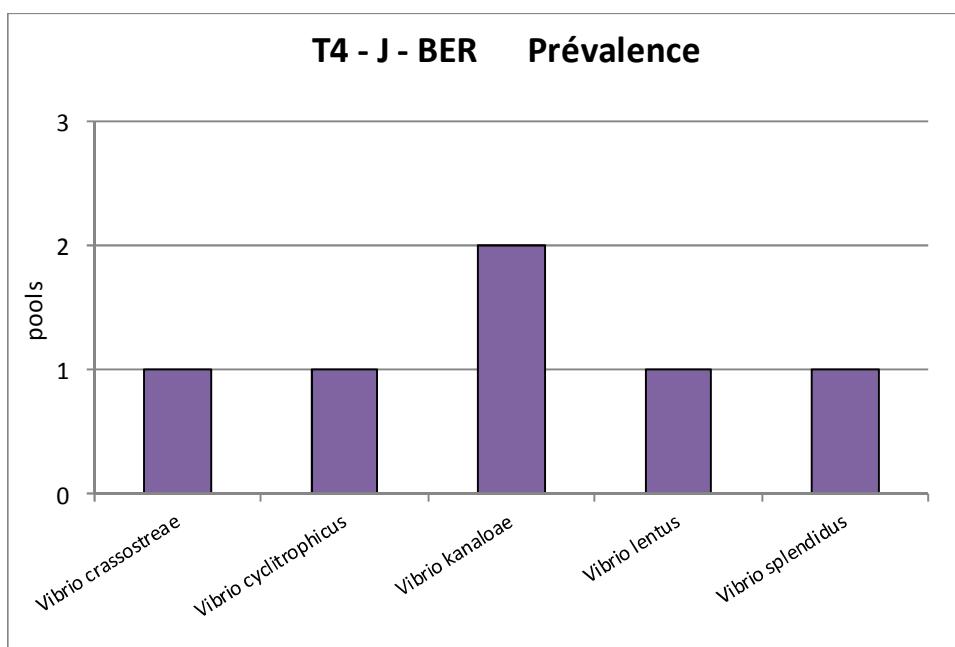
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



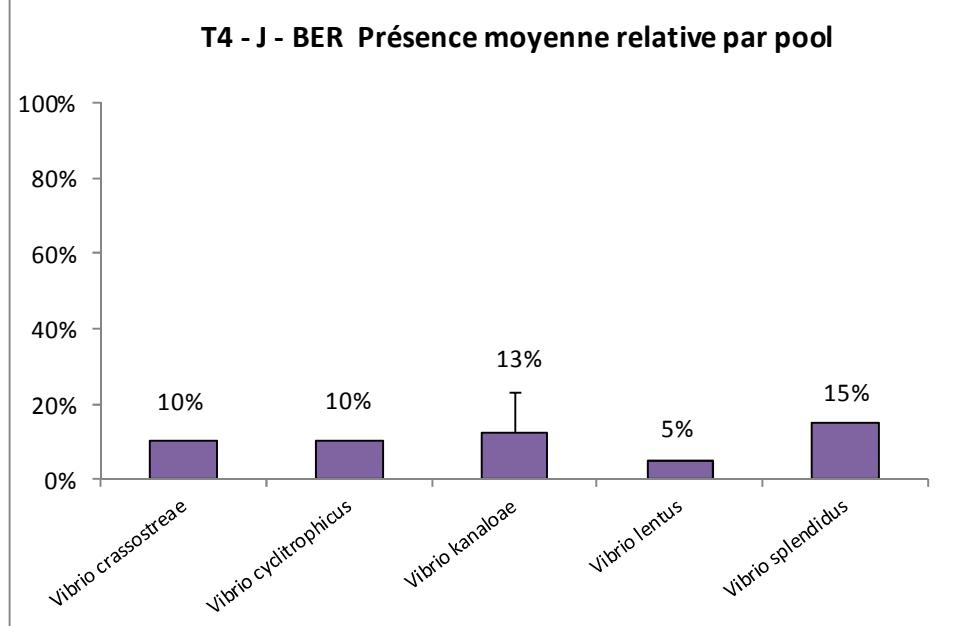
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de BLAINVILLE – T1

Date d'échantillonnage : 26 mai 2014

2 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe Splendidus	11 %
Groupe Halioticoli	2 %
Non identifié	87 %

4 souches observées
Vibrio gigantis
Vibrio splendidus
Vibrio tasmaniensis
Vibrio superstes

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 13% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

2 groupes sont observés mais le groupe Splendidus est majoritaire à 84%.

### Diversité des souches observées :

4 espèces sont observées, toutes du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

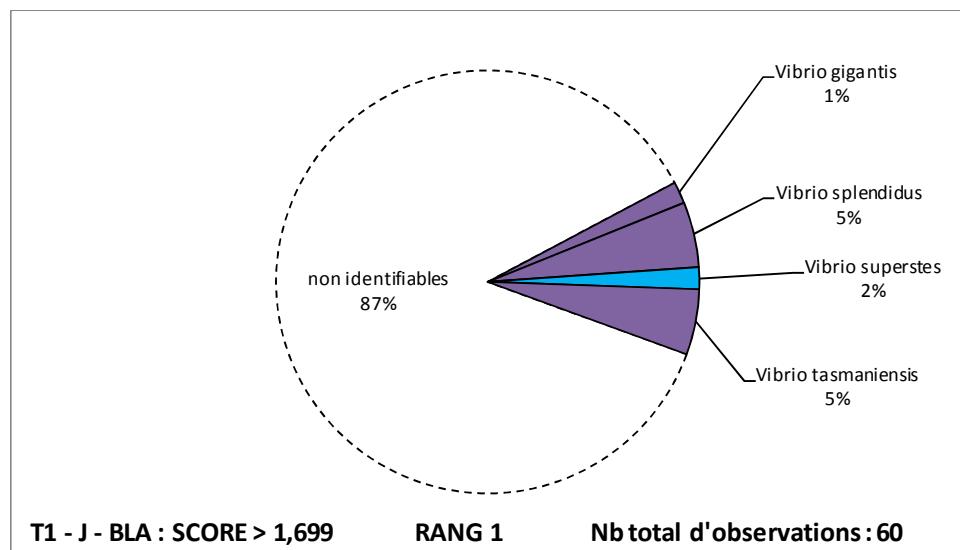
Aucune espèce n'est majoritaire.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

Les espèces retrouvées représentent 5% à 8% des colonies observées.

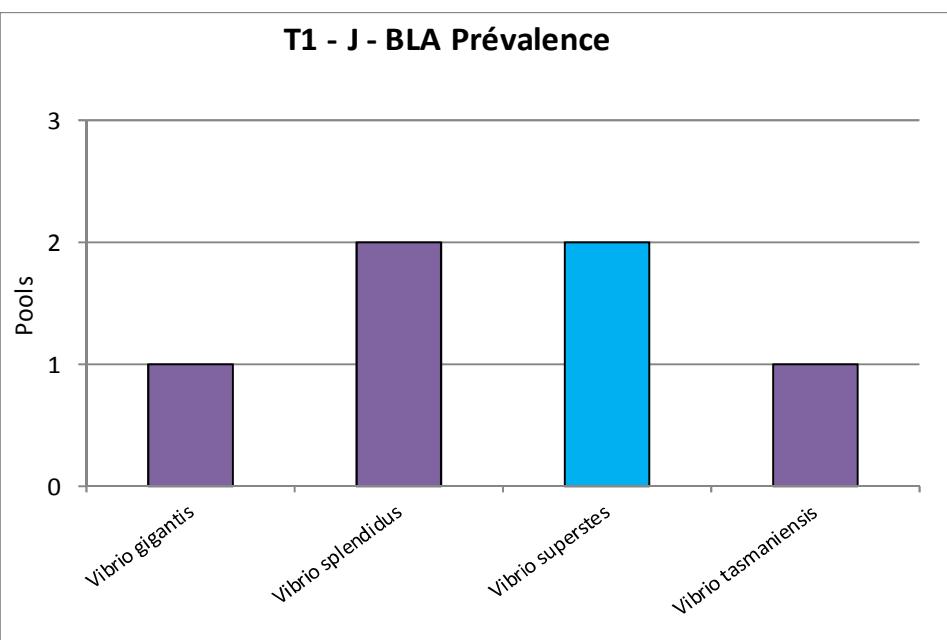
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



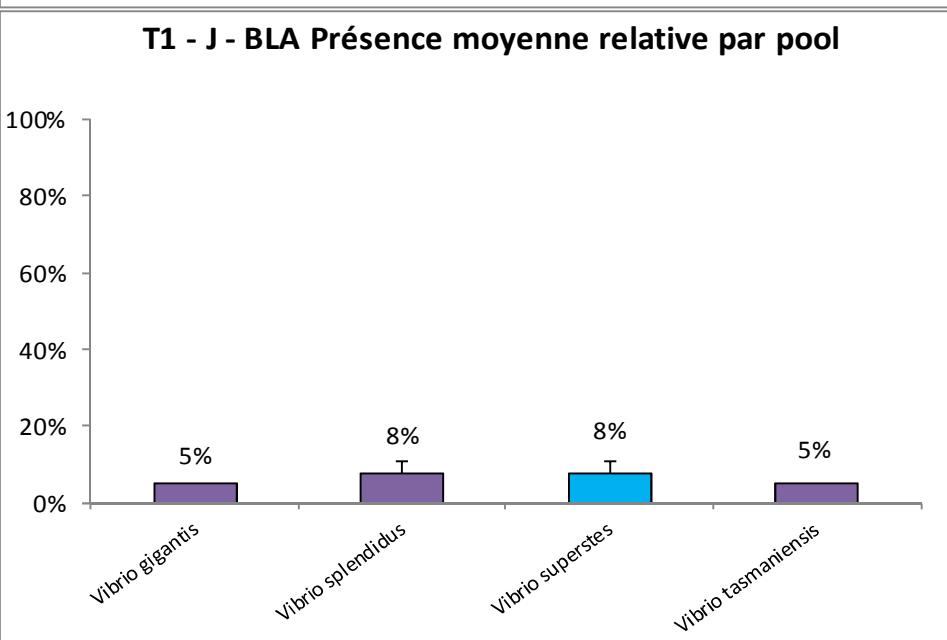
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de BLAINVILLE – T2

Date d'échantillonnage : 12 juin 2014

2 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe Splendidus	24 %
Groupe Halioticoli	5 %
Non identifié	71 %

5 souches identifiées
Vibrio crassostreae
Vibrio kanaloae
Vibrio splendidus
Vibrio tasmaniensis
Vibrio superstes

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 29% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

2 groupes sont observés mais le groupe Splendidus est majoritaire à 83%.

### Diversité des souches observées :

5 espèces sont observées, toutes du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

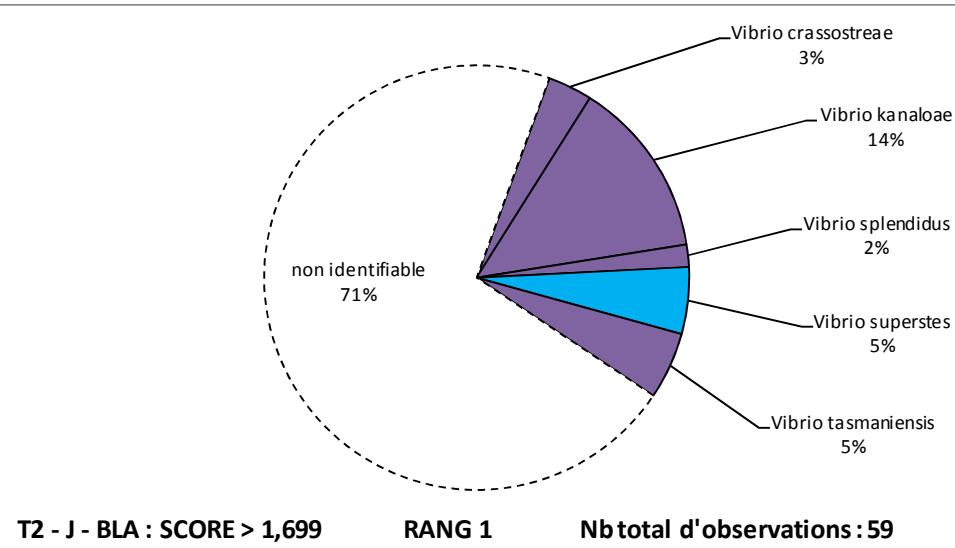
Aucune espèce n'est majoritaire.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

La plupart des espèces retrouvées représentent 5% à 15% des colonies observées mais *V. kanaloae* représente dans un pool 40% des colonies observées.

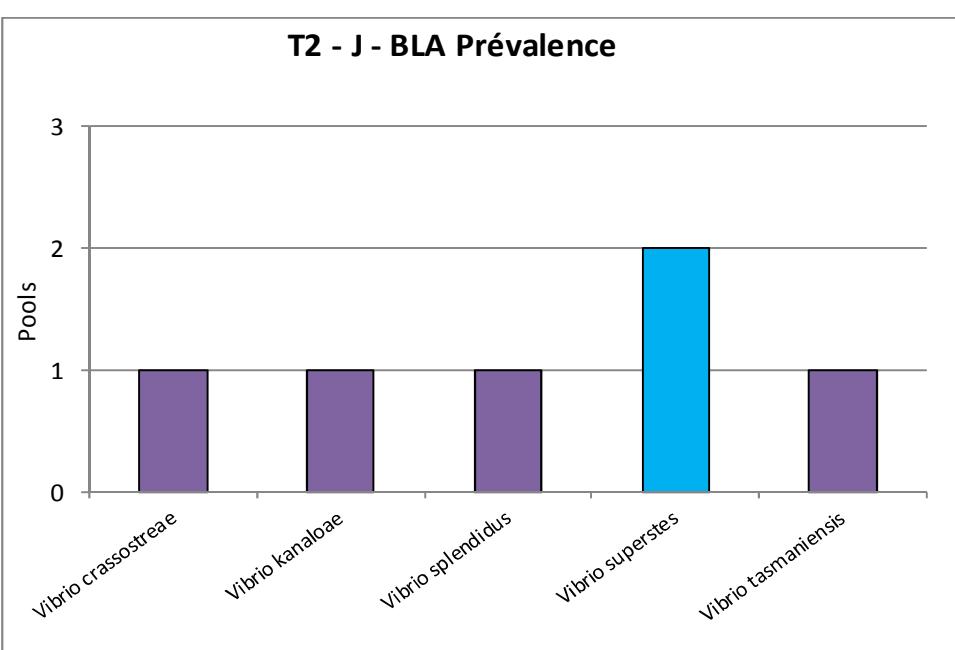
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



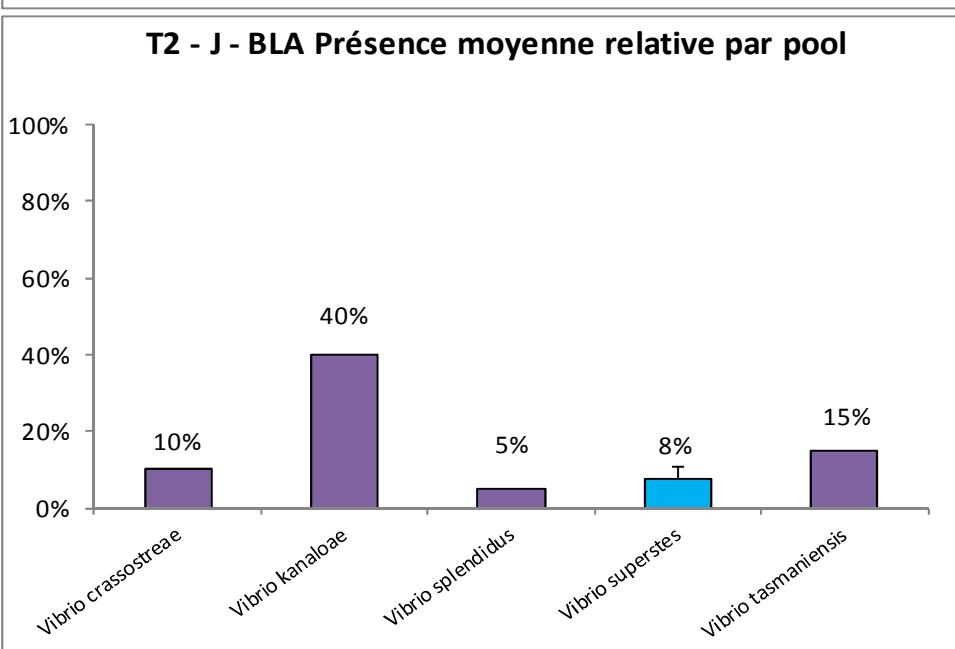
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de BLAINVILLE – T3

Date d'échantillonnage : 11 août 2014

2 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe Splendidus	22 %
Groupe Halioticoli	3 %
Non identifié	75 %

6 souches identifiées
Vibrio chagassii
Vibrio crassostreae
Vibrio fortis
Vibrio gigantis
Vibrio kanaloae
Vibrio superstes

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 25% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

2 groupes sont observés mais le groupe Splendidus est majoritaire à 88%.

### Diversité des souches observées :

6 espèces sont observées, toutes du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

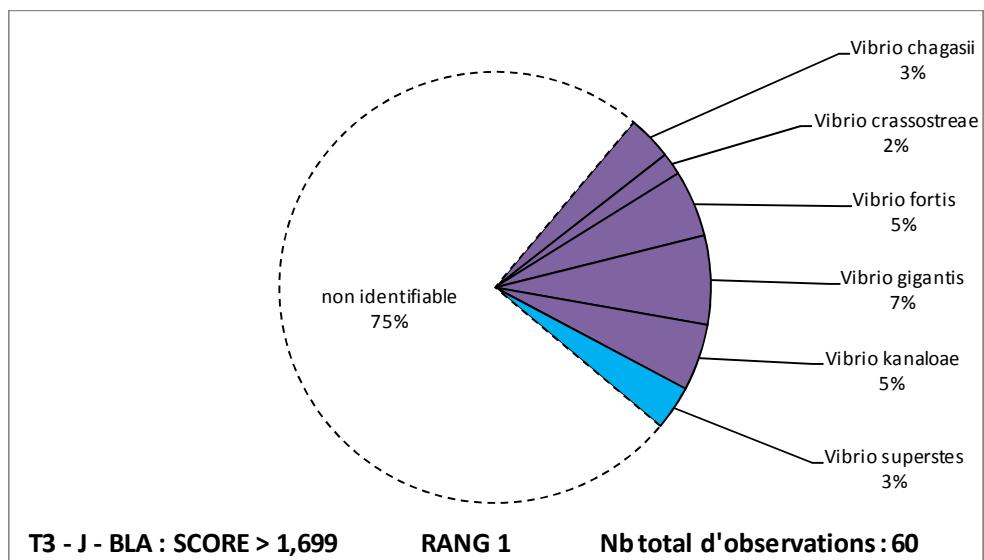
1 espèce est majoritaire : *V. gigantis*.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

*V. gigantis* représente 7% des colonies observées.

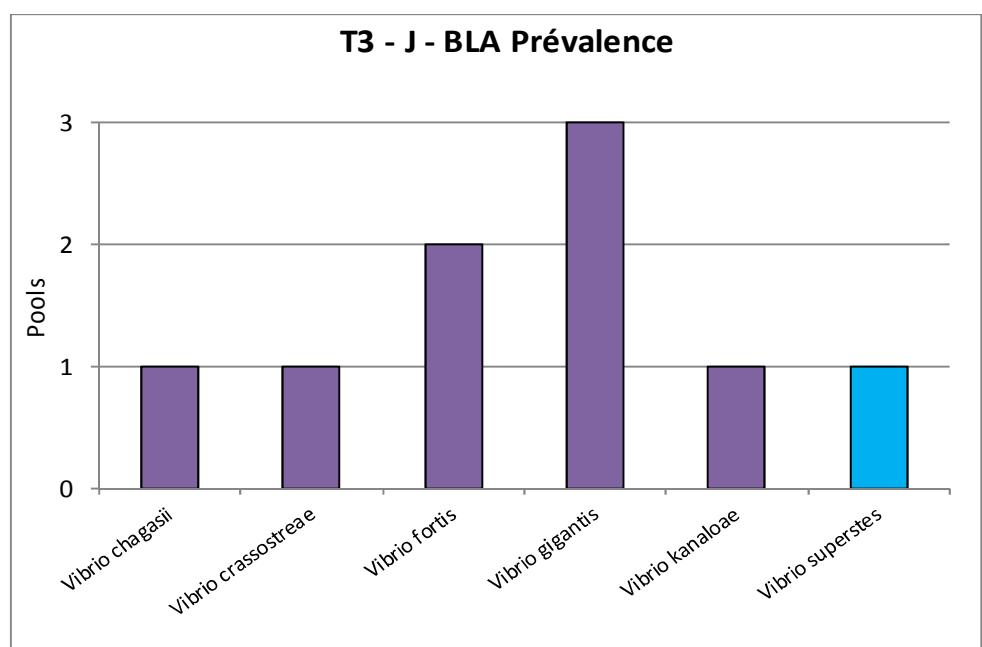
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



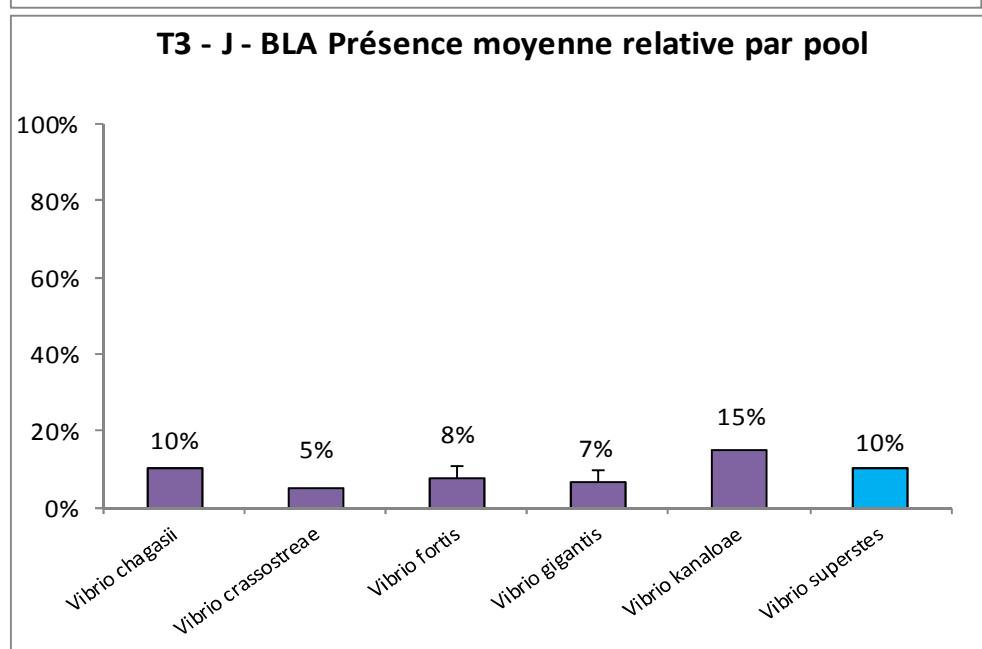
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de BLAINVILLE – T4

Date d'échantillonnage : 4 novembre 2014

1 Groupe familles Vibrio représenté - proportion	
Groupe Splendidus	2 %
Non identifié	98 %

1 souche observée
Vibrio kanaloae

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 2% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

Seul le groupe Splendidus est représenté.

### Diversité des souches observées :

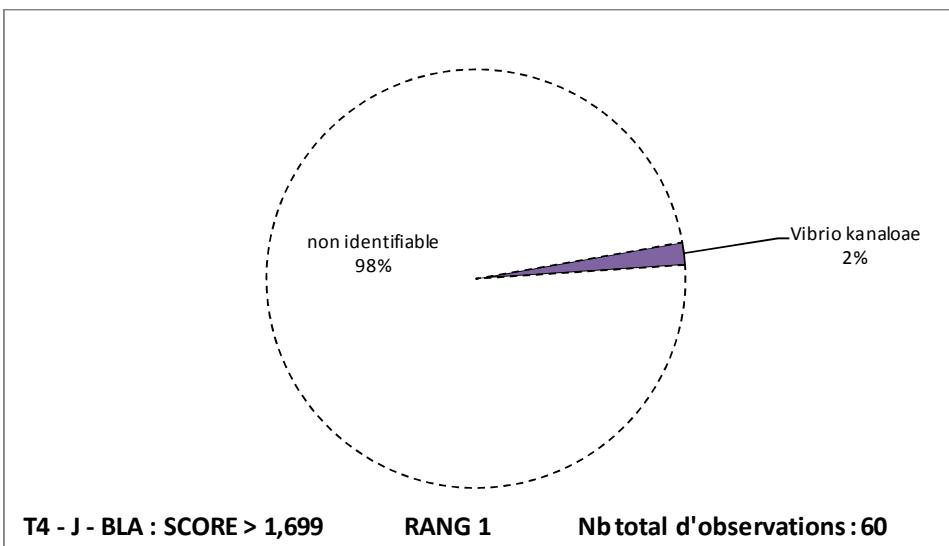
1 espèce du genre Vibrio est observée.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

Non majoritaire, *V. kanaloae* représente 5% des colonies observées.

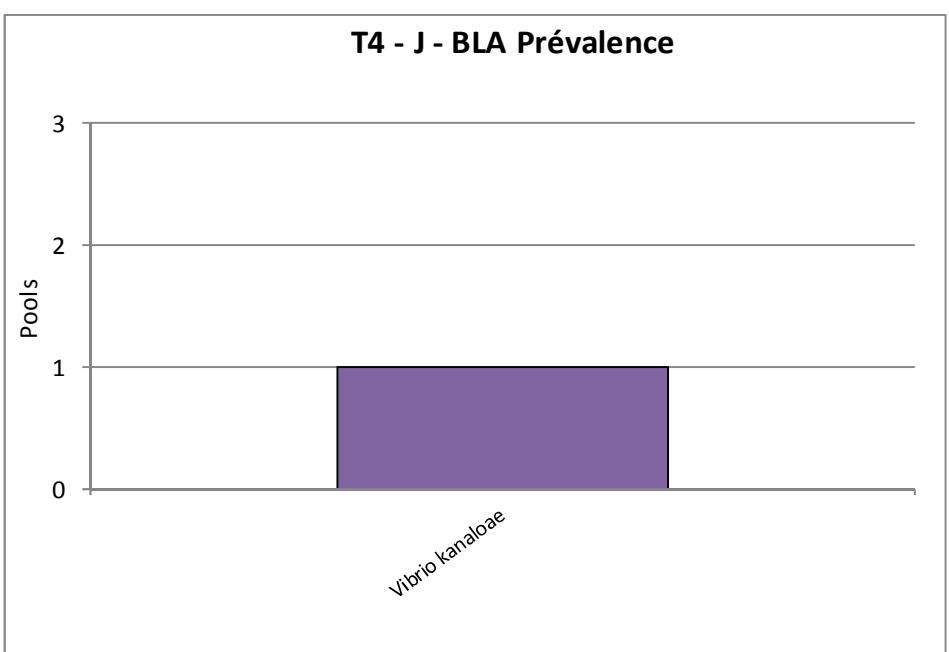
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



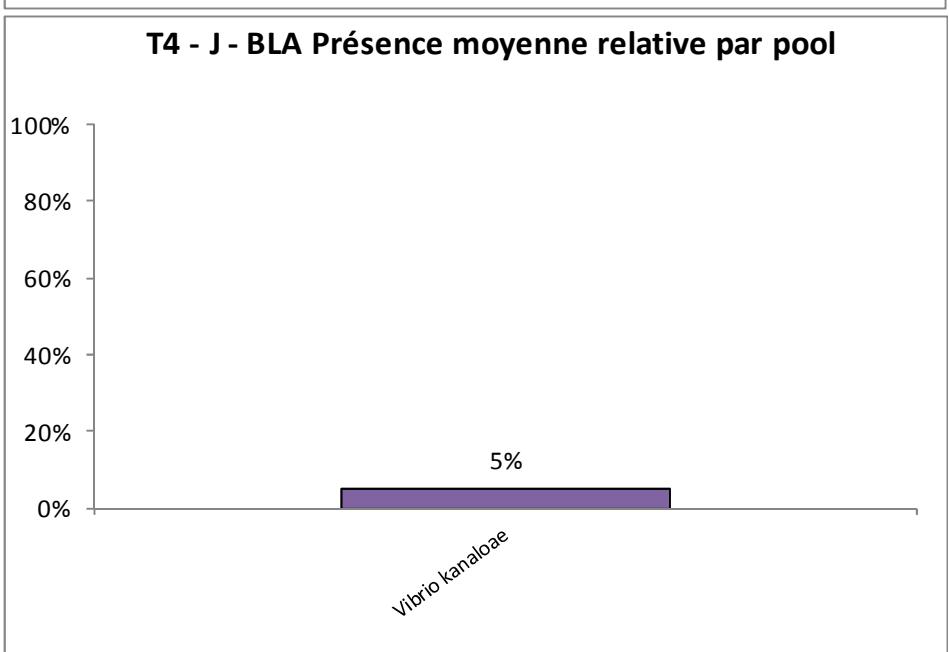
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de SAINT VAAST – T1

Date d'échantillonnage : 11 juin 2014

3 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe Splendidus	5 %
Groupe Pectenicida	2 %
Groupe Halioticoli	2 %
Non identifié	90 %

5 souches observées
Vibrio crassostreae
Vibrio kanaloae
Vibrio pectenicida
Vibrio superstes
Autre

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 9% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

3 groupes sont observés mais le groupe Splendidus est majoritaire à 55%.

### Diversité des souches observées :

5 espèces sont observées dont 4 du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

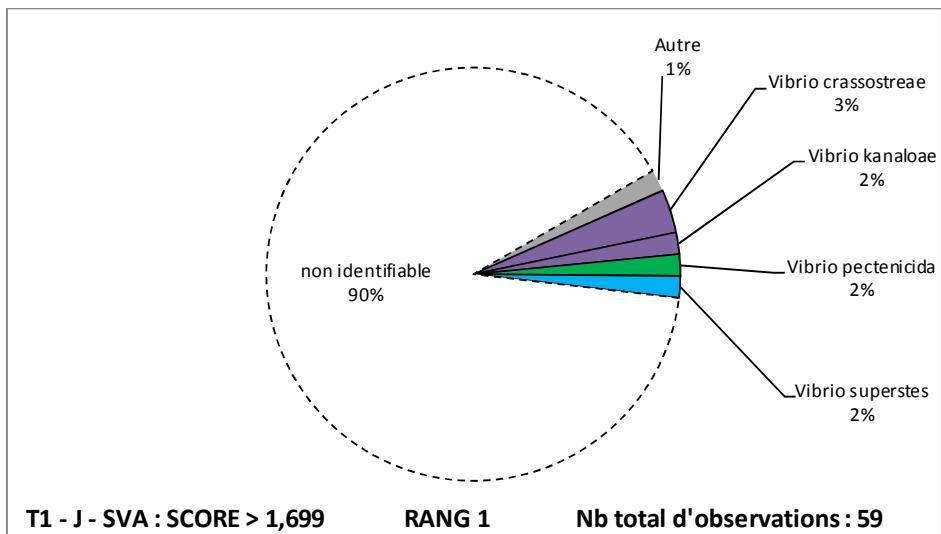
Aucune espèce n'est majoritaire.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

Les espèces retrouvées représentent 5% des colonies observées.

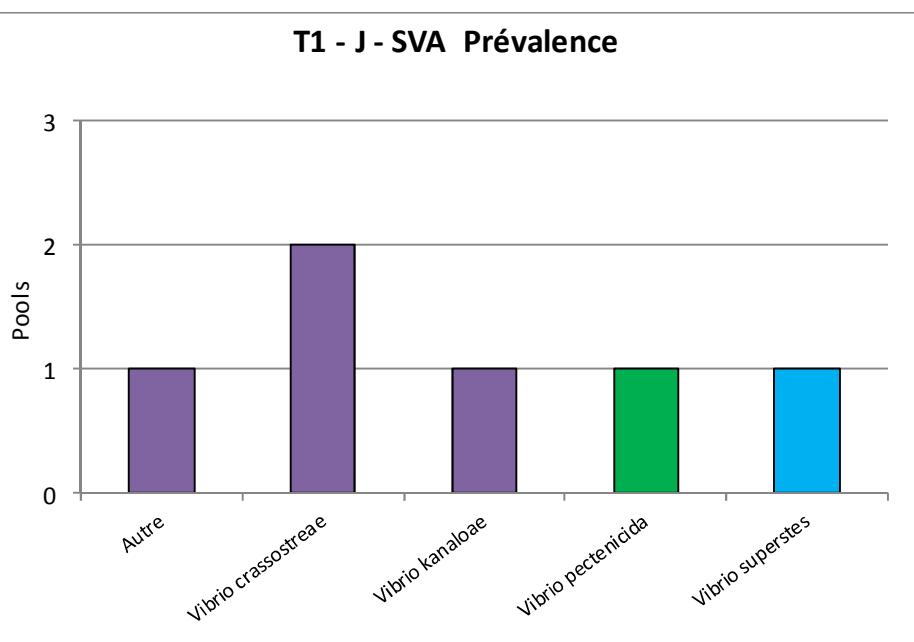
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



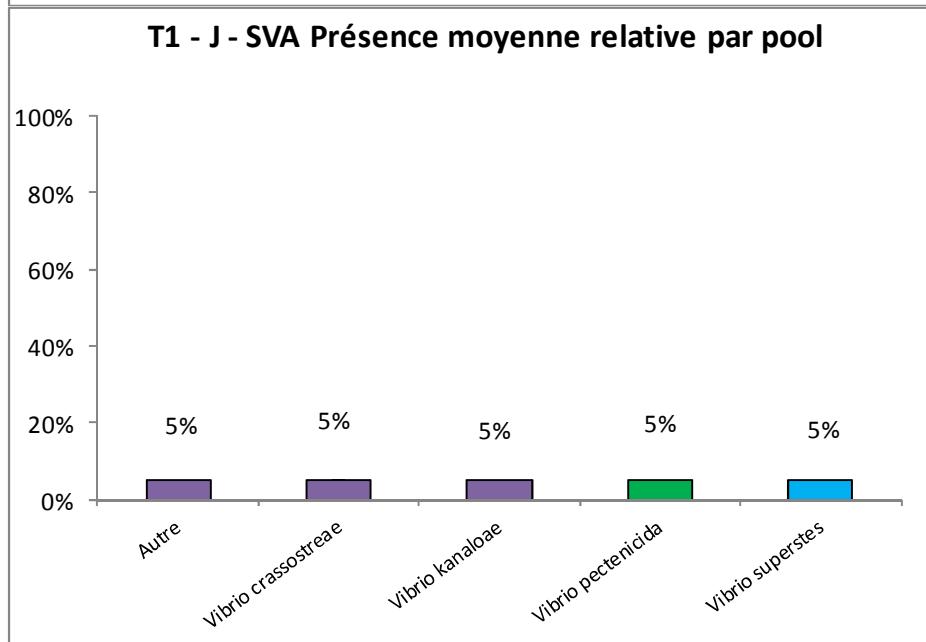
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de SAINT VAAST – T2

Date d'échantillonnage : 26 juin 2014

3 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe Splendidus	31 %
Groupe Pectenicida	4%
Groupe Halioticoli	30 %
Non identifié	35 %

7 souches observées
Vibrio crassostreae
Vibrio cyclitrophicus
Vibrio kanaloae
Vibrio lentus
Vibrio splendidus
Vibrio pectenicida
Vibrio superstes

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 65% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

3 groupes sont observés dont 2 majoritaires, le groupe Splendidus à 47% et le groupe Halioticoli à 46%.

### Diversité des souches observées :

7 espèces sont observées, toutes du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

3 espèces sont majoritaires : *V. kanaloae*, *V. lentus* et *V. superstes*.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

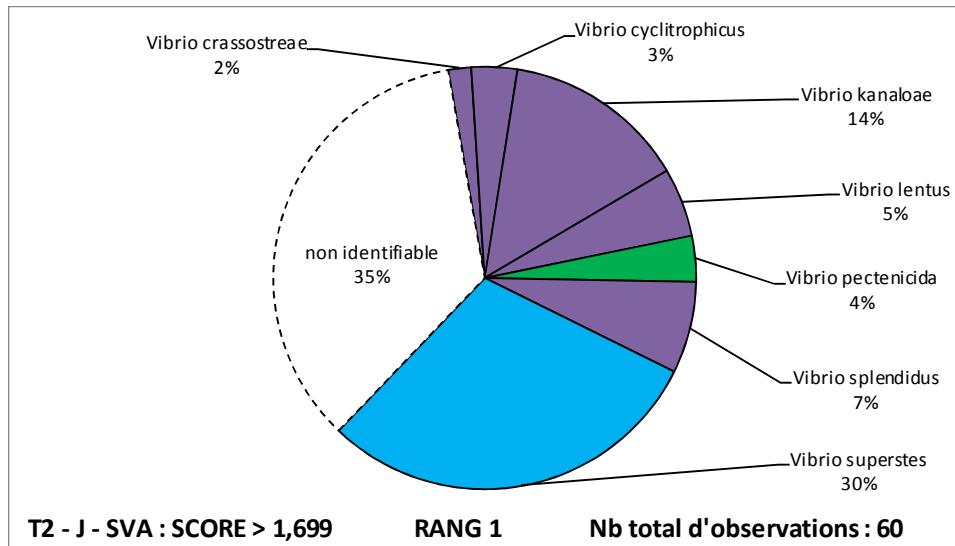
*V. kanaloae* représente 13% des colonies observées.

*V. lentus* représente 5% des colonies observées.

*V. superstes* représente 28% des colonies observées.

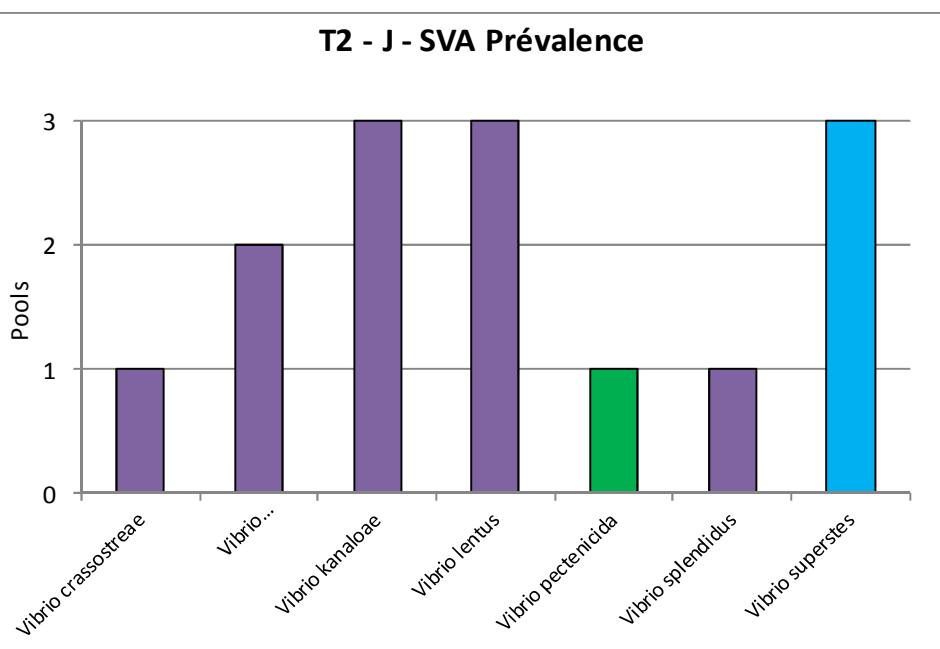
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



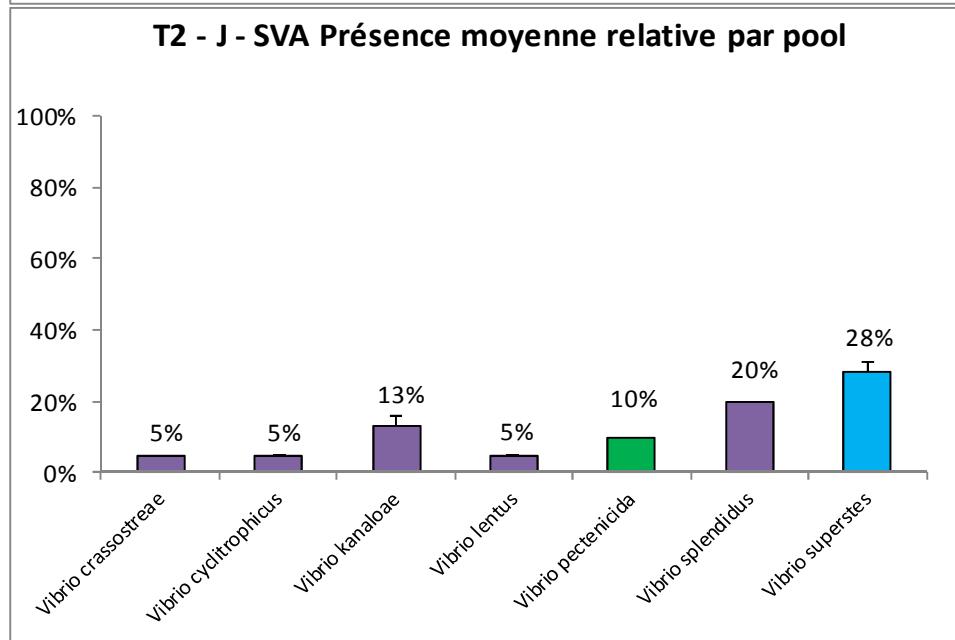
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de SAINT VAAST – T3

Date d'échantillonnage : 11 août 2014

3 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe Splendidus	3 %
Groupe Pectenicida	2 %
Groupe Halioticoli	2 %
Non identifié	93 %

4 souches observées
<i>Vibrio cyclitrophicus</i>
<i>Vibrio splendidus</i>
<i>Vibrio pectenicida</i>
<i>Vibrio superstes</i>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 7% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

3 groupes sont observés.

### Diversité des souches observées :

4 espèces sont observées, toutes du genre Vibrio.

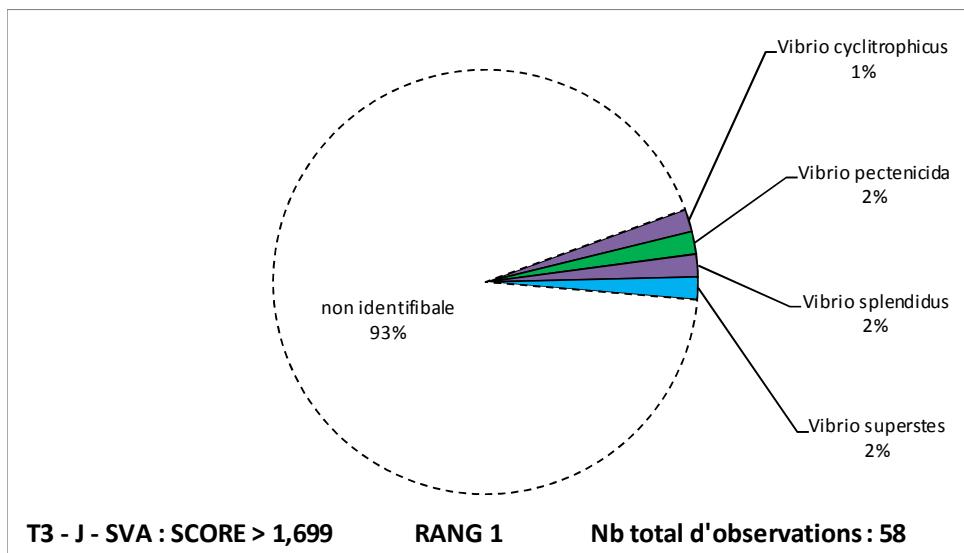
### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

Aucune espèce n'est majoritaire.

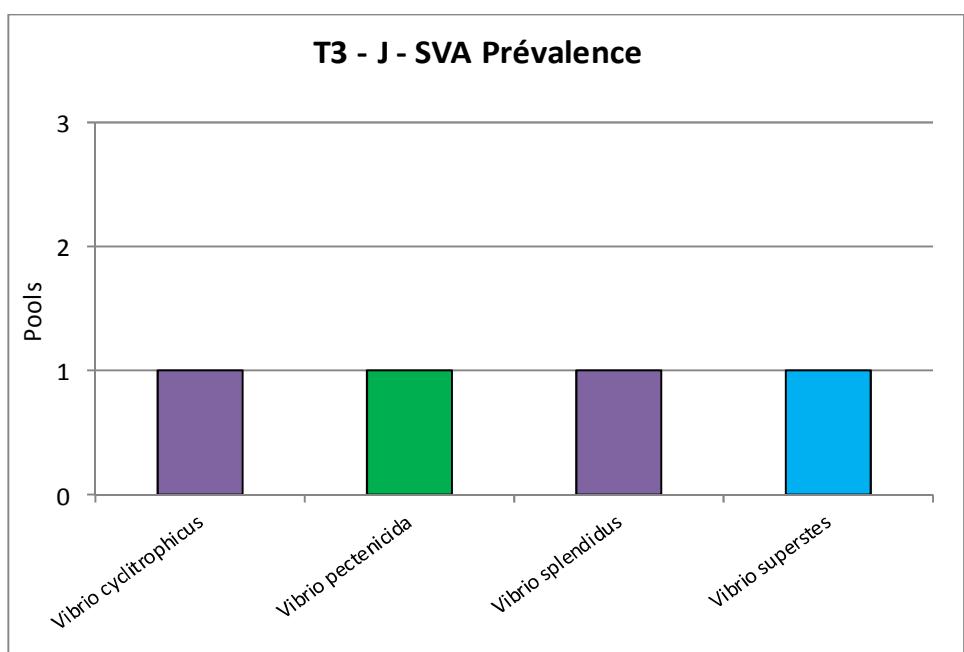
### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

Les espèces retrouvées représentent 5% des colonies observées.

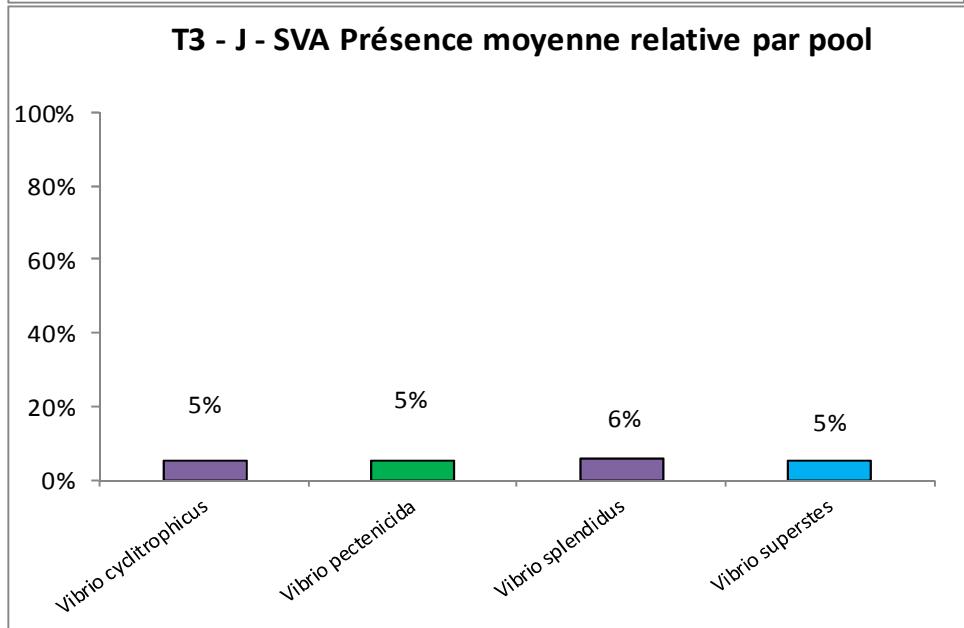
Distribution des souches  
Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



Distribution des souches  
Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches  
Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de SAINT VAAST – T4

Date d'échantillonnage : 20 novembre 2014

<b>2 Groupes familles Vibrio représentés - proportion</b>	
<b>Groupe Halioticoli</b>	<b>1 %</b>
<b>Groupe Pectenicida</b>	<b>2 %</b>
<b>Non identifié</b>	<b>97 %</b>

<b>2 souches observées</b>
<b>Vibrio superstes</b>
<b>Vibrio pectenicida</b>

### **Proportion de souches vibrions dans la flore :**

Les vibrions représentent 3% des souches de la flore totale.

### **Nombre de groupes de vibrions :**

2 groupes sont observés.

### **Diversité des souches observées :**

2 espèces sont observées, toutes du genre Vibrio.

### **Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :**

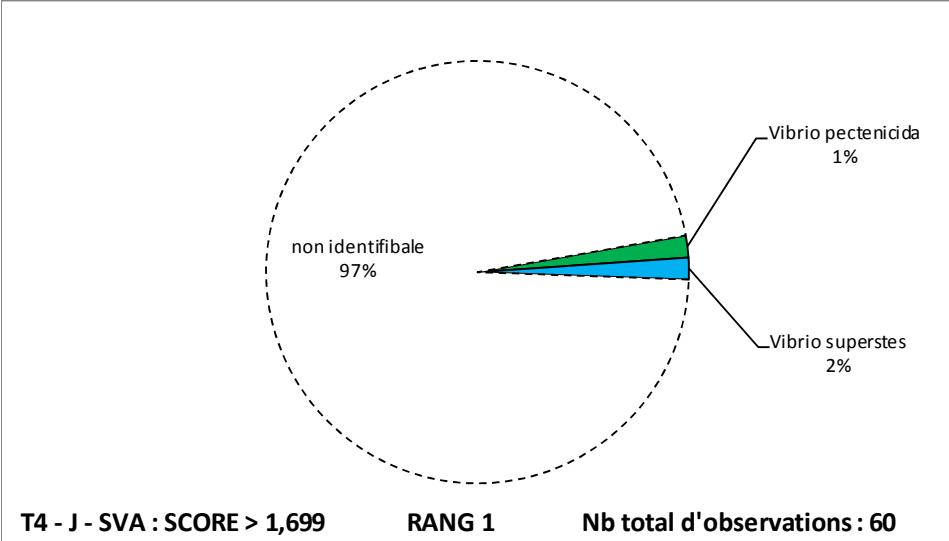
Aucune espèce n'est majoritaire.

### **Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :**

Les espèces retrouvées représentent 5% des colonies observées.

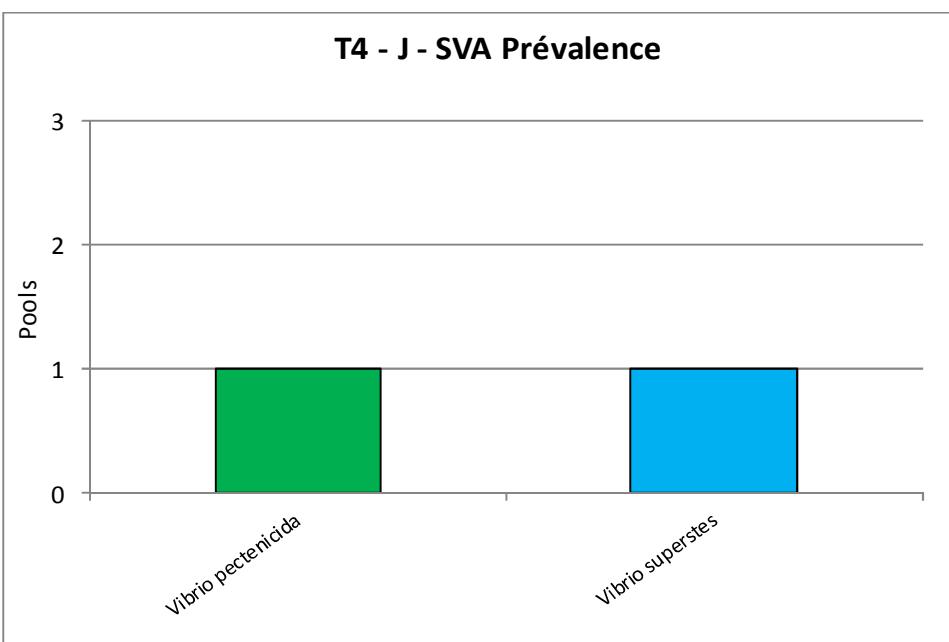
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



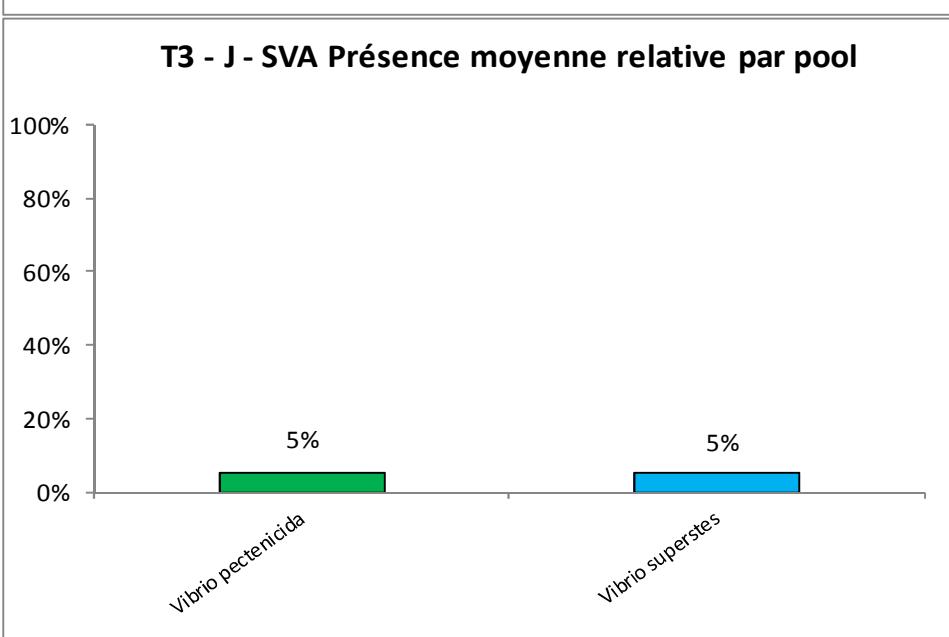
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Evolution de la flore vibronaceae

Classe d'âge

**ADULTE**

## Site de LAMOUROUX – T1

Date d'échantillonnage 13 mai 2014

1 Groupe familles Vibrio représenté - proportion	
Groupe Splendidus	75 %
Non identifié	23 %

7 souches observées
Autre
Vibrio crassostreeae
Vibrio cyclitrophicus
Vibrio kanaloae
Vibrio lentus
Vibrio splendidus
Vibrio tasmaniensis

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 75% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

Seul le groupe Splendidus est représenté.

### Diversité des souches observées :

7 espèces sont observées, dont 6 du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

2 espèces sont majoritaires : *V. splendidus* et *V.tasmaniensis*.

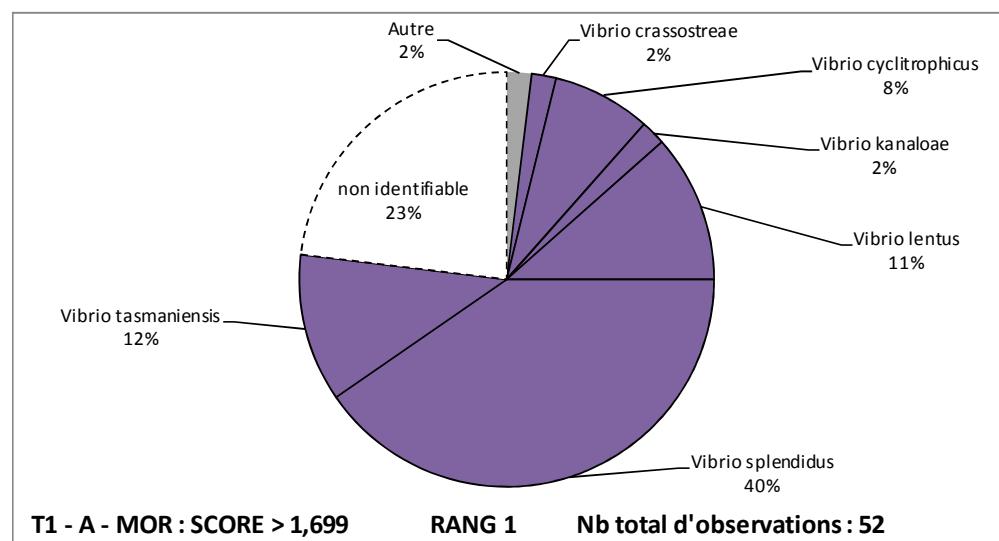
### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

*V. splendidus* représente en moyenne 42% des colonies analysées.

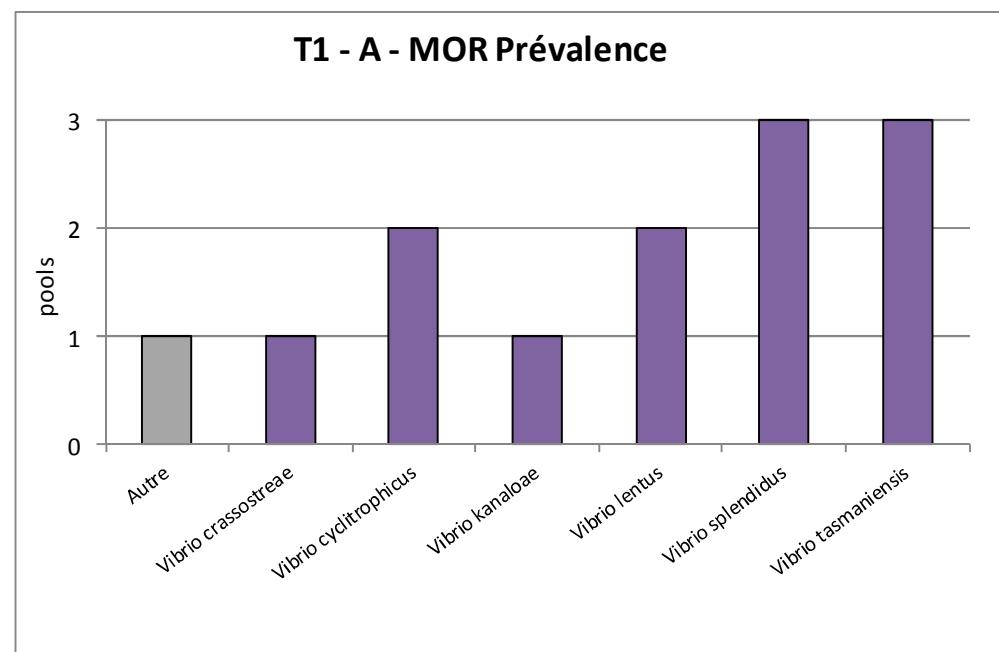
*V. tasmaniensis* représente en moyenne 11% des colonies analysées.

Distribution des souches

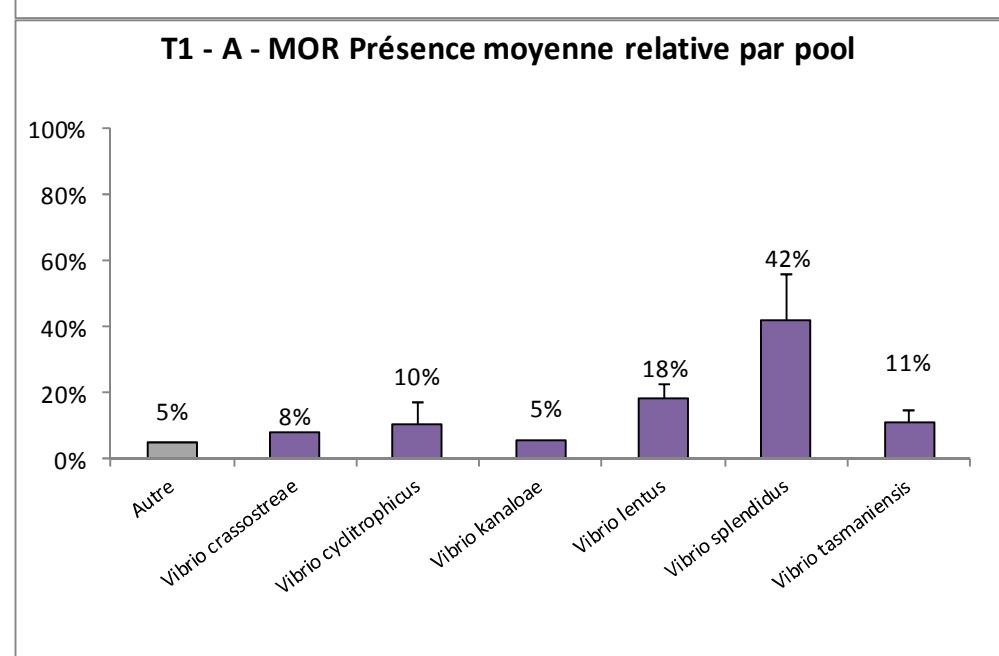
Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



Distribution des souches  
Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches  
Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de LAMOUREUX – T2

Date d'échantillonnage : 26 mai 2014

2 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe Splendidus	30 %
Groupe Halioticoli	2 %
Non identifié	67 %

6 souches observées
Autre
<b>Vibrio cyclitrophicus</b>
<b>Vibrio kanaloae</b>
<b>Vibrio splendidus</b>
<b>Vibrio tasmaniensis</b>
<b>Vibrio superstes</b>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 32% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

2 groupes sont représentés, le groupe Splendidus étant majoritaire à 94%.

### Diversité des souches observées :

6 espèces sont observées, dont 5 du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

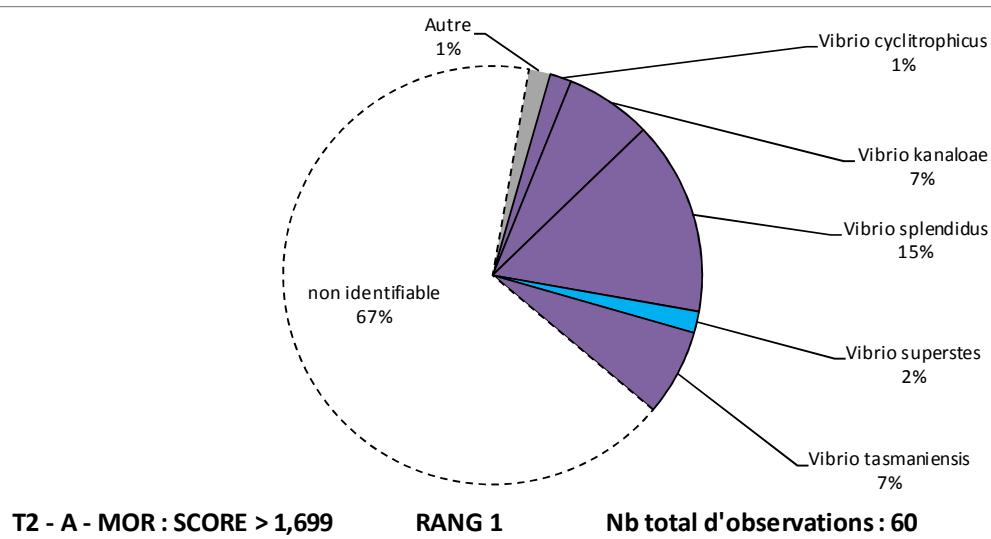
1 espèce est majoritaire : *V. splendidus*.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

*V. splendidus* représente en moyenne 15% des colonies analysées.

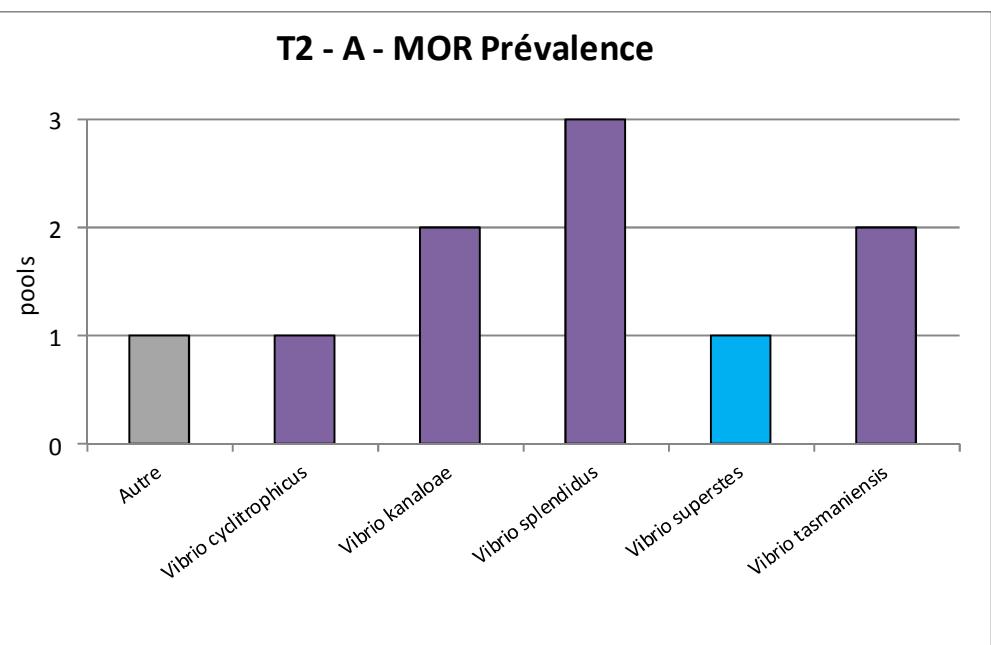
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



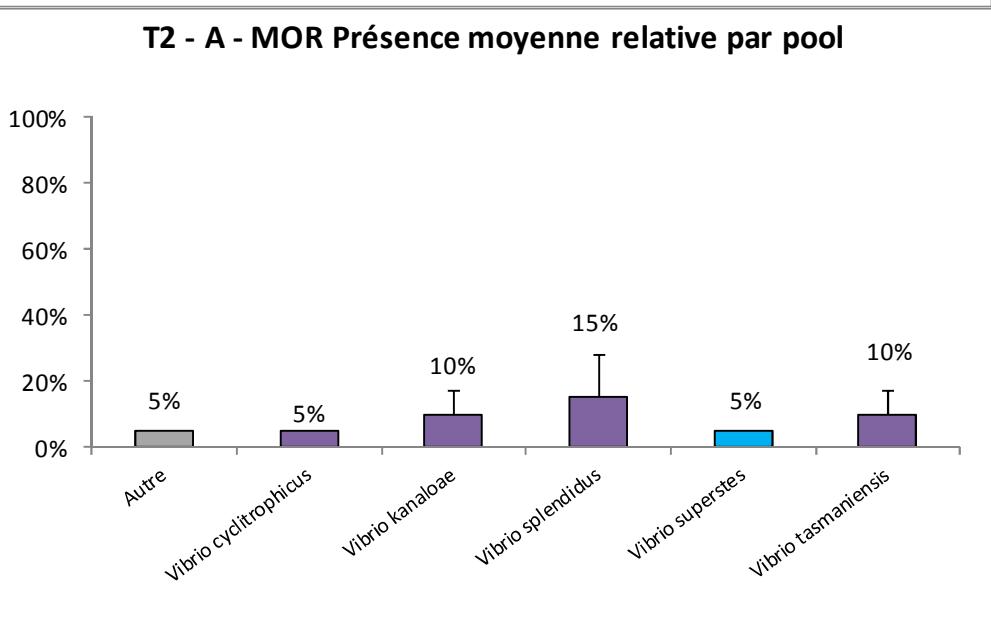
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de LAMOUROUX – T3

Date d'échantillonnage : 26 août 2014

4 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe Anguillarum	19 %
Groupe mediterranei	3 %
Groupe Nereis	2 %
Groupe Splendidus	20 %
Non identifié	54 %

8 souches observées
<i>Vibrio aestuarianus</i>
<i>Vibrio mediterranei</i>
<i>Vibrio nereis</i>
<i>Vibrio shilonii</i>
<i>Vibrio crassostreae</i>
<i>Vibrio cyclitrophicus</i>
<i>Vibrio fortis</i>
<i>Vibrio splendidus</i>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 46% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

4 groupes sont représentés, le groupe Splendidus étant majoritaire à 43% et le groupe Anguillarum à 41%.

### Diversité des souches observées :

8 espèces sont observées, toutes du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

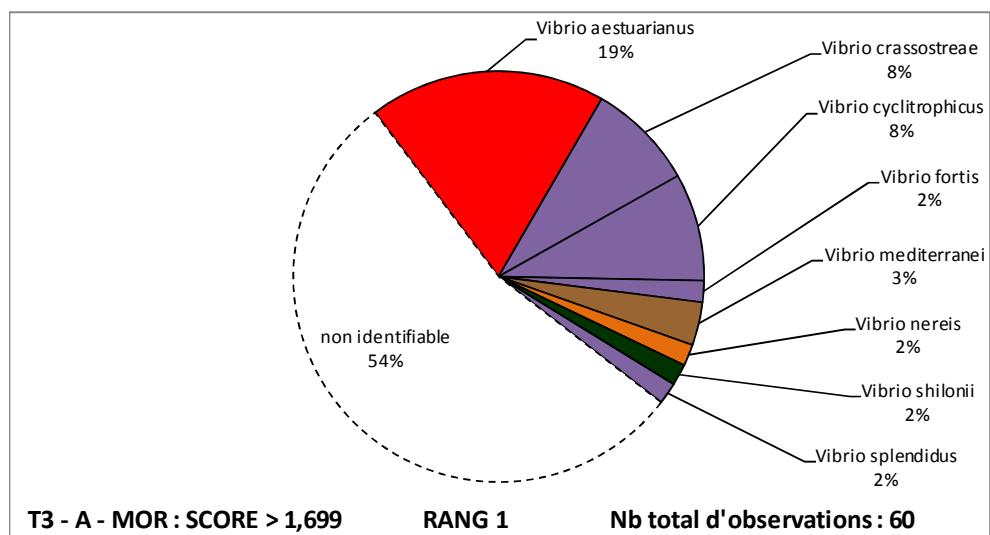
Aucune espèce n'est majoritaire : *V. crassostreae* et *V. cyclitrophicus* sont retrouvés dans 2 pools/3.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

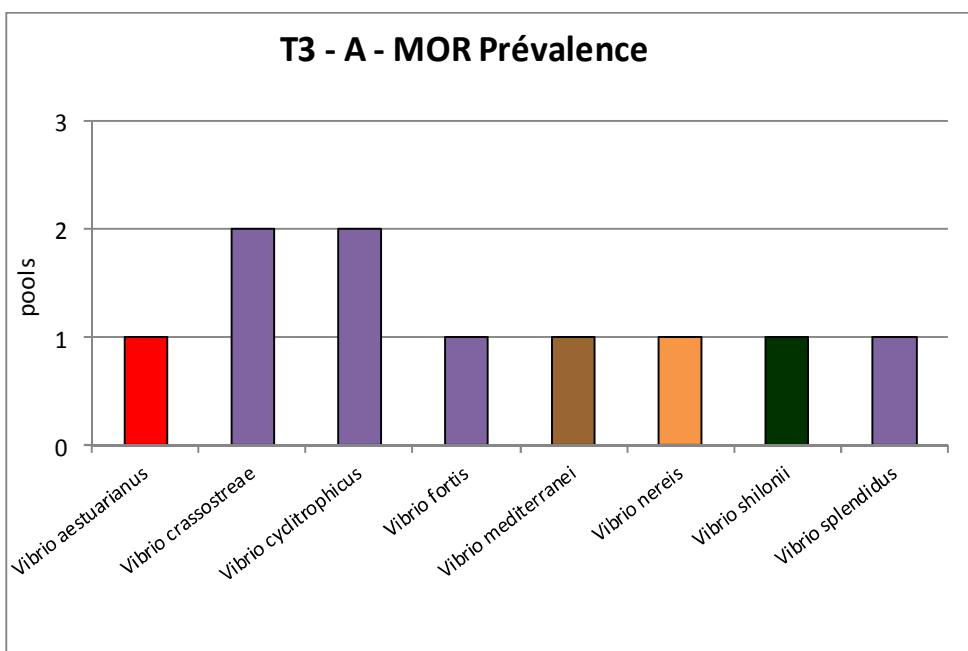
*V. crassostreae* et *V. cyclitrophicus* représentent en moyenne 13% des colonies analysées.

Notons que *V. aestuarianus* n'est présent que dans 1 pool mais représente 58% des colonies analysées.

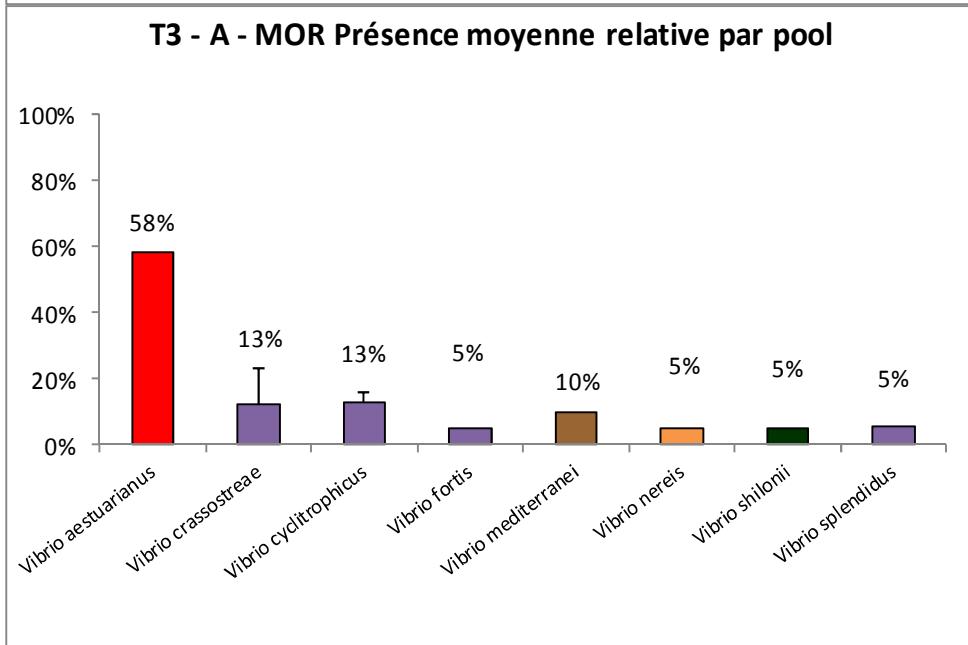
Distribution des souches  
Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



Distribution des souches  
Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches  
Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de LAMOUREUX – T4

Date d'échantillonnage : 24 novembre 2014

1 Groupe familles Vibrio représenté - proportion	
Groupe Splendidus	13 %
Non identifié	87 %

4 souches observées
<b>Vibrio cyclitrophicus</b>
<b>Vibrio kanaloae</b>
<b>Vibrio splendidus</b>
<b>Vibrio tasmaniensis</b>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 13% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

Seul le groupe Splendidus est représenté.

### Diversité des souches observées :

4 espèces sont observées, toutes du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

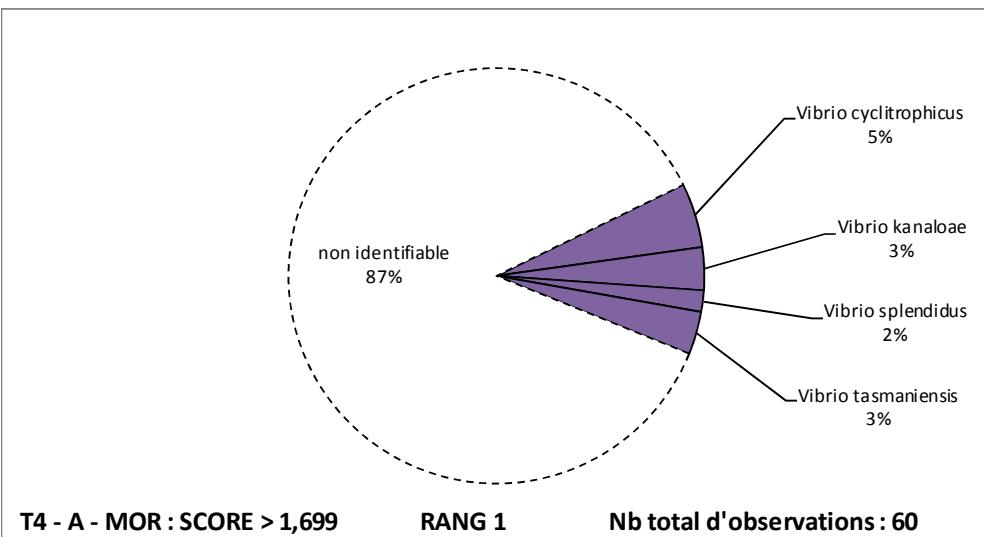
1 espèce est majoritaire : *V. cyclitrophicus*.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

*V. cyclitrophicus* représente en moyenne 5% des colonies analysées.

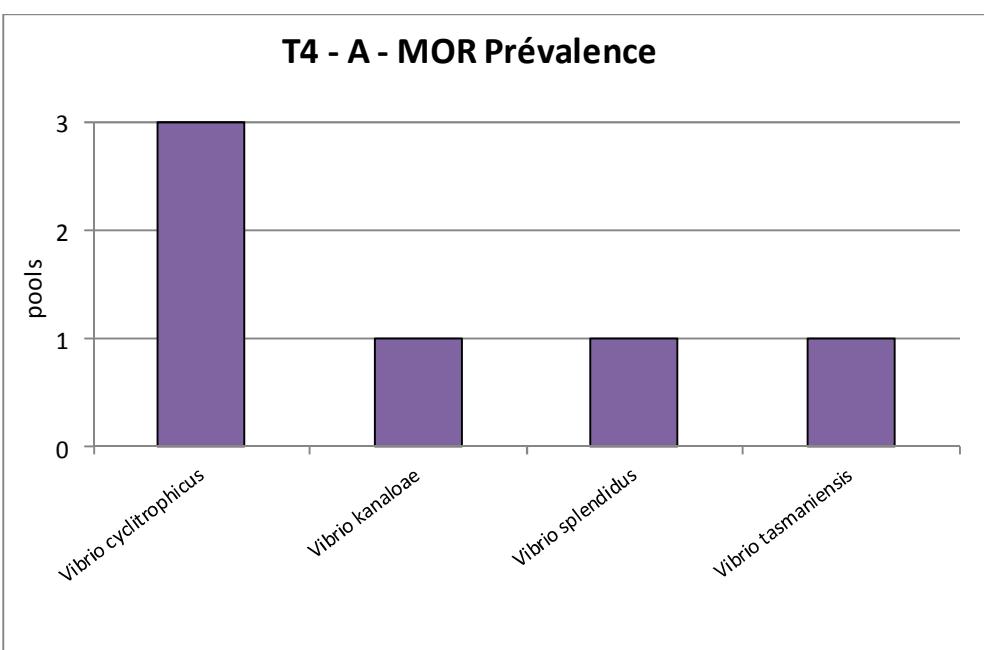
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



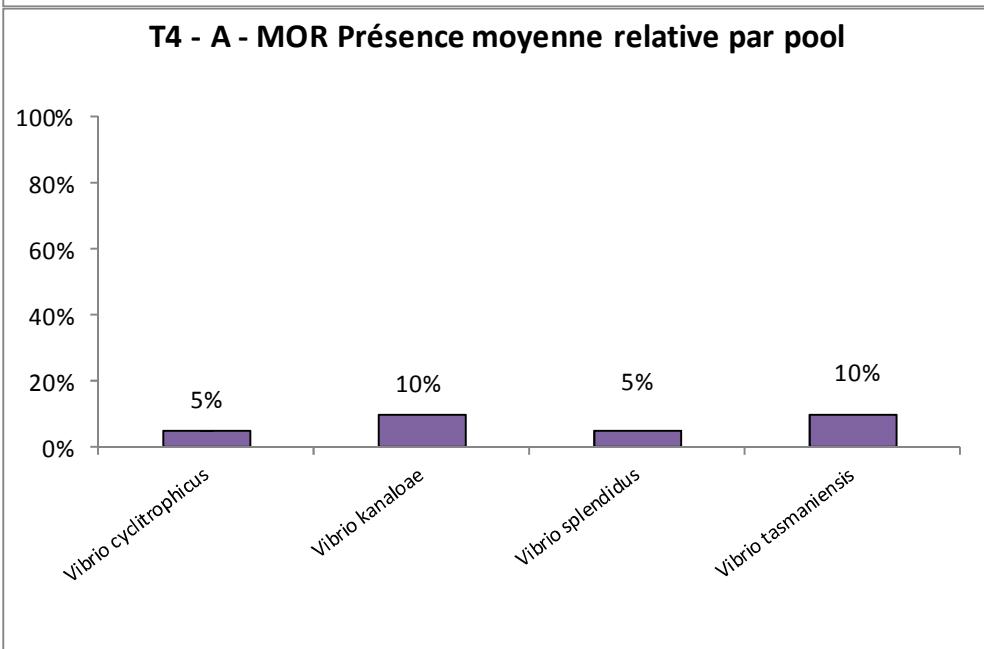
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de LA FLOTTE – T4

Date d'échantillonnage : 24 novembre 2014

2 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe Splendidus	31 %
Groupe Halioticoli	3 %
Non identifié	61 %

7 souches observées
Autre
<b>Vibrio cyclitrophicus</b>
<b>Vibrio gigantis</b>
<b>Vibrio lentinus</b>
<b>Vibrio splendidus</b>
<b>Vibrio tasmaniensis</b>
<b>Vibrio superstes</b>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 34% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

2 groupes sont représentés, le groupe Splendidus étant majoritaire à 91%.

### Diversité des souches observées :

7 espèces sont observées, dont 6 du genre Vibrio.

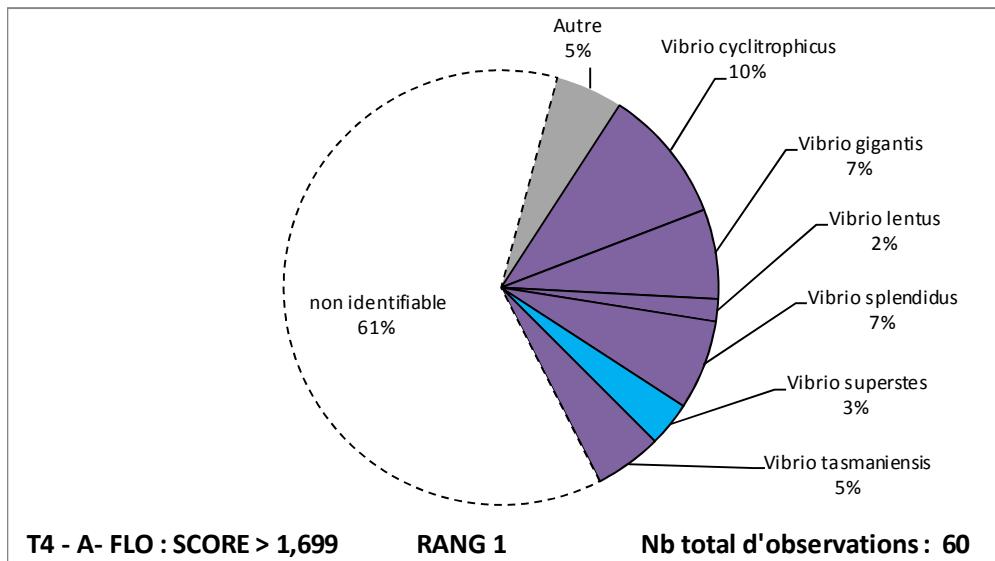
### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

1 espèce est majoritaire : *V. gigantis*.

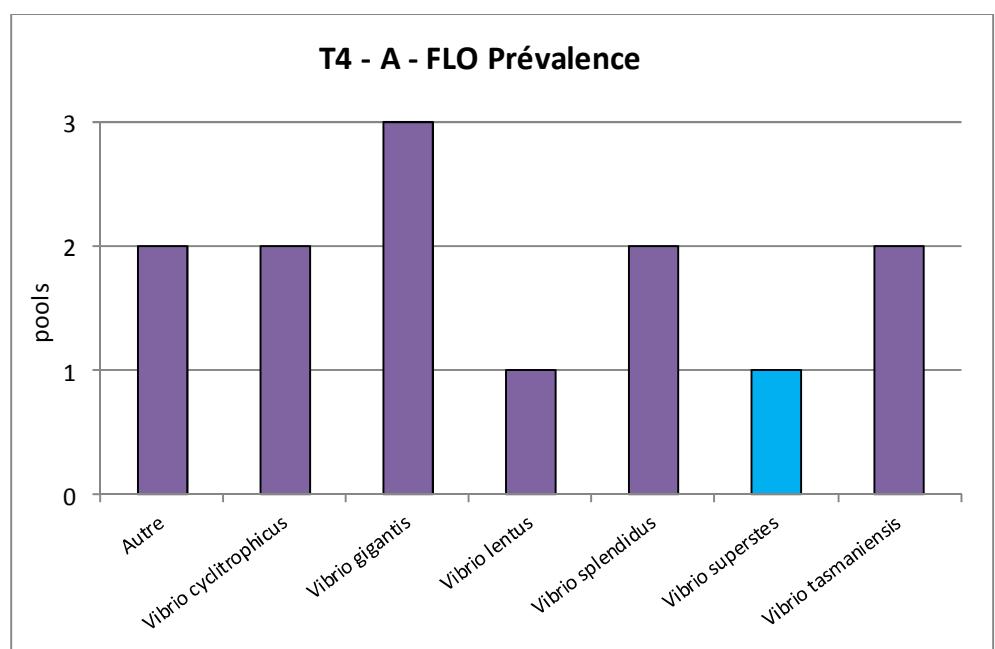
### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

*V. gigantis* représente en moyenne 7% des colonies analysées.

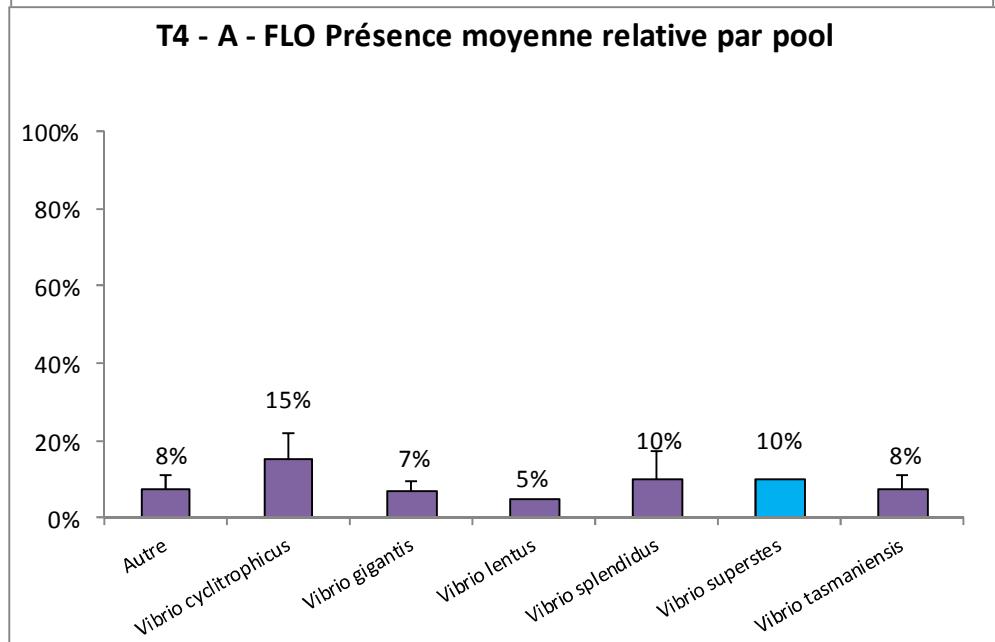
Distribution des souches  
Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



Distribution des souches  
Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches  
Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de BLAINVILLE – T1

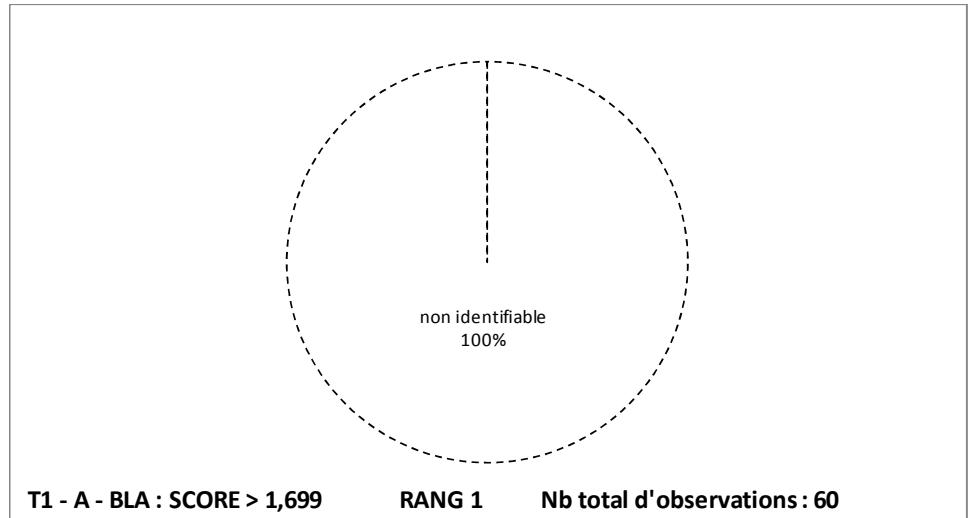
Date d'échantillonnage : 26 mai 2014

0 Groupe familles Vibrio représenté - proportion	
Non identifié	100 %

Aucune espèce du genre Vibrio n'a été observé.

Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées

Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)

## Site de BLAINVILLE – T2

Date d'échantillonnage : 12 juin 2014

1 Groupe familles Vibrio représenté - proportion	
Groupe Splendidus	10 %
Non identifié	90 %

3 souches observées
<i>Vibrio kanaloae</i>
<i>Vibrio splendidus</i>
<i>Vibrio tasmaniensis</i>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 10% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

Seul le groupe Splendidus est représenté.

### Diversité des souches observées :

3 espèces sont observées, toutes du genre *Vibrio*.

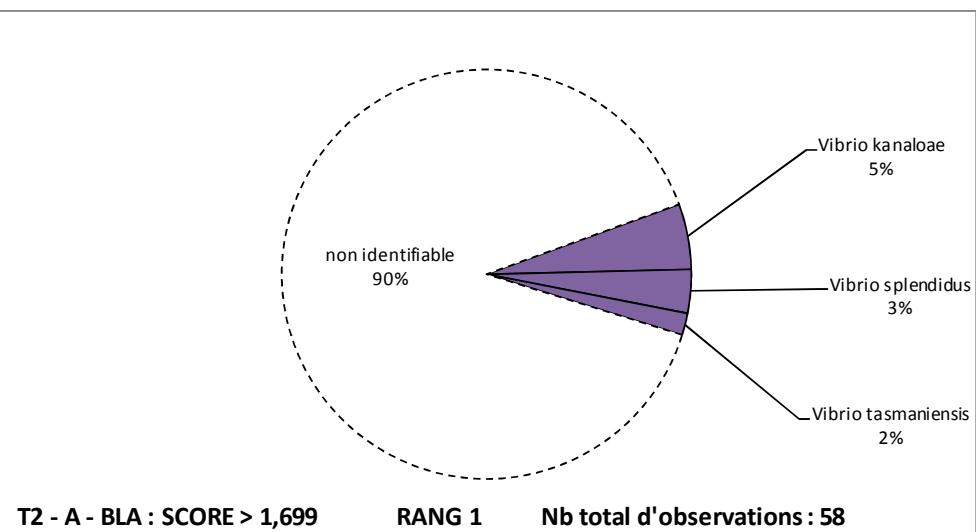
### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

Aucune espèce n'est majoritaire : *V. kanaloae* est retrouvé dans 2 pools sur 3.

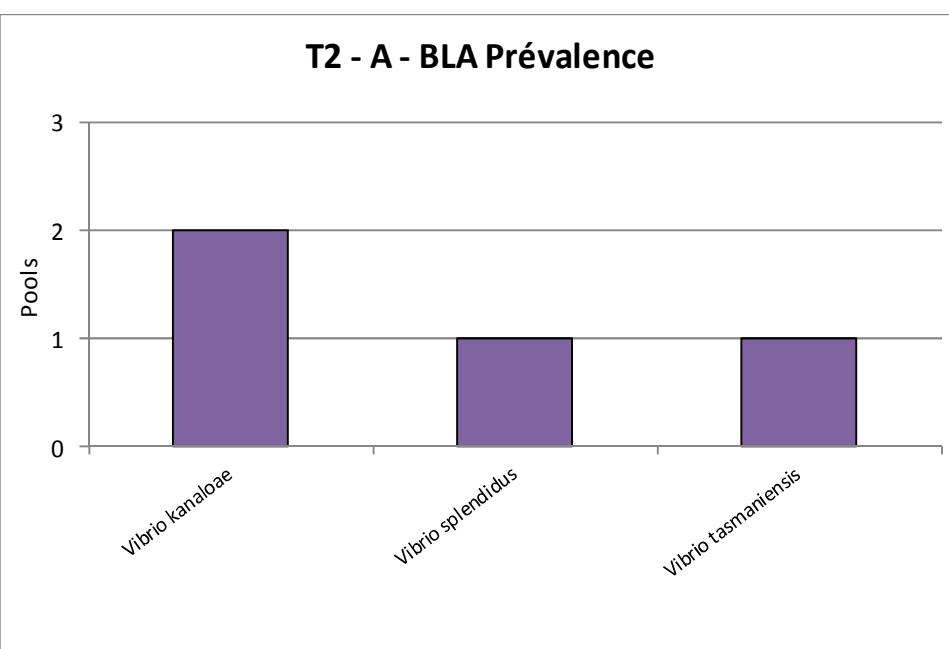
### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

*V. kanaloae* représente en moyenne 8% des colonies analysées.

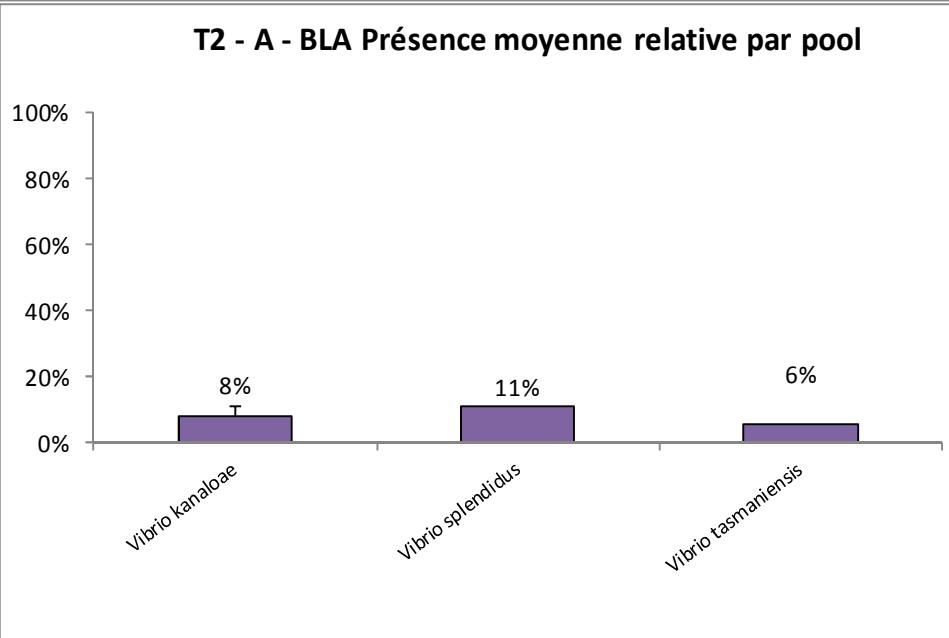
Distribution des souches  
Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



Distribution des souches  
Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches  
Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de BLAINVILLE – T3

Date d'échantillonnage : 11 août 2014

2 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe Splendidus	10 %
Groupe Orientalis	2 %
Non identifié	85 %

7 souches observées
Autre
<b>Vibrio chagasaki</b>
<b>Vibrio crassostreae</b>
<b>Vibrio cyclitrophicus</b>
<b>Vibrio fortis</b>
<b>Vibrio pomeroyi</b>
<b>Vibrio hepatarius</b>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 12% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

2 groupes sont représentés, le groupe Splendidus étant majoritaire à 83%.

### Diversité des souches observées :

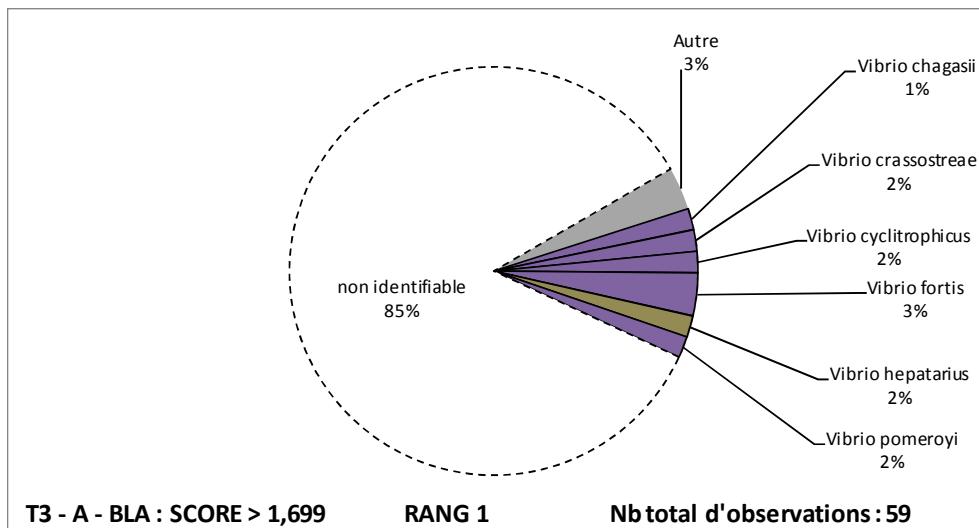
7 espèces sont observées, dont 6 du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

Aucune espèce n'est majoritaire.

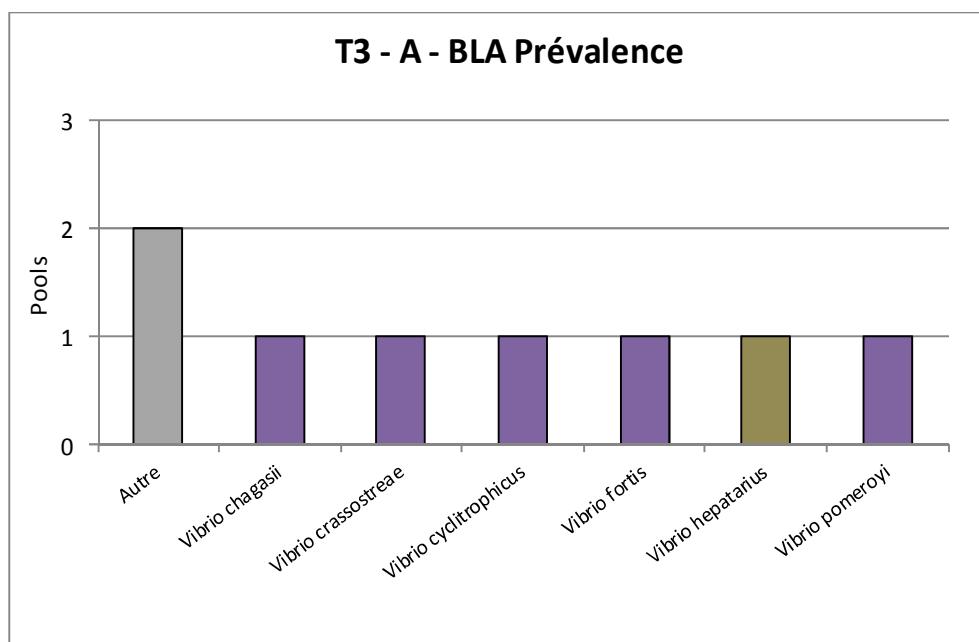
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



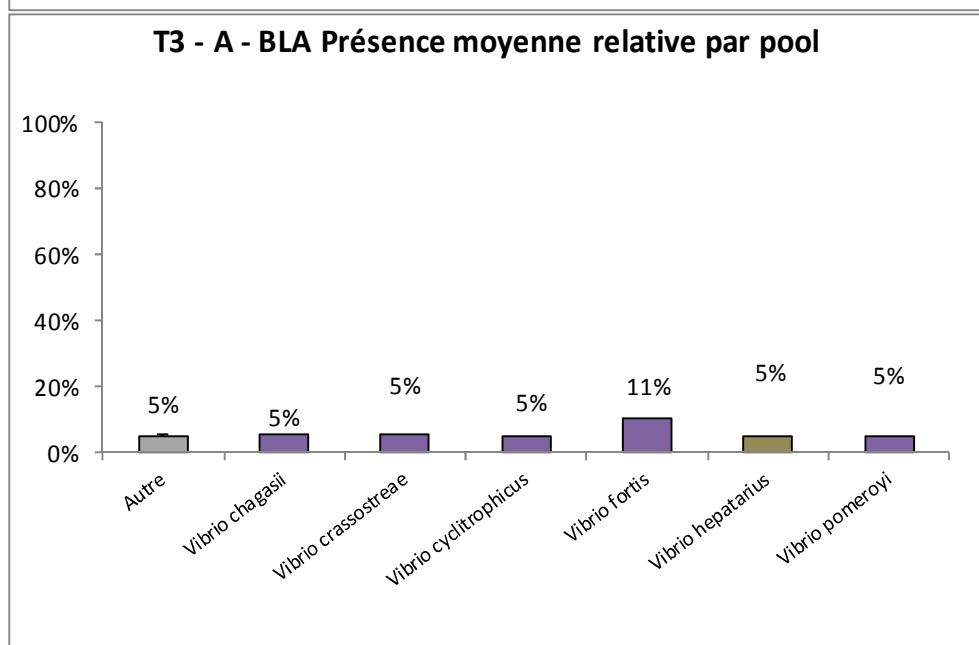
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de BLAINVILLE – T4

Date d'échantillonnage : 4 novembre 2014

1 Groupe familles Vibrio représenté - proportion	
Groupe Splendidus	4 %
Non identifié	96 %

2 souches observées
Vibrio crassostreae
Vibrio tasmaniensis

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 4% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

Seul le groupe Splendidus est représenté.

### Diversité des souches observées :

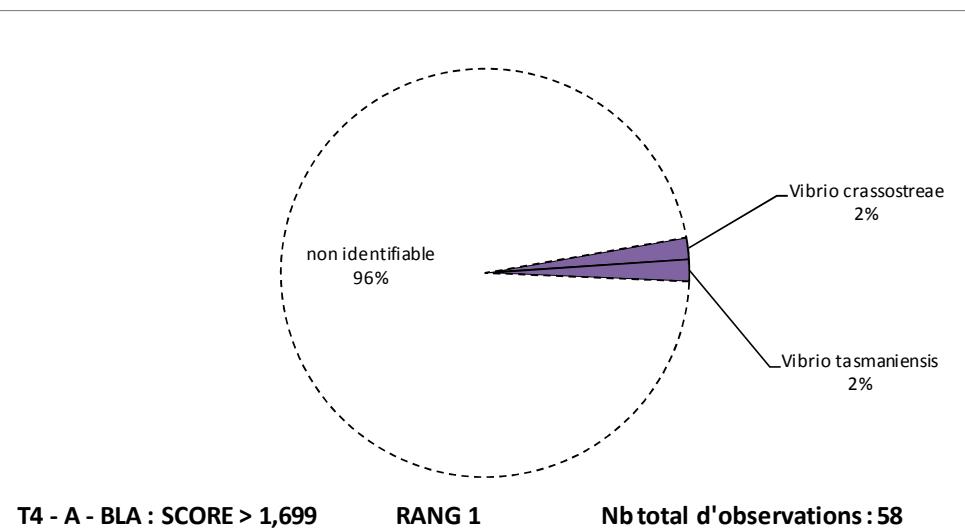
2 espèces sont observées, toutes du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

Aucune espèce n'est majoritaire.

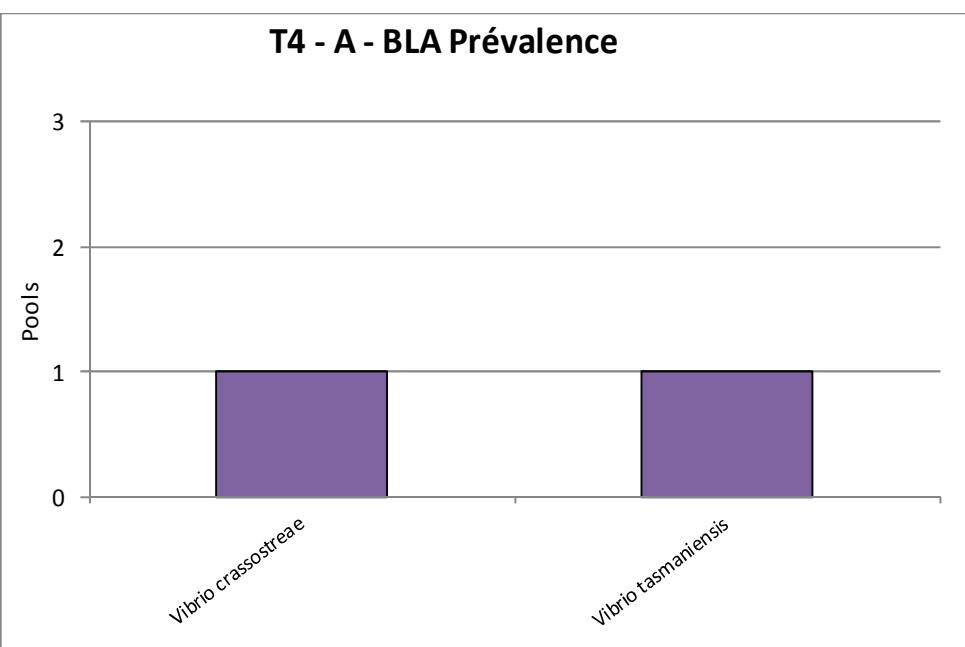
Distribution des souches

Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



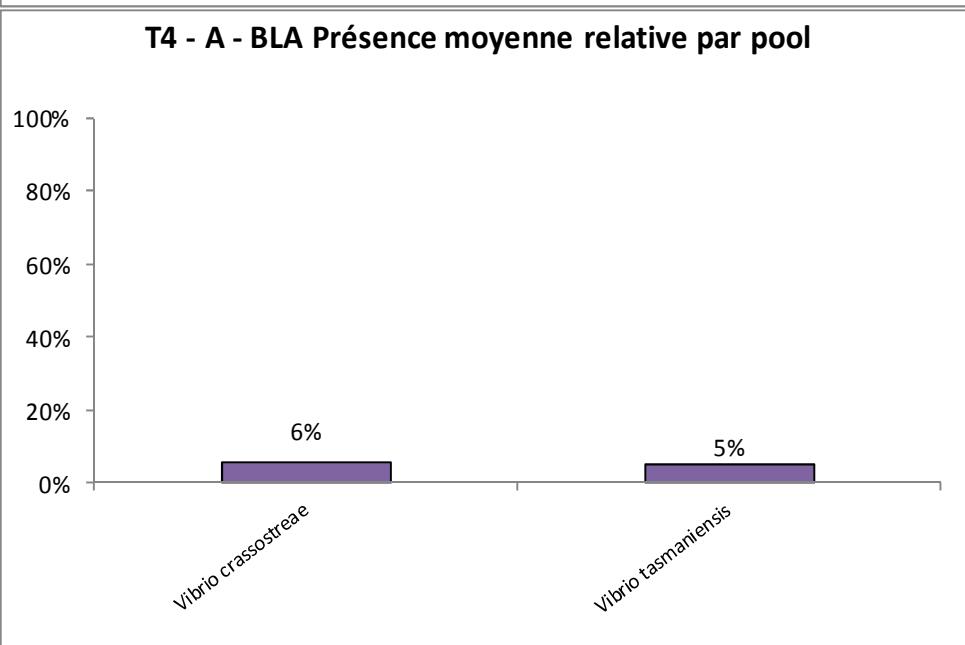
Distribution des souches

Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches

Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de SAINT VAAST – T1

Date d'échantillonnage : 11 juin 2014

1 Groupe familles Vibrio représenté - proportion	
Groupe Splendidus	18 %
Non identifié	82 %

2 souches observées
<i>Vibrio crassostreae</i>
<i>Vibrio tasmaniensis</i>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 18% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

Seul le groupe Splendidus est représenté.

### Diversité des souches observées :

2 espèces sont observées, toutes du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

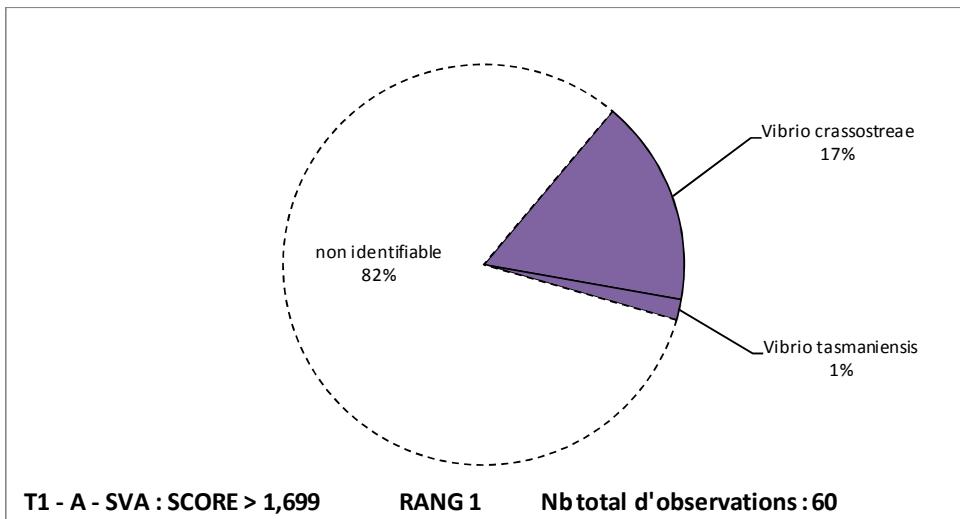
Aucune espèce n'est majoritaire. *V. crassostreae* est retrouvé dans 2 pools / 3.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

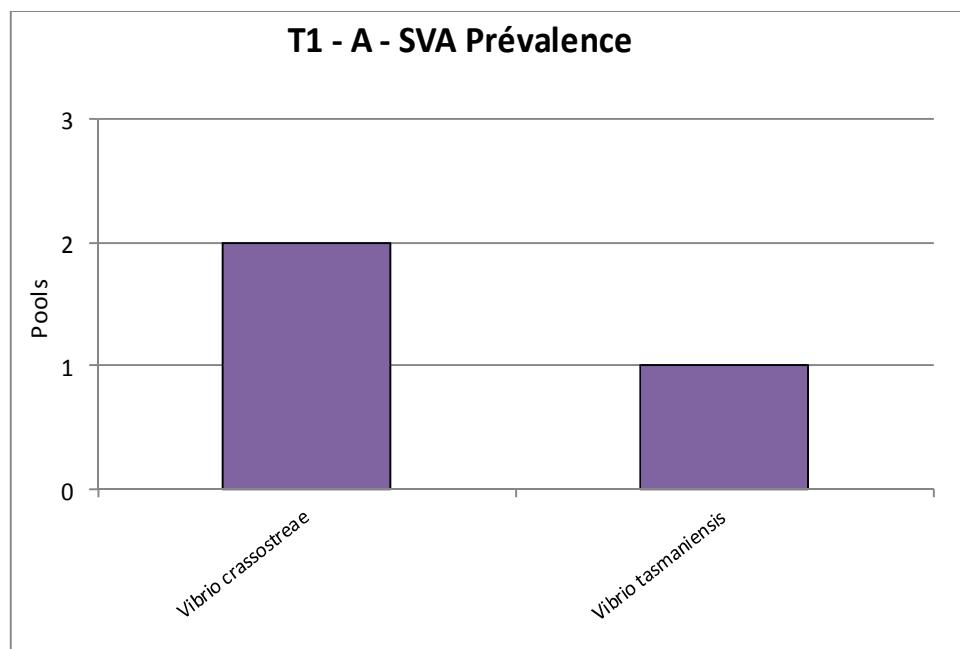
*V. crassostreae* représente en moyenne 25% des colonies analysées.

Distribution des souches

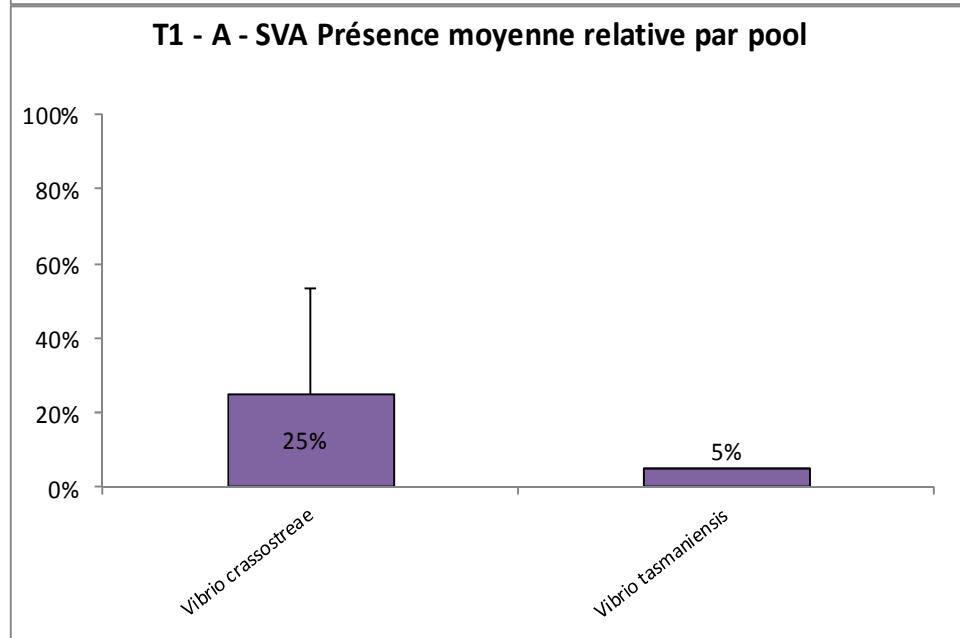
Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



Distribution des souches  
Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches  
Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de SAINT VAAST – T2

Date d'échantillonnage : 26 juin 2014

3 Groupes familles Vibrio représentés - proportion	
Groupe Splendidus	54 %
Groupe Pectenicida	10 %
Groupe Halioticoli	12 %
Non identifié	24 %

9 souches observées
<b>Vibrio crassostreae</b>
<b>Vibrio cyclitrophicus</b>
<b>Vibrio gigantis</b>
<b>Vibrio kanaloae</b>
<b>Vibrio lento</b>
<b>Vibrio splendidus</b>
<b>Vibrio tasmaniensis</b>
<b>Vibrio pectenicida</b>
<b>Vibrio superstes</b>

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 76% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

3 groupes sont représentés, le groupe Splendidus étant majoritaire à 71%.

### Diversité des souches observées :

9 espèces sont observées, toutes du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

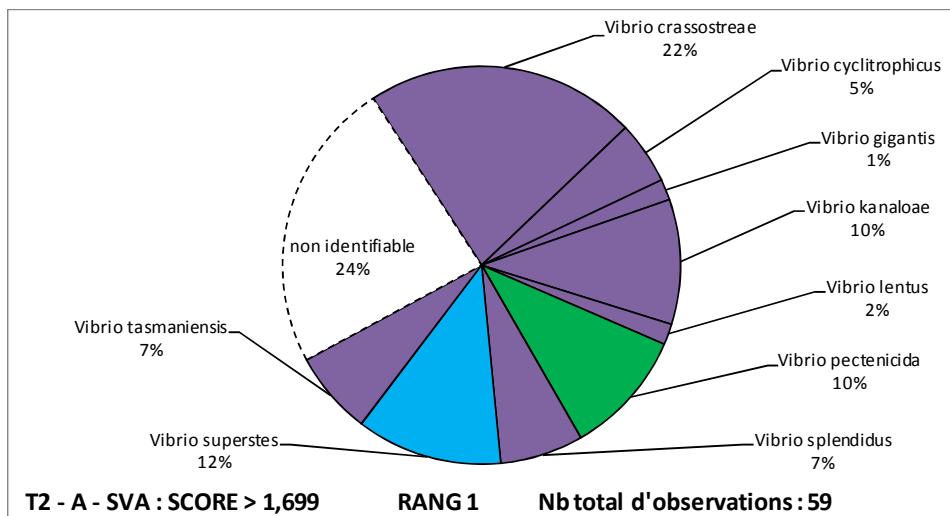
3 espèce sont majoritaires : *V. crassostreae*, *V. tasmaniensis* et *V. pectenicida*.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

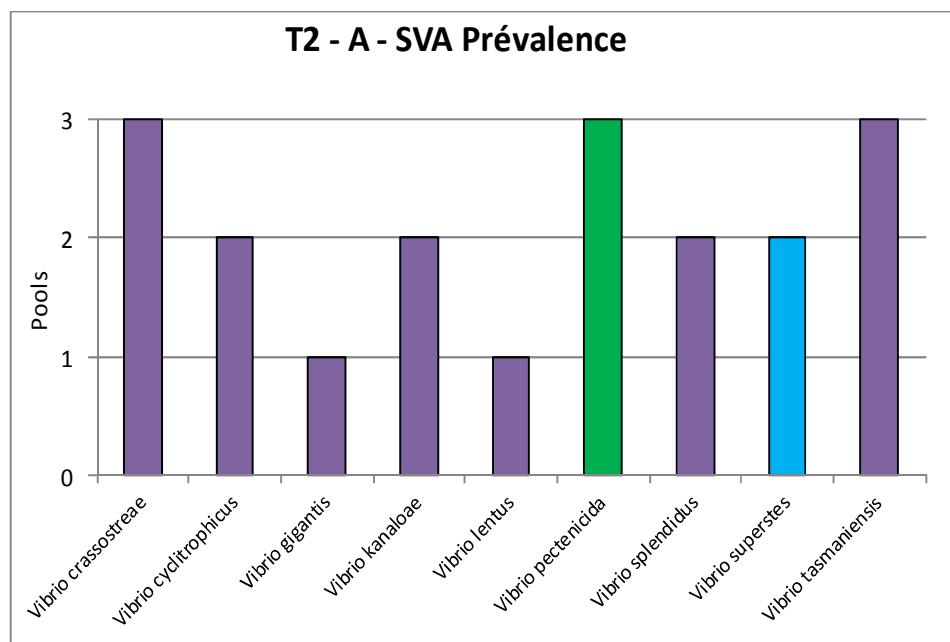
*V. crassostreae* et *V. tasmaniensis* représentent respectivement en moyenne 22% et 7% des colonies analysées.

*V. pectenicida* représente en moyenne 10% des colonies analysées.

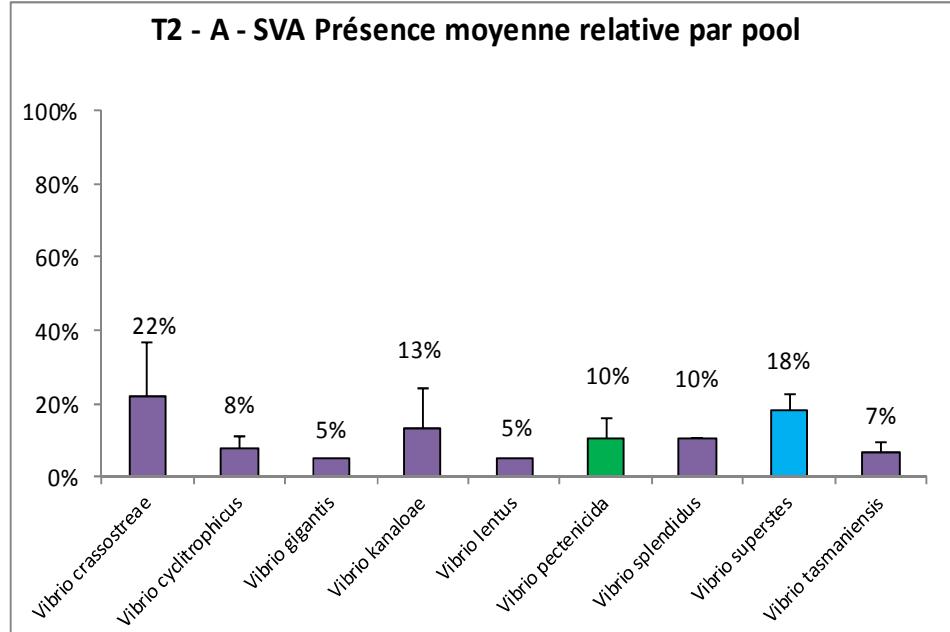
Distribution des souches  
Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



Distribution des souches  
Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches  
Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de SAINT VAAST – T3

Date d'échantillonnage : 11 août 2014

1 Groupe familles Vibrio représenté - proportion	
Groupe Splendidus	5 %
Non identifié	93 %

3 souches observées
<i>Vibrio cyclitrophicus</i>
<i>Vibrio gigantis</i>
Autre

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 5% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

Seul le groupe Splendidus est représenté.

### Diversité des souches observées :

3 espèces sont observées, dont 2 du genre Vibrio.

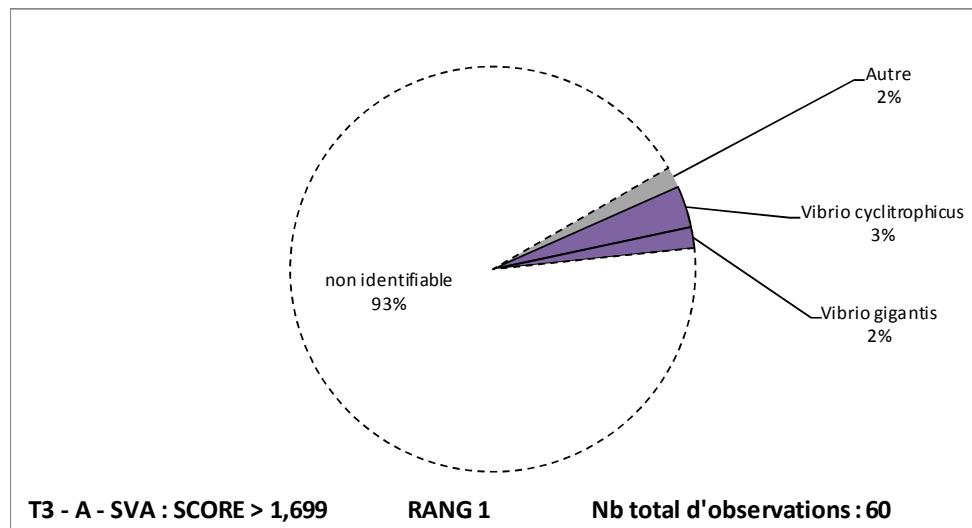
### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

Aucune espèce n'est majoritaire. *V. cyclitrophicus* est retrouvé dans 2 pools / 3.

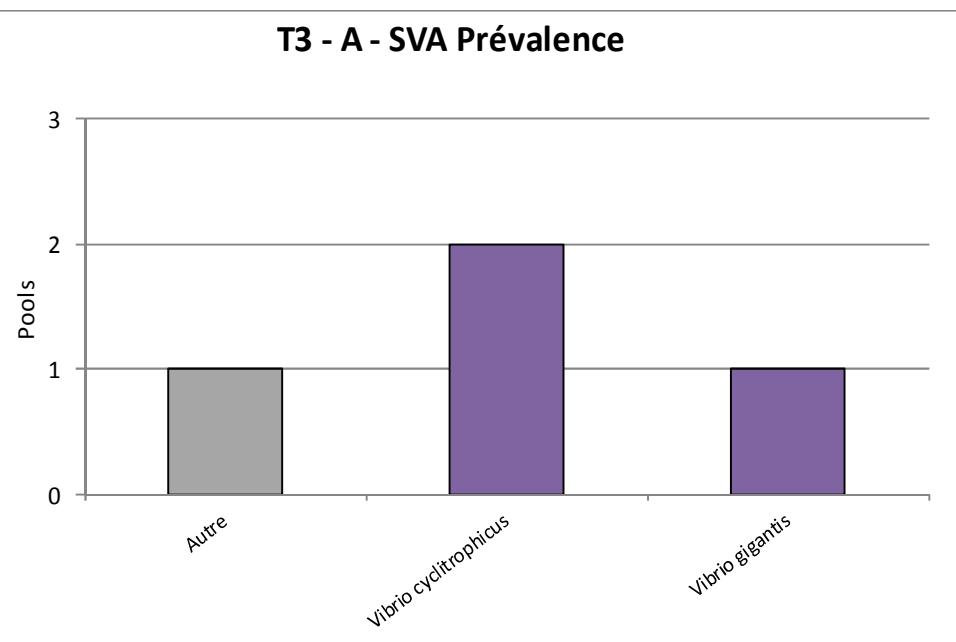
### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

*V. cyclitrophicus* représente en moyenne 5% des colonies analysées.

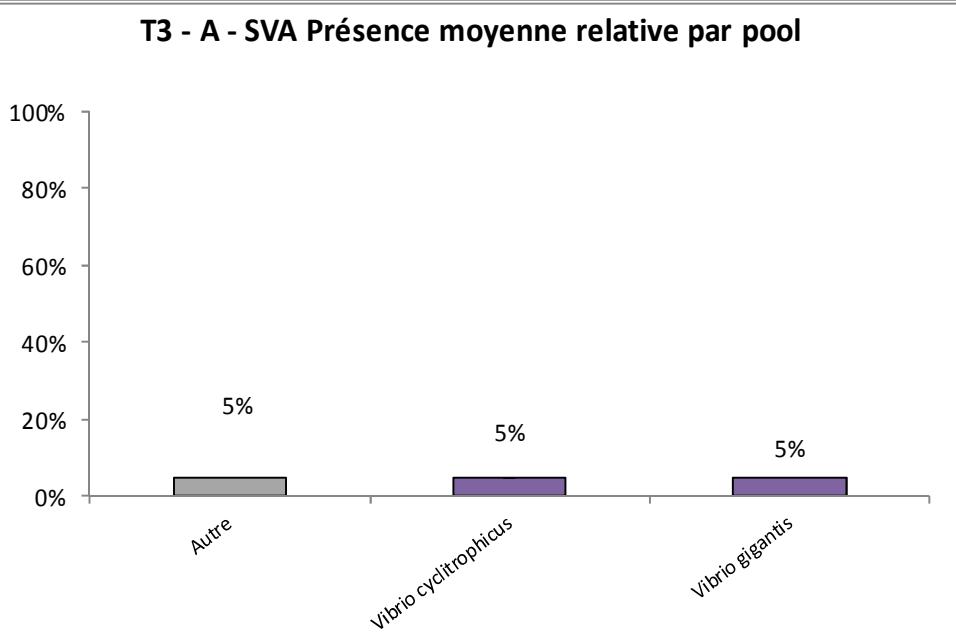
Distribution des souches  
Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



Distribution des souches  
Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches  
Identifiées par pool  
(barre écart type)



## Site de SAINT VAAST – T4

Date d'échantillonnage : 20 novembre 2014

1 Groupe familles Vibrio représenté - proportion	
Groupe Splendidus	13 %
Non identifié	85 %

5 souches observées	
1	Vibrio crassostreae
2	Vibrio kanaloae
3	Vibrio lentus
4	Vibrio splendidus
5	Autre

### Proportion de souches vibrions dans la flore :

Les vibrions représentent 13% des souches de la flore totale.

### Nombre de groupes de vibrions :

Seul le groupe Splendidus est représenté.

### Diversité des souches observées :

5 espèces sont observées, dont 4 du genre Vibrio.

### Espèces majoritaires (prévalence de 3/3) :

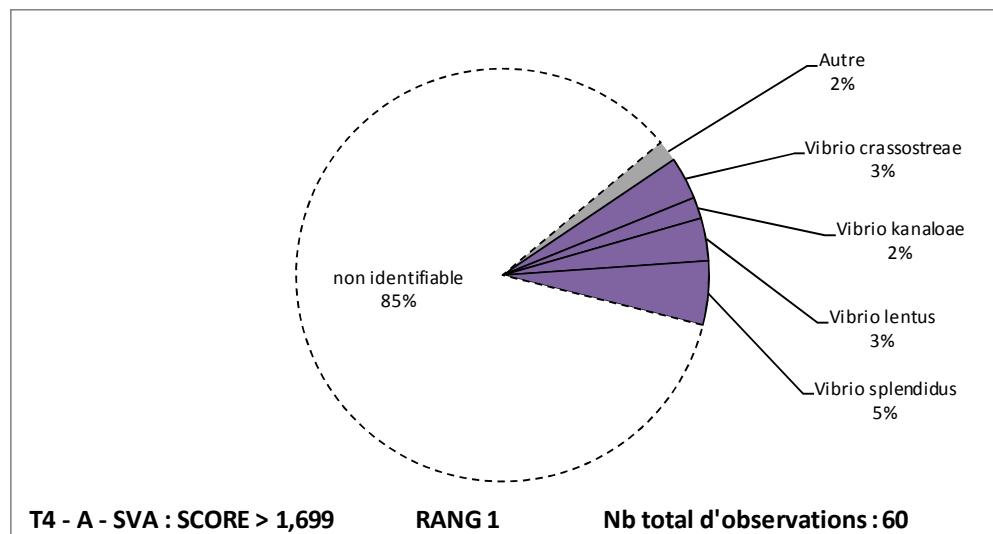
Aucune espèce n'est majoritaire. *V. lentus* et *V. splendidus* sont retrouvés dans 2 pools / 3.

### Proportion des espèces majoritaires / nombre total de colonies observées :

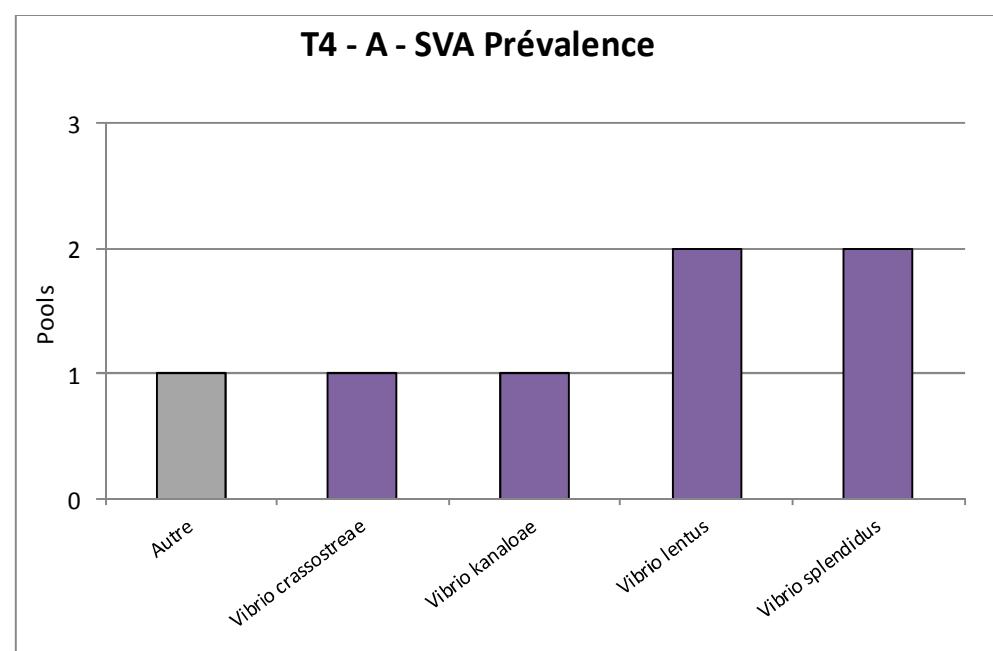
*V. lentus* représente en moyenne 5% des colonies analysées.

*V. splendidus* représente en moyenne 8% des colonies analysées.

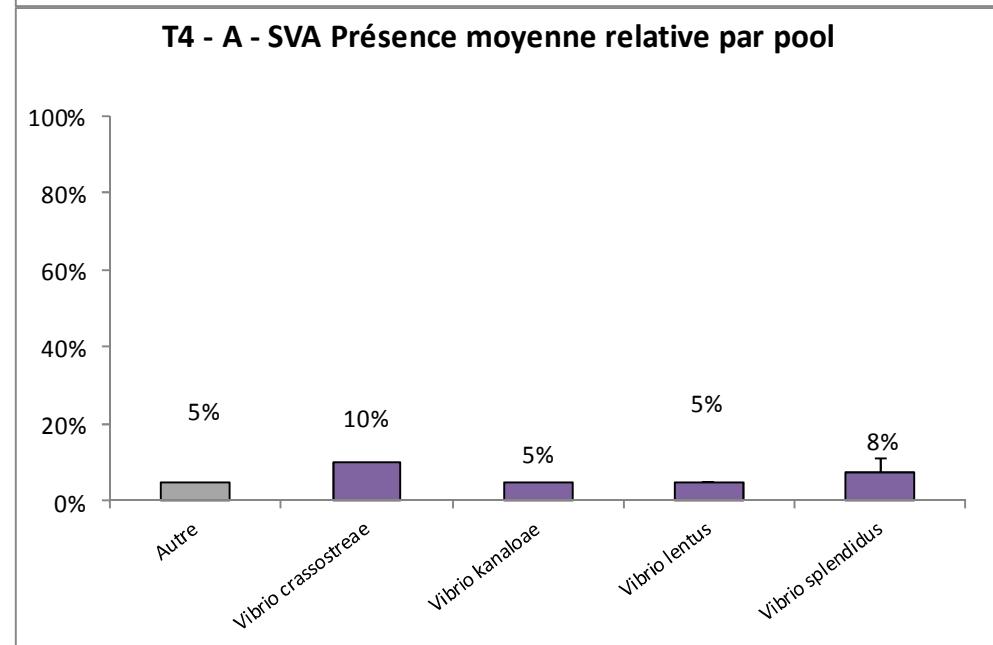
Distribution des souches  
Identifiées sur le nombre  
total de colonies traitées



Distribution des souches  
Identifiées dans les pools  
d'huîtres analysées



Distribution des souches  
Identifiées par pool  
(barre écart type)



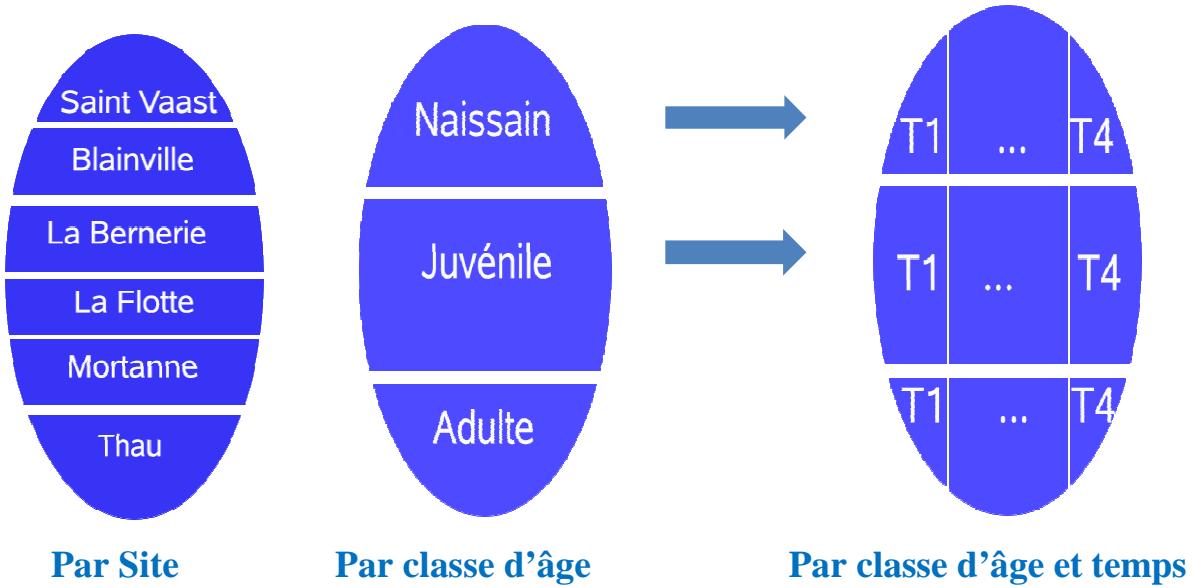
# Analyses statistiques

- 1- Généralités
- 2- Analyse des groupes de vibrios
- 3- Analyse de la diversité des souches identifiées
- 4- Analyse de la charge bactérienne
- 5- Bilan

## 1- Généralités

L'objectif de ce chapitre est d'analyser l'ensemble des résultats obtenus sur la flore bactérienne en répondant à cette première question : « Quel(s) facteur(s) influence(nt) l'évolution de cette flore bactérienne analysée en Malditof.

La population étudiée peut être subdivisée de trois manières différentes représentées ci-après :



Il est proposé alors d'analyser les résultats selon ces trois facteurs : variabilité entre sites, variabilité entre classes d'âge et variabilité en fonction du temps par classe d'âge.

Cette analyse repose sur trois variables représentant la flore observée. La première agrège les souches bactériennes identifiées par **groupe de vibrions** (cf page 14), la seconde reprend l'ensemble des données par souche observée définissant une variable de **diversité** (nombre de souches différentes observées), et enfin, la troisième, représente les résultats de **charge bactérienne**.

## 2- Analyse des groupes de vibrions

### 2.1- Analyse par site

Sur l'ensemble des données acquises, il apparaît que les proportions des groupes Vibrio reconnus par la base Maldi-Tof représentent moins de 50% des souches observées sauf à Thau. La présence des groupes vibrions est la plus faible dans les sites normands avec 17% pour Blainville et 23% pour St Vaast. Sur les sites atlantiques, ces groupes vibrions représentent environ 40% de la flore totale retrouvée. La présence la plus marquée est observée sur le site de Thau avec une proportion de 66%.

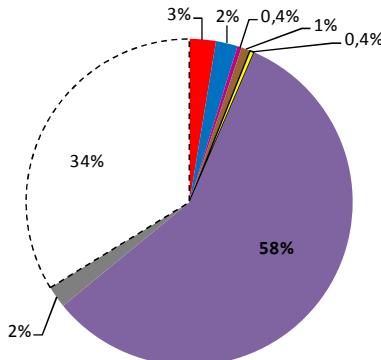
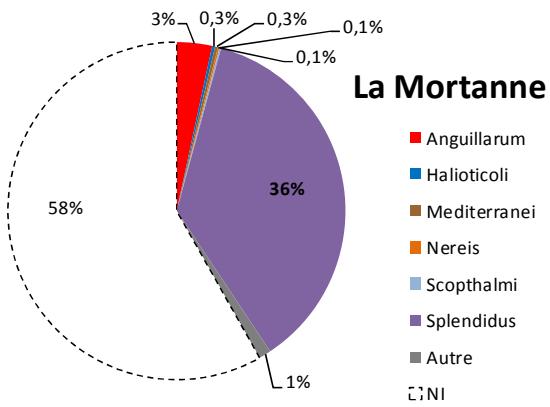
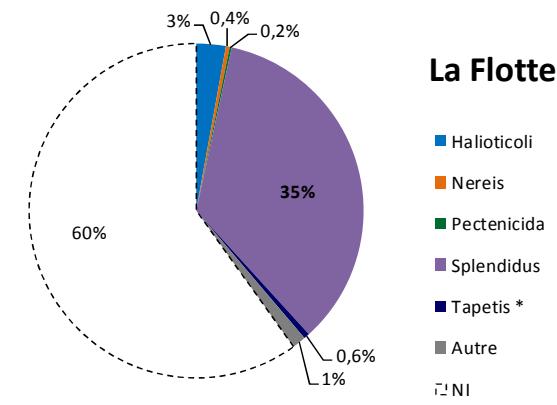
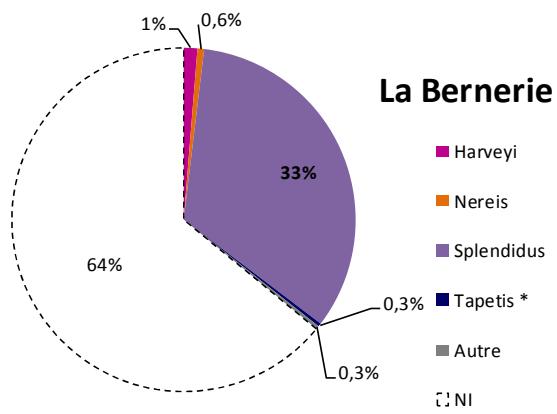
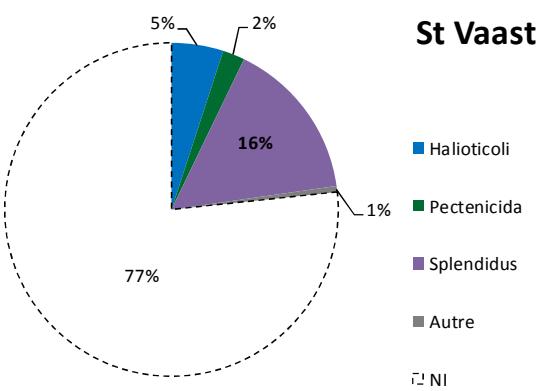
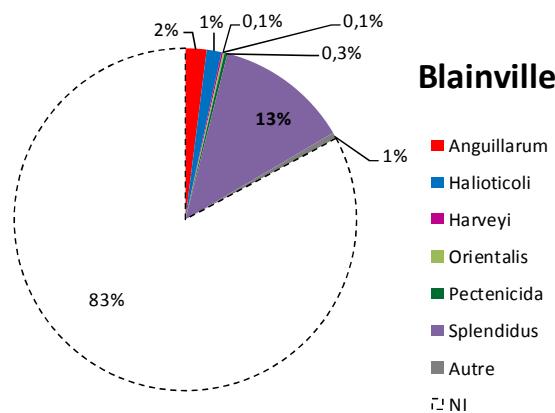
Dans tous les cas, les souches appartenant au groupe « **Splendidus** » sont toujours majoritaires et sont observées sur tous les sites étudiés. Ce groupe représente entre 1/6<sup>e</sup> et 1/5<sup>e</sup> de la flore bactérienne sur les sites normands, mais représente environ 1/3 de la flore bactérienne totale sur les sites atlantiques. A Thau par contre, ce groupe représente à lui tout seul, 58% de la flore totale observée.

Tous les autres groupes de vibrions sont peu représentés sur l'ensemble des sites. Notons que les souches du groupe « **Anguillarum** » ne représentent que 2 à 3% de la flore totale et ne se retrouvent que sur les sites de Blainville, La Mortanne et Thau. Les souches du groupe « **Halioticoli** » sont présentes dans 5 sites sur 6 (non observées à La Bernerie).

Ainsi, nous pouvons classer les résultats en trois groupes distincts : le groupe « **Splendidus** » majoritaire et toujours présent, la classe des souches « **non identifiées** » (NI) censée ne pas appartenir au genre Vibrio et la classe des souches du genre Vibrio « peu représentées ».

Ce classement, sur lequel est appliqué un test  $\chi^2$ , montre très clairement qu'il existe une indépendance entre le facteur site et la variable groupes vibrions ( $p > 2^{-16}$ ).

Les proportions du groupe « **Splendidus** » observées sur les sites normands sont similaires et inférieures à celles observées sur les autres sites, les plus importantes étant observées sur le site de Thau.



Répartition des groupes de vibrions observés par site incluant les proportions des souches non identifiées par la base Maldi-Tof et les souches d'un autre genre que Vibrio nommées « Autre », toutes classes d'âge et temps confondus (\* souche V. tapetis non classée dans un groupe particulier).

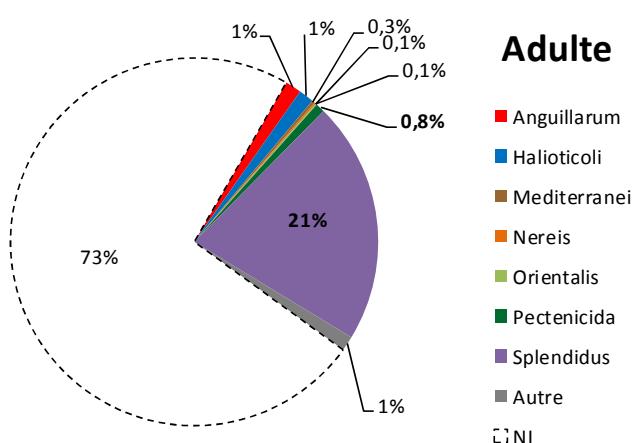
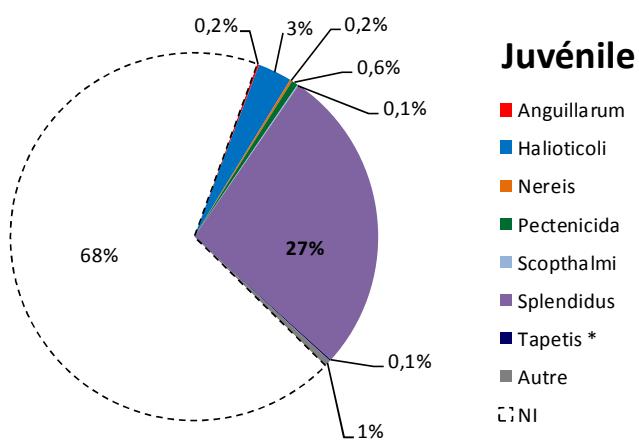
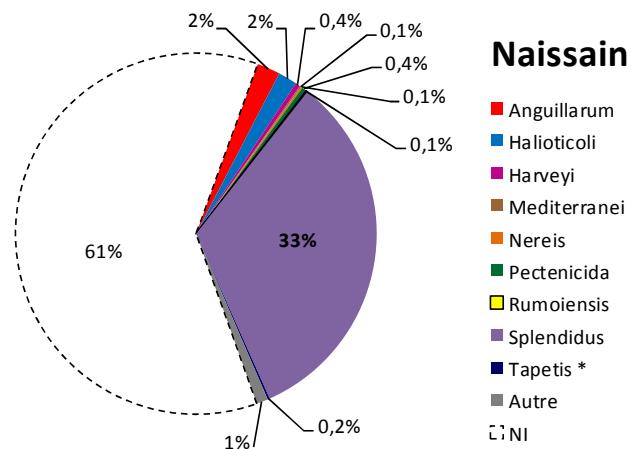
## 2.2- Analyse par classe d'âge

Les souches appartenant aux groupes *Vibrio* représentent un peu plus d'un tiers de la flore totale observée chez les naissains et les juvéniles. Chez les adultes, cette proportion est un peu plus faible puisque représentant environ le quart de la flore totale observée.

Dans le cas présent, le groupe « *splendidus* » est largement majoritaire. Il représente 1/3 de la flore totale observée chez les naissains, 27% chez les juvéniles et 21% chez les adultes.

Parmi les groupes peu représentés, le groupe « *Anguillarum* » représente entre 1 et 2% de la flore totale observée chez les naissains et les adultes et le groupe « *halioticoli* » représente entre 1 et 3% de la flore totale observée dans toutes les classes d'âge.

À encore, un test de  $\chi^2$  a été effectué sur les trois grandes catégories retrouvées (groupe « *splendidus* », « NI » et « peu représenté »), montrant que les proportions diffèrent pour chaque classe d'âge ( $p < 2^{e-16}$ ).

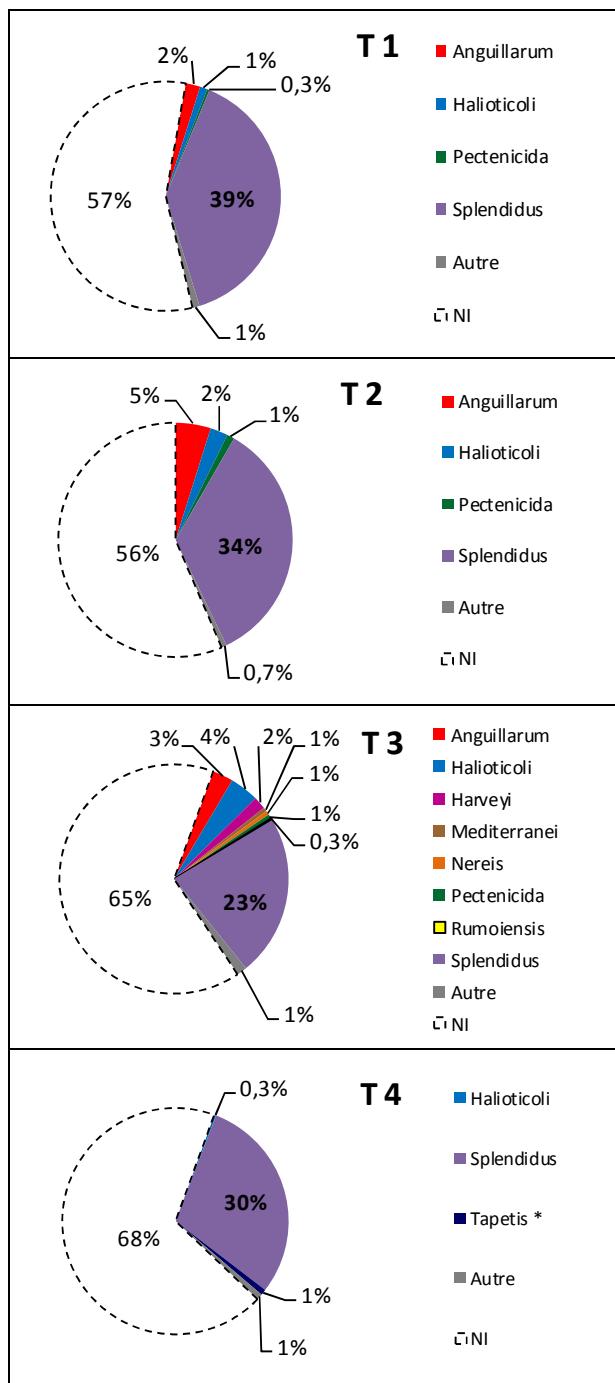


Répartition des groupes de vibrions observés par classes d'âge incluant les proportions des souches non identifiées par la base Maldi-Tof et les souches d'un autre genre que Vibrio nommées « Autre », tous sites et temps confondus (\* souche *V. tapetis* non classée dans un groupe particulier).

### 2.3- Analyse en fonction du temps par classe d'âge

Dans l'analyse suivante, il est proposé d'étudier les proportions des différents groupes en fonction du temps pour chacune des classes d'âge tous sites confondus.

#### Naissant



Pour cette classe d'âge, la proportion de souches appartenant aux groupes vibrio représente environ 40% de la flore observée avant (T1) et pendant (T2) les pics de mortalité virale. Cette proportion passe ensuite à environ 30%.

Le groupe « splendidus » est majoritairement représenté avec des proportions allant de 23% à 39%.

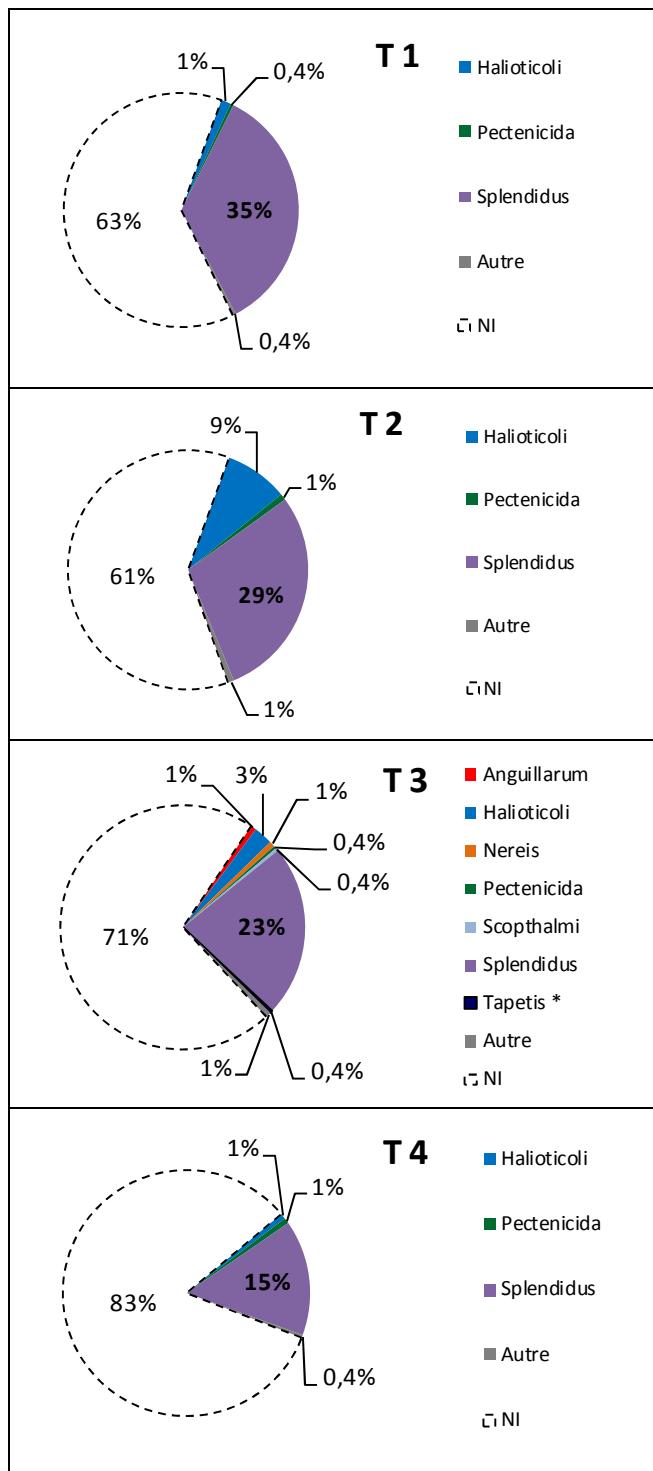
Pour les groupes peu présents, le groupe « anguillarum » est observé sur les trois premières dates et représente de 2% à 5% de la flore totale.

Le groupe « halioticoli » est quant à lui présent à chaque date mais les proportions sont plus faibles (0.3% à 4%).

Observons que c'est à la date T3 (après pic de mortalité virale, période la plus chaude) que la diversité des groupes vibrions est la plus importante puisque huit groupes vibrions différents composent la partie identifiable de la flore.

Répartition des groupes de vibrions observés en fonction du temps incluant les proportions des souches non identifiées par la base Maldi-Tof et les souches d'un autre genre que Vibrio nommées « Autre », tous sites confondus (\* souche *V. tapetis* non classée dans un groupe particulier).

## Juvénile



Chez les juvéniles, les proportions des groupes vibrions représentent entre 17% et 36% de la flore totale observée. La plus faible est observée en fin d'année (T4).

Le groupe « splendidus » reste majoritaire avec des proportions allant de 15% à 35% de la flore totale observée.

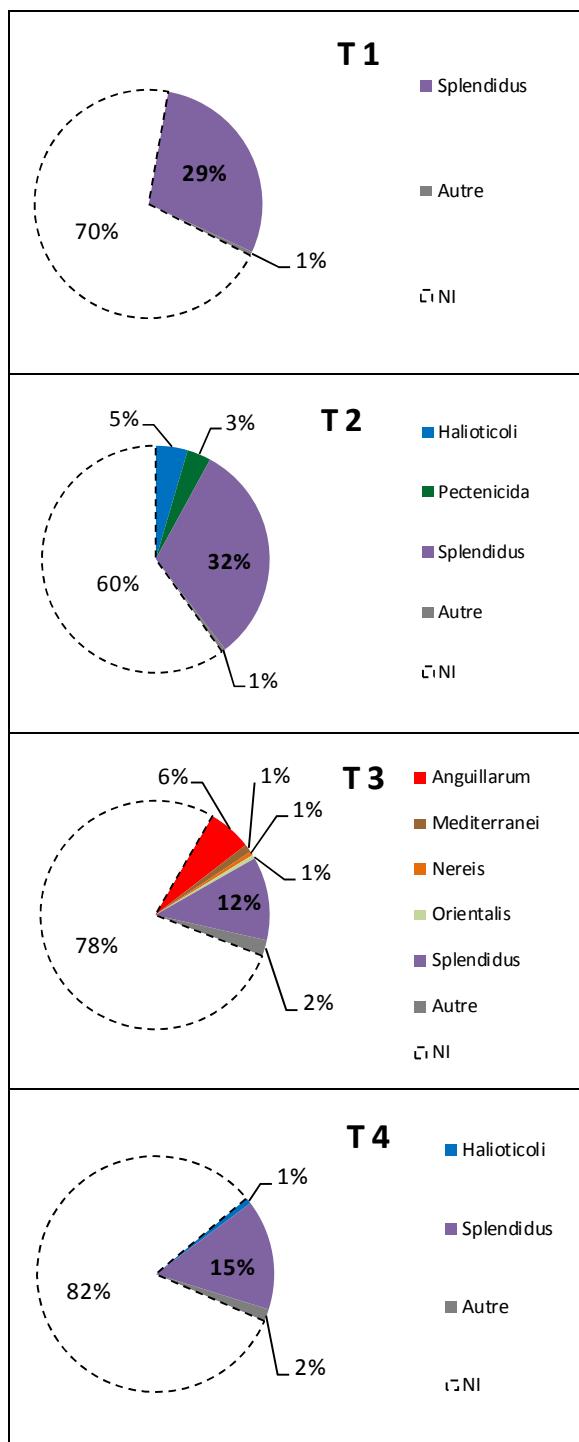
Les groupes « Halioticoli » et « pectenicida » sont retrouvés à chaque date mais restent parmi les groupes peu représentés.

Le groupe « anguillarum » n'est observé qu'à la date T3 (après pic de mortalité virale, période la plus chaude) mais dans une proportion très faible 1%.

Notons également que la diversité des groupes vibrions est plus importante à cette date T3, avec 6 groupes représentés accompagnés de la souche *V. tapetis*.

Répartition des groupes de vibrions observés en fonction du temps incluant les proportions des souches non identifiées par la base Maldi-Tof et les souches d'un autre genre que *Vibrio* nommées « Autre », tous sites confondus (\* souche *V. tapetis* non classée dans un groupe particulier).

## Adulte



Les groupes vibrions observés chez les adultes représentent entre 16% et 40% de la flore totale observée.

Le groupe « splendidus » reste là encore majoritairement observé, représentant entre 12% et 32% de la flore totale observée.

A la date T1 (avant les mortalités des naissains), il est d'ailleurs le seul groupe de vibrions présent.

Parmi les groupes peu présents, le groupe « anguillarum » représente 6% de la flore totale observée à la date T3 uniquement.

Cette date T3 reste, dans ce cas présent, la date pour laquelle la diversité des groupes vibrions est la plus grande avec 5 groupes représentés.

**Répartition des groupes de vibrions observés en fonction du temps**  
incluant les proportions des souches non identifiées par la base Maldi-Tof et les souches d'un autre genre que Vibrio nommées « Autre »,  
tous sites confondus (\* souche *V. tapetis* non classée dans un groupe particulier).

Le test de  $\chi^2$  réalisé sur ces données atteste pour les trois classes d'âge qu'il n'y a pas d'indépendance entre le facteur temps et la variable groupe de vibrions ( $p = 2^{e-09}$  pour le naissain,  $p = 9,8^{e-10}$  pour les juvéniles et  $p = 1,9^{e-08}$  pour les adultes). Ceci montre là encore que l'évolution des groupes de souches identifiées varie en fonction des variables temps et âge.

### 3- Analyse de la diversité des souches identifiées.

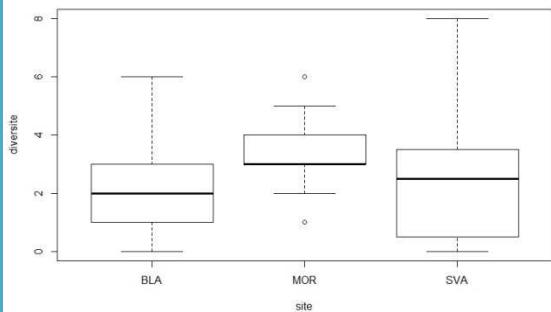
La diversité des souches représente le nombre de souches différentes observées lors de chaque analyse.

#### 3.1- Analyse de la diversité en fonction des trois facteurs « site » « âge » « temps »

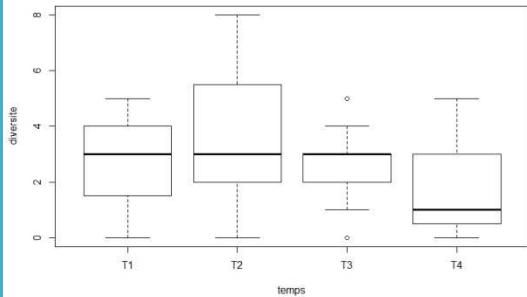
S'agissant d'une donnée numérique quantitative, un test d'ANOVA à trois facteurs (réalisé sous R) est appliqué. Les trois facteurs retenus sont les sites, la classe d'âge et le temps.

Cette analyse n'est réalisée que sur les trois stations possédant le plus grand nombre d'observations à savoir un jeu complet de données pour les trois classes d'âge et pour tous les temps (Blainville [BLA], St Vaast [SVA] et La Mortanne [MOR]).

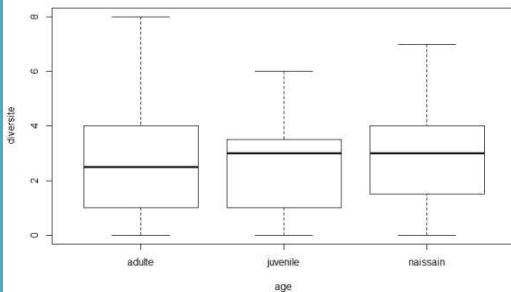
Les résultats montrent qu'il existe un effet hautement significatif « **sites** », « **temps** » et interaction « **site\*temps** » sur la diversité floristique ( $p < 0,001$ ).



Le graphique ci-contre indique que la station de « La Mortanne » diffère des stations « Blainville » ( $p < 0,001$ ) et « St Vaast » ( $p < 0,05$ ). Pour ces dernières, le paramètre diversité ne présente pas de différence significative ( $p = 0,21$ ).



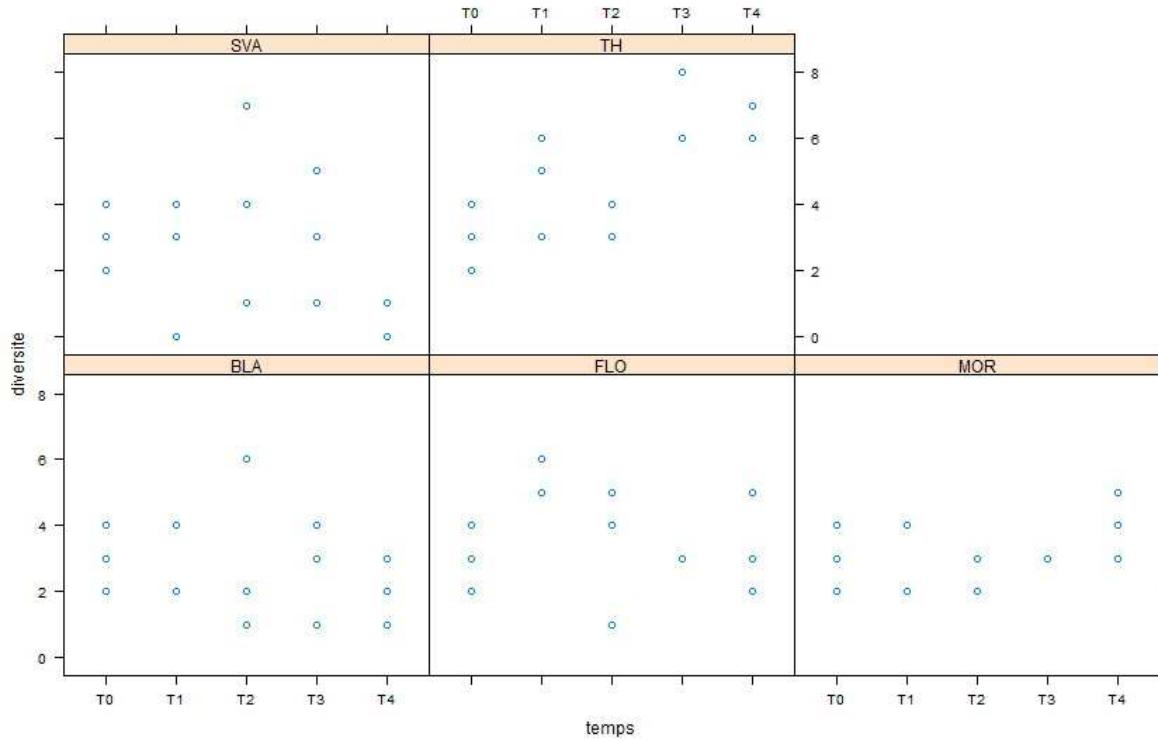
L'analyse montre une légère différence de diversité entre les temps T1 et T2 mais que celle-ci est plus importante entre les temps T4 et T2 ( $p < 0,001$ ).



Par contre, il n'y a pas d'effet « **âge** » sur la diversité observée ( $p = 0,53$ ).

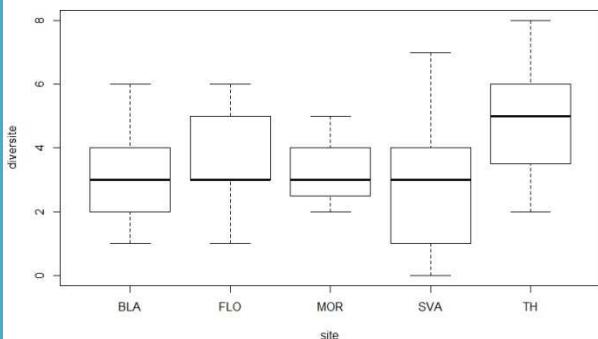
### 3.2 Analyse de la diversité pour la classe d'âge « Naissain »

Pour cette classe d'âge, l'analyse peut prendre en compte les résultats d'identifications réalisées avant la mise à l'eau dans les différents secteurs d'élevage (T0). Le jeu de données disponibles est complet pour chaque temps d'échantillonnage pour les cinq sites St Vaast [SVA], Blainville [BLA], La Flotte [FLO], la Mortanne [MOR] et Thau [TH].



Evolution de la diversité observée dans le temps sur le naissain

Pour cette classe d'âge, la diversité est sous l'influence d'un effet « site » hautement significatif ( $p < 0,001$ ). L'interaction « site-temps » est également significative ( $p = 0,01$ ).



La diversité observée sur le site de Thau, diffère très significativement de celle observée sur les sites normands [BLA – SVA] ( $p < 0,001$ ), sur le site charentais [MOR] ( $p < 0,01$ ) et dans une moindre mesure de celle observée sur l'autre site charentais [FLO] ( $p = 0,05$ ).

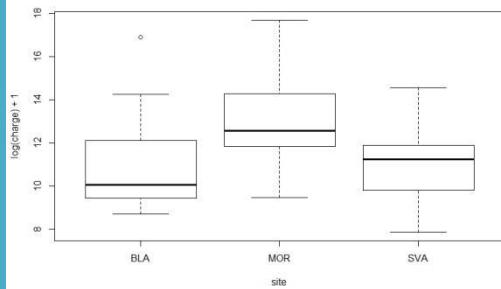
## 4- Analyse de la charge bactérienne.

### 4.1 Analyse de la charge en fonction des trois facteurs « site » « âge » « temps »

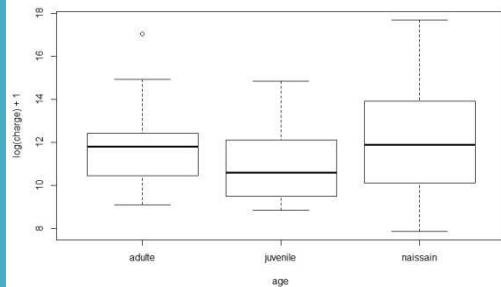
Comme pour la diversité, l'analyse des charges bactériennes mesurées est réalisée en appliquant un test d'ANOVA à trois facteurs (réalisé sous R). Les trois facteurs retenus sont les sites, la classe d'âge et le temps.

Cette analyse n'est réalisée que sur les résultats obtenus à Blainville [BLA], St Vaast [SVA] et La Mortanne [MOR], seules stations pour lesquelles un jeu complet de données est disponible.

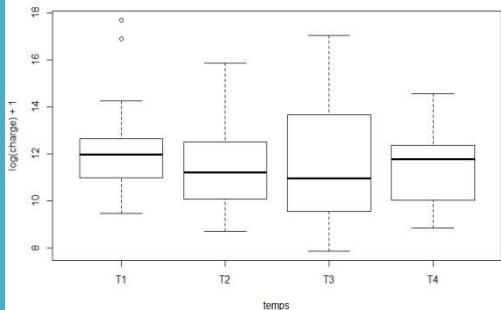
Les résultats montrent qu'il existe un effet « **sites** » et « **âge** » hautement significatif ( $p < 0,001$ ), ainsi qu'une interaction « **site\*temps** » sur la charge bactérienne. D'autre part, l'interaction « **âge\*temps** » s'avère également significative ( $p < 0,01$ ) ainsi que la triple interaction « **site\*âge\*temps** » ( $p < 0,05$ ).



Le site de La Mortanne [MOR] diffère significativement des sites normands de Blainville [BLA] et de St Vaast [SVA] ( $p < 0,001$ ). Ces deux derniers ne présentent pas de différences de charges bactériennes moyennes.



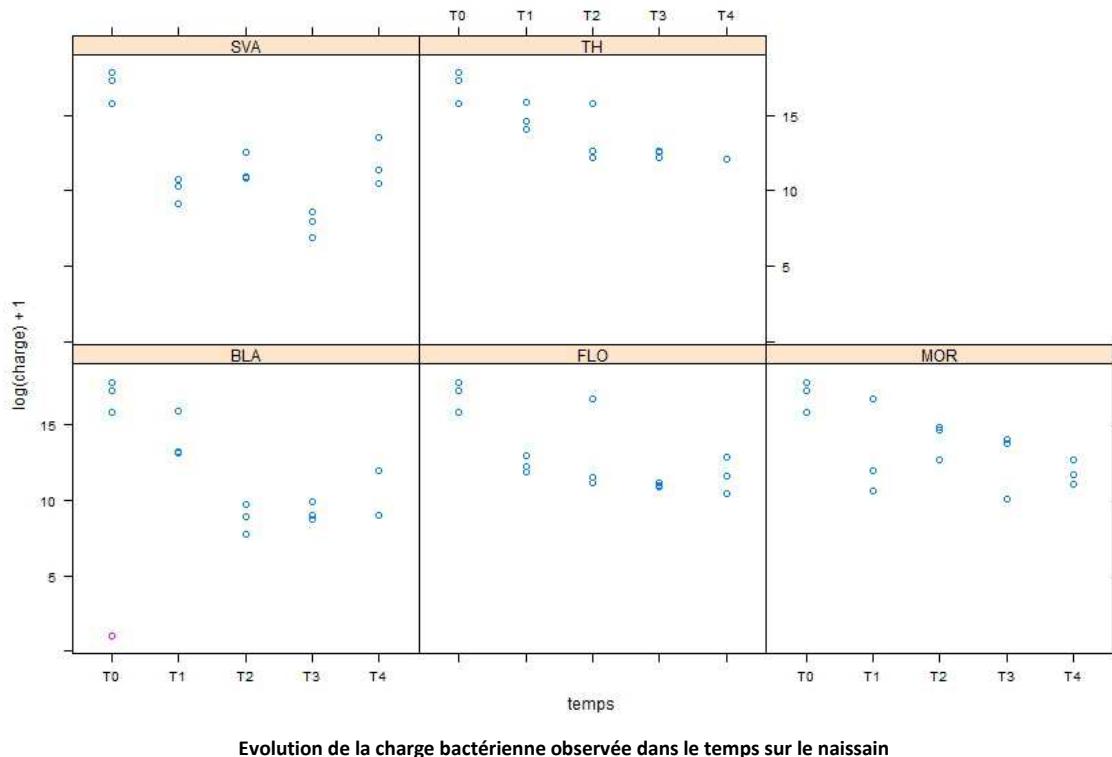
Les charges bactériennes moyennes observées pour la classe d'âge « Naissain » diffèrent significativement de celles des autres classes d'âge « juvénile » et « adulte » ( $p < 0,01$ ). Ces dernières ne présentent pas de différences.



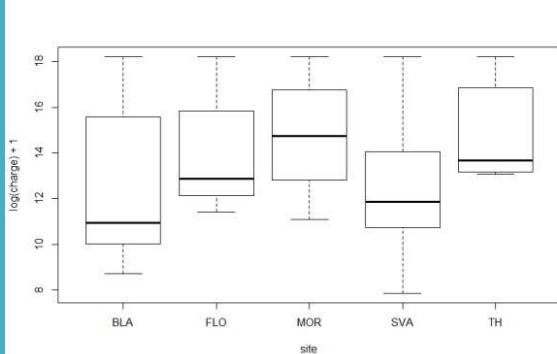
Aucune différence de charges bactérienne moyenne n'est observée dans le temps ceci en raison de grandes variations obtenues notamment au temps T3.

#### 4.2 Analyse de la charge bactérienne pour la classe d'âge « Naissain »

Là encore, cette analyse prend en compte les résultats d'identifications réalisées avant la mise à l'eau dans les différents secteurs d'élevage (T0). Le jeu de données disponibles concerne les sites de St Vaast [SVA], Blainville [BLA], La Flotte [FLO], la Mortanne [MOR] et Thau [TH].



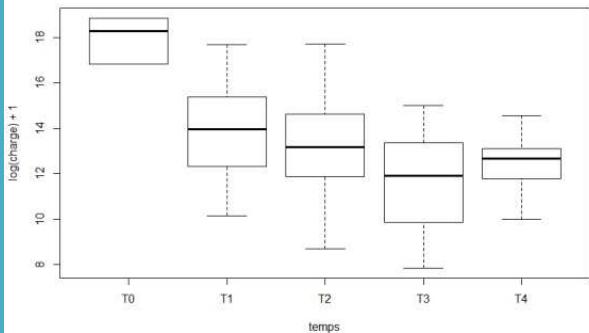
L'analyse de la charge bactérienne révèle un effet « site » et « temps » hautement significatif ( $p < 0,001$ ) ainsi qu'une interaction « site\*temps » significative ( $p < 0,01$ ).



Les charges bactériennes moyennes observées à Thau [TH] diffèrent de celles observées à St Vaast [SVA] ( $p < 0,001$ ) et Blainville [BLA] ( $p = 0,001$ ).

D'autre part les charges bactériennes moyennes observées sur le site de La Mortanne [MOR] sont également différentes de celles des deux stations normandes ( $p < 0,01$ ).

Les stations charentaises et celle de Thau présentent des charges bactériennes moyennes similaires.



Les charges bactériennes observées au T0 sont significativement supérieures à celles observées ensuite ( $p < 0,001$ ).

Celles observées à la date T3 sont inférieures et fortement différentes de celles observées à la date T1 ( $p < 0,001$ ) et, dans une moindre mesure, à celles de la date T2 ( $p < 0,05$ ).

## 5- Bilan

Variables	Facteurs		
	Site	Âge	Temps
<b>Diversité par groupe de vibrios</b>	+++	+++	+++
<b>Diversité des souches</b>	Ts facteurs / 3 sites	+++	-
	Naissain /ts Temps (sauf BER)	+++	Sans objet - Int.
<b>Charges bactériennes</b>	Ts facteurs / 3 sites	+++	- Int.
	Naissain /ts Temps (sauf BER)	+++	Sans objet +++

Influence du facteur : +++ hautement significative ; - non significative, Int. Facteur inclus dans une interaction significative

L'ensemble de ces données traitées nous amène à visualiser l'importance de la localisation des élevages pour toutes les variables analysées. Une caractérisation des secteurs ostréicoles concernés par l'étude semble donc être possible.

En second lieu, le facteur temporel (saisonnier) ressort également dans certains cas, ce qui n'est pas étonnant connaissant l'importance et le poids de ce facteur sur l'ensemble des paramètres biotiques d'un milieu littoral.

Par contre, le facteur âge ressort comme étant un facteur d'influence, mais pas systématiquement, laissant à penser que l'hypothèse d'une imprégnation par les huîtres de la flore bactérienne présente est envisageable. Ainsi, une fois introduites dans leur secteur d'élevage, les huîtres, quel que soit leur âge, révèleraient la diversité des espèces ou groupe d'espèces bactériennes caractérisant un secteur.

# **Caractérisation des secteurs ostréicoles étudiés**

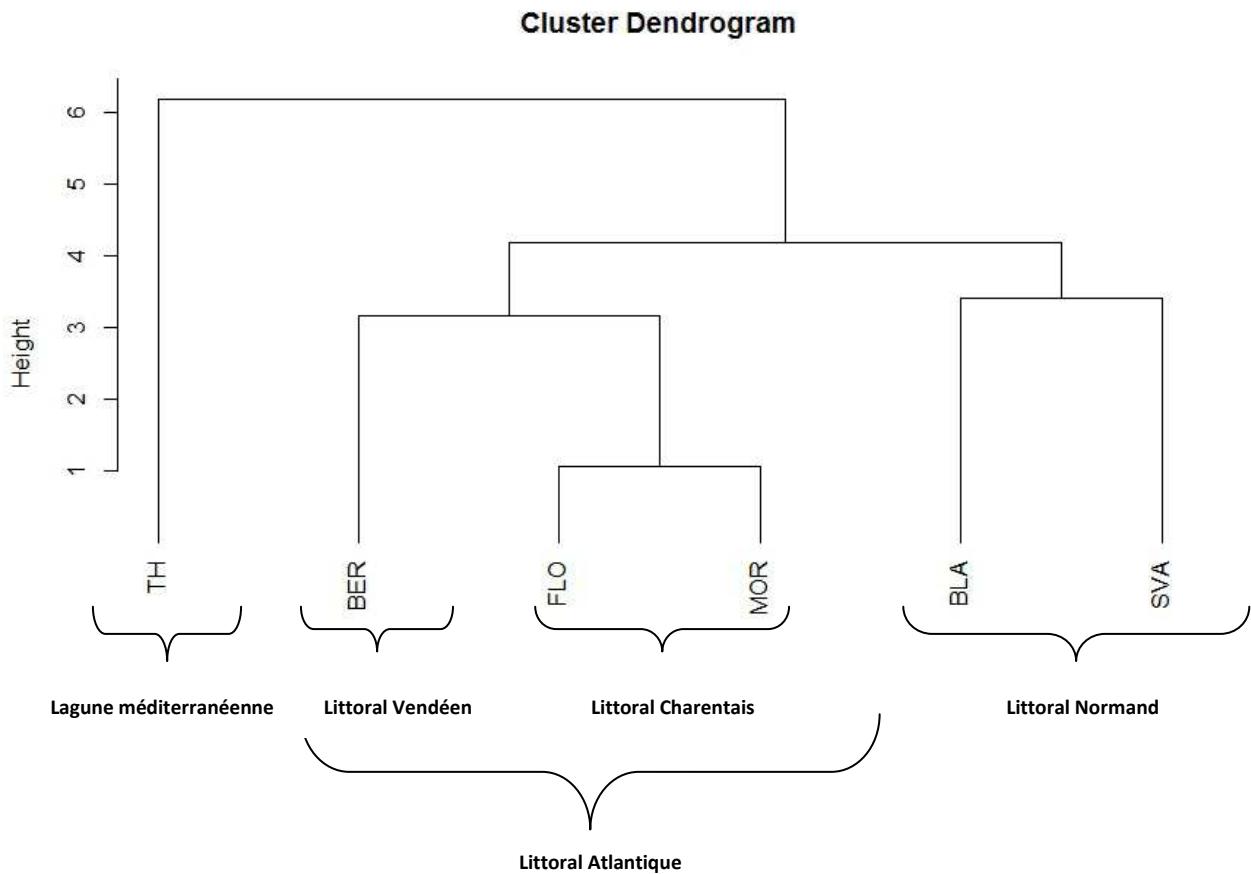
- 1- Classification non supervisée
- 2- Analyse multi-variée
- 3- Bilan

## 1- Classification non supervisée

Pour répondre à l'un des objectifs de cette étude et à la lumière des résultats obtenus précédemment, nous pouvons envisager de réaliser une classification des sites étudiés en fonction des différentes variables disponibles.

L'analyse par site repose donc ici sur la prise en compte des variables suivantes :

- **Charge bactérienne** moyenne
- Le pourcentage de vibrions du **groupe Splendidus**
- Le pourcentage de souches **non identifiées** (NI)
- Le pourcentage de vibrions appartenant à des **groupes peu représentés**
- La **diversité moyenne** des souches observées au **temps T1**
- La **diversité moyenne** des souches observées au **temps T2**
- La **diversité moyenne** des souches observées au **temps T3**
- La **diversité moyenne** des souches observées au **temps T4**



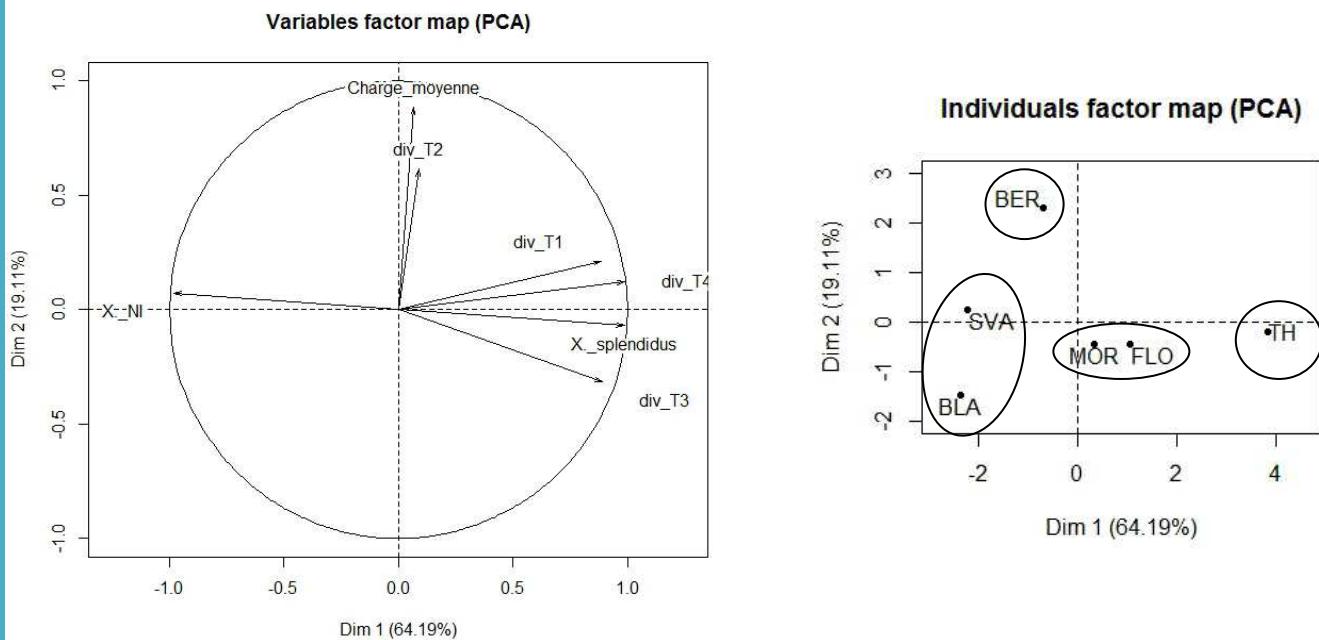
Cette analyse différencie clairement les sites ostréicoles avec le site de Thau [TH] qui est bien caractérisé et différent des autres secteurs. Ensuite, se distinguent les sites « atlantiques » de la Bernerie, La Mortanne et La Flotte ([BER], [MOR], [FLO]) par rapport aux sites normands de Blainville [BLA] et St Vaast [SVA]. Notons que les sites charentais de La Mortanne et de La Flotte se détachent du site vendéen de La Bernerie.

## 2- Analyse multi-variée

Afin de mieux visualiser la structuration des données disponibles, une analyse en composante principale est réalisée sur les variables suivantes :

### ACP 1 :

- **Charge bactérienne moyenne**
- Le pourcentage de vibrions du **groupe Splendidus** ( $X_{splendidus}$ )
- Le pourcentage de souches **non identifiées** ( $X_{NI}$ )
- La **diversité moyenne** des souches observées au **temps T1** (div-T1)
- La **diversité moyenne** des souches observées au **temps T2** (div-T2)
- La **diversité moyenne** des souches observées au **temps T3** (div-T3)
- La **diversité moyenne** des souches observées au **temps T4** (div-T4)



Dans ce premier cas, **83.3 %** de la variabilité totale est expliquées par les deux premiers axes.

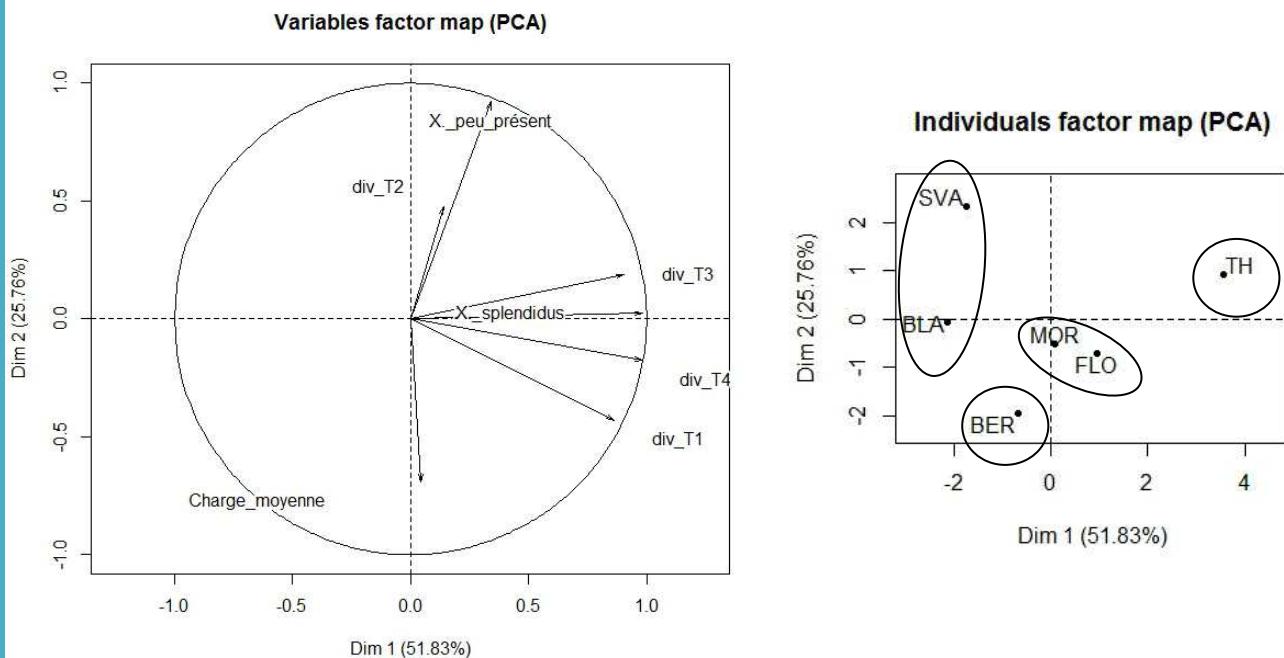
Le classement des sites obtenu ici est similaire à celui du classement non supervisé précédemment présenté.

Les diversités des temps T1, T3 et T4 ainsi que la proportion du groupe Splendidus sont corrélés avec l'axe 1. La proportion des groupes de souches « non identifiées » est également corrélée à cet axe mais inversement proportionnelle à ces premières variables. Enfin, la diversité des espèces du genre Vibrio observée au temps T2 c'est-à-dire pendant le pic de mortalité des naissains d'huîtres est corrélée avec la charge bactérienne, à l'axe 2.

Il semble donc que la diversité des souches de vibrions observée en période de mortalité des naissains soit différente de celles observée aux autres dates, toutes classes d'âge confondues.

## ACP 2 :

- **Charge bactérienne moyenne** (charge\_moyenne)
- Le pourcentage de vibrions du **groupe Splendidus** (X\_splendidus)
- Le pourcentage de vibrions appartenant à des **groupes peu représentés** (X\_peu\_présent)
- La **diversité moyenne** des souches observées au **temps T1** (div-T1)
- La **diversité moyenne** des souches observées au **temps T2** (div-T2)
- La **diversité moyenne** des souches observées au **temps T3** (div-T3)
- La **diversité moyenne** des souches observées au **temps T4** (div-T4)



Dans ce second cas d'analyse, les deux premiers axes permettent d'expliquer **77,6 %** de la variabilité totale observée.

Le classement des sites qui en découle reste inchangé même si ce dernier semble moins net pour les stations normandes.

Là encore, les diversités des souches de vibrions observés aux temps T1, T3 et T4 ainsi que la proportion des souches appartenant au groupe splendidus sont corrélées à l'axe 1.

La diversité des souches de vibrions observés au temps T2 reste corrélée à l'axe 2 avec la proportion des souches appartenant aux autres groupes de vibrions peu représentés. Dans ce cas, la charge bactérienne, est elle aussi corrélée avec l'axe 2, mais l'est de manière inversement proportionnelle.

### 3- Bilan

L'étude de la flore bactérienne avec identification des souches du genre *Vibrio* a permis de classer les différents sites. Il apparaît donc que ces derniers soient caractérisés par une évolution et une composition de souches propres que les huîtres révèlent. Cette caractérisation qui se retrouve dans les deux types d'analyses proposées ici, repose certainement sur une hiérarchisation géographique incluant plusieurs paramètres tels que les facteurs température et salinité des masses d'eau, les facteurs hydrobiologiques etc...

D'autre part, l'analyse multi-variée montre que la variable diversité des souches observées au moment du pic de mortalité des naissains d'huîtres, ne présente aucun lien avec celles observées à d'autres moments caractéristiques de l'année. Ce qui pourrait laisser supposer que cet épisode massif de mortalité n'est pas sans impact sur le milieu environnant les élevages et sur la flore bactérienne en particulier.

# **BILAN GENERAL**

Cette première étude de la flore vibrionaceae contenu dans des huîtres a permis de mettre en œuvre une nouvelle approche globale d'identification et de caractérisation de sites ostréicole français. Cette approche basée sur une identification des souches par le biais de leurs profils protéiques semble prometteuse et autorise un grand nombre d'observations tout en restant peu onéreuse.

La base de données « Vibrio » sur laquelle repose ces identifications est déjà bien conséquente en nombre et en variété d'espèces avec **188 souches de répertoriées pour 61 espèces**. Si dans un premier temps la calibration de cette technique a permis de lancer ce type d'étude, il conviendra à l'avenir de l'enrichir notamment pour mieux visualiser l'ensemble des souches observées et apporter un éclairage sur toutes celles que la base d'identification ne permet pas de reconnaître. Ainsi, cette base devra être complétée avec d'autres genres, notamment celles représentant les bactéries dites de l'environnement.

D'autre part, la diversité des différentes souches étant extrêmement importante pour une espèce donnée, il conviendra de l'enrichir au fil du temps. Ainsi, en compléments des apports de la biologie moléculaire, cette méthodologie pourra être optimisée notamment en déterminant les limites en termes d'identification.

Sur la base du plan d'échantillonnage proposé, l'étude réalisée en 2014 a montré que la **proportion des espèces du genre Vibrio observées dans les huîtres croît des sites nord aux sites sud, représentant 15% de la flore totale sur les sites normands, 40% sur les sites atlantiques et 66% sur le site de Thau**. Dans tous les cas, les espèces appartenant au **groupe Splendidus sont majoritaires**.

Précisons que mise à part les lots de naissain présentant des mortalités connues depuis 2008 comme étant attribuée au virus OsHV-1 (à la date T2 du plan d'échantillonnage), aucune des autres classes d'âge suivies n'ont subi au cours de cette étude de mortalité anormale aux dates d'échantillonnage.

En ce qui concerne le **groupe Anguillarum**, *Vibrio aestuarianus* n'a été que rarement observé. Il a été retrouvé dans du **naissain à la date T1 sur Thau**. Observé dans 2 pools / 3, il représentait en moyenne **15%** du nombre total des colonies analysées. Il a également été retrouvé dans du **naissain à Blainville à la date T2**. Présent seulement dans **1 pool / 3**, il est alors très majoritaire car représentant en moyenne **70%** du nombre total des colonies observées. Enfin, sur le site de **La Mortanne**, sa présence est plus marquée car il est observé dans les **trois classes d'âge à la date T3**. Dans tous les cas, cette observation n'est réalisée que dans 1 pool / 3 mais s'il n'est pas majoritaire chez les juvéniles (10% du nombre total des colonies analysées), il l'est pour le naissain et les adultes puisque qu'il représente respectivement **50% et 58%** du nombre total des colonies observées.

Les résultats acquis dans cette étude a permis de **caractériser les différents sites étudiés** selon la variable flore vibrionaceae. Les particularités des différents sites influencent certainement cette caractérisation. D'autre part, au fil du temps, il apparaît que **la période de mortalité des naissains dans chacun des bassins (date T2) marque une différence en termes de diversité floristique des Vibrions**.

Ce type d'approche va être réitéré dans les années à venir. Cela permettra de visualiser si ces grandes caractéristiques observées en 2014 peuvent être considérés comme grandes tendances.

# **ANNEXE**

## Souches de *Vibrio* présentes dans la base de données LABEO

### Groupes :

*V. aestuarinus*      }      Groupe *Anguillarum*  
*V. anguillarum*

*V. coralliilyticus*      →      Groupe *Coralliilyticus*

*V. ezuriae*      }      Groupe *Halioticoli*  
*V. halioticoli*  
*V. superstes*

*V. alginolyticus*      }      Groupe *Harveyi*  
*V. campbelli* (5)  
*V. harveyi* (8)  
*V. mytili*  
*V. rotiferianus*

*V. mediterranei*      →      Groupe *Mediterranei*

*V. nereis*      }      Groupe *Nereis*  
*V. xuii*

*V. nigripulchritudo*      }      Groupe *Nigripulchritudo*  
*V. penaeicida*

*V. brasiliensis*      }      Groupe *Orientalis*  
*V. hepatarius*  
*V. orientalis*  
*V. tubiashii*

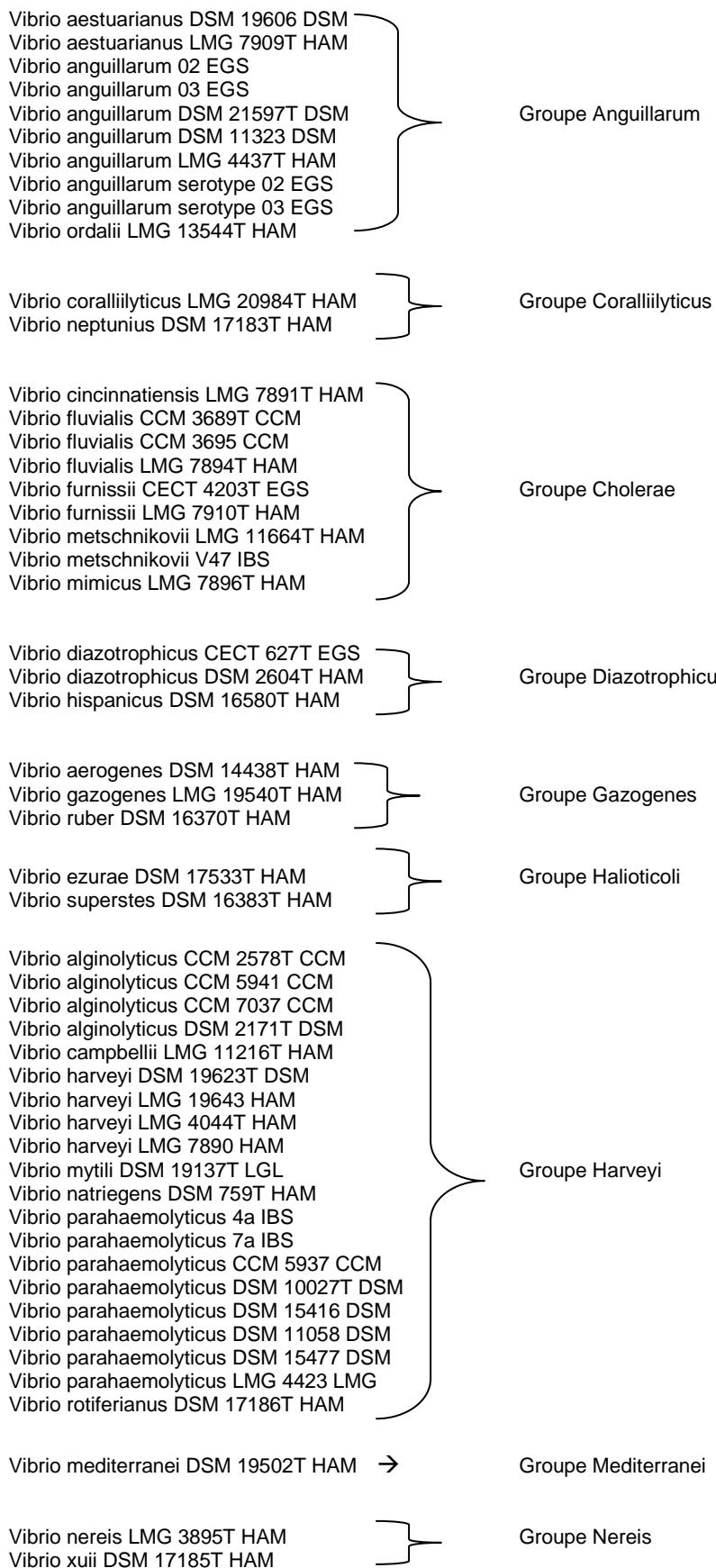
*V. chagassii*  
*V. crassostreae* (5)  
*V. cyclitrophicus* (2)  
*V. fortis*  
*V. gigantis* (4)  
*V. kanaloae* (3)  
*V. lentinus* (4)  
*V. pelagius*  
*V. splendidus*  
*V. tasmaniensis* (4)

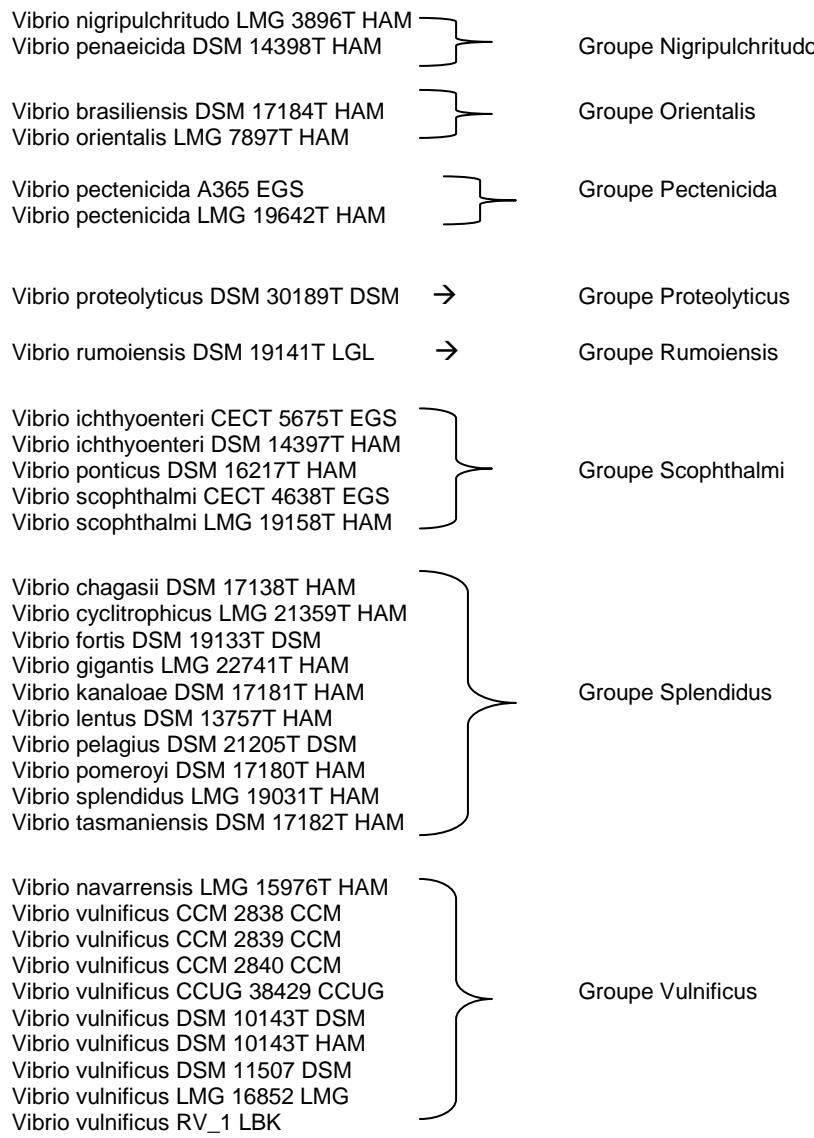
### Non classés :

*V. diabolicus* (2)  
*V. pacinii*  
*V. shilonii*  
*V. tapetis* (7)

(x) : nombre de souches présentes

## Souches de *Vibrio* présentes dans la base de données BRUKER





Non classés :

*Vibrio agarivorans* DSM 13756T HAM  
*Vibrio albensis* LMG 4406T HAM  
*Vibrio ostreicida* EGS  
*Vibrio pacinii* LMG 19999T HAM  
*Vibrio shilonii* DSM 13774T HAM