



Appel à projets 'soutien à l'innovation' 2000
Projet terminé en novembre 2002

**Evaluation et adaptation d'un système de purification des coquillages
pour l'élimination des virus entériques.**

Chef de file : CNC (Comité national de la conchyliculture)
55 rue des Petits-Champs - 75002 Paris
Tél. : 01.42.97.48.44 ; fax : 01.42.86.08.24 ; info@cnc-france.com
Contact : Goulven Brest

Partenaires : IFREMER (Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer) – centre de Brest
SCA des Huîtres de Prat ar Coum

■ **Situation du sujet et objectifs du projet**

Dans le cadre des échanges nationaux et internationaux il est important de pouvoir justifier de la qualité des coquillages mis sur le marché.

Ces dernières années, des coquillages répondant aux critères sanitaires ont été impliqués dans des épidémies communautaires. Les recherches analytiques ont mis en évidence la présence de virus d'origine entérique. Actuellement, ni les normes existantes, ni les structures d'épuration ne permettent de prévenir le risque viral. Cependant la protection du consommateur et le développement durable de la conchyliculture passent par une meilleure prévention de ce risque et en particulier par la mise au point de systèmes de purification des coquillages efficaces.

Ce projet a pour but d'améliorer la performance de systèmes d'épuration pour éliminer la contamination virale des coquillages, lorsqu'elle est mise en évidence ou lorsqu'il y a suspicion (mois à risque). Pour ce faire, ont été testés différents paramètres susceptibles d'améliorer les procédés de décontamination des coquillages tels que l'aération du bassin, l'utilisation des U. V., l'effet de la température.

■ **Réalisation d'un bilan des équipements existants en France**

En premier lieu un bilan des équipements existants en France a été réalisé : il s'agit essentiellement de bassins insubmersibles aérés (BIA). Ces bassins sont équipés de divers systèmes d'aération et de circulation de l'eau. Ils peuvent être également équipés d'appareils divers (écumeurs par exemple) ou de structure de désinfection des eaux (filtre à sable et U.V.).

■ **Evaluation de l'efficacité de la purification virale dans un établissement agréé pour la purification**

Dans un second temps, l'efficacité de la purification virale a été évaluée dans un établissement agréé pour la purification : la SCA Prat ar Coum située à Lannilis. Les performances hydrauliques ont été mesurées. L'effet de la désinfection (rôle du filtre à sable et des U.V.) sur *E. coli* et les virus a été également testé. Les résultats obtenus montrent les excellentes performances du système en place pour répondre aux critères de mise en marché des coquillages basés actuellement sur la présence d'*E. coli*. En ce qui concerne les virus, les résultats

sont nettement moins performants et sont dus à la spécificité des virus entériques qui sont très résistants au milieu extérieur.

■ Conception d'un pilote expérimental

Une revue bibliographique et des premières expériences en laboratoire ont permis de définir les facteurs qui peuvent accélérer la purification de coquillages contaminés par les virus. Sur ces bases un pilote expérimental a été conçu et construit sur le site de Prat ar Coum.

Ce pilote est constitué de quatre bassins de 6 m³ indépendants et autonomes équipés pour l'un d'un système complet (réchauffeur, refroidisseur, pompe de recyclage, filtre à sable et U.V.), de deux bassins avec un équipement ne comprenant pas de filtre, ni d'U.V. et d'un dernier bassin qui fonctionne en BIA, sans système de modulation de température.

Ce pilote avait pour but de tester, dans des conditions proches de celles utilisées par les professionnels différents facteurs impliqués dans la purification virale afin d'optimiser le procédé pour ce type de contamination. **Le système obtenu a été validé** tant sur le plan hydraulique que sur le plan des paramètres physico-chimiques (stabilité des températures, aération...). Il présente actuellement toutes les conditions requises pour un fonctionnement dans des conditions stables de circulation d'eau, d'aération et de température. Son fonctionnement, moyennant un minimum de précautions, est aisé. Il permet par exemple de tester sur un même lot quatre conditions de purification (aération, température, alimentation en algues...) ou trois lots différents dans des conditions identiques.

■ Etude des différents facteurs impliqués dans la purification

Le travail a ensuite consisté à étudier les différents facteurs impliqués dans la purification à partir d'huîtres artificiellement contaminées. Le modèle viral choisi a été le bactériophage MS2 appartenant à la famille des bactériophages F+ARN spécifiques, qui ont été proposés comme indicateur viral. Ce modèle est facile à utiliser et sans danger pour l'homme ou l'environnement.

De nombreuses expérimentations ont été ensuite effectuées sur le pilote de Prat ar Coum. L'équipement mis en place a permis de les réaliser dans des conditions optimales de reproductibilité des conditions expérimentales. Une douzaine d'essais représentant plus d'une trentaine d'expériences ont été conduits pendant cette période. Les coquillages testés étaient des huîtres plates (*Ostrea edulis*) et des huîtres creuses (*Crassostrea gigas*). Par ailleurs différents lots d'huîtres de différents secteurs du littoral ont été testés pour évaluer la purification de coquillages naturellement contaminés.

L'effet des températures a aussi été étudié puisqu'il s'est avéré que c'était le facteur le plus significativement efficace pour accélérer la purification virale. La gamme de températures testée a varié de 8°-12°C (température locale de l'eau de mer en hiver) à 25°C. Des températures très élevées (25°C) ont été testées pour accélérer le décrochage des virus. Les résultats à ces températures se sont avérés intéressants. Cependant, si on devait les appliquer à des fins professionnelles, des précautions devraient être prises pour éviter des effets indésirables tels que l'émission de laitance. Dans les expériences sur le pilote, la vitesse de circulation de l'eau et l'oxygénation très élevées ont évité cet inconvénient. Il faut cependant rappeler qu'en écloserie, le choc thermique à ces températures est utilisé pour l'émission de gamètes et l'obtention de naissain.

Des essais à 22°C en alimentant les huîtres avec du plancton ont également été réalisés pour explorer le rôle du transit intestinal sur la purification. Les résultats ne montrent pas d'amélioration considérable de la performance. De plus la mise en œuvre s'est avérée difficile. Le coût et la faisabilité de l'alimentation en algues, par rapport à l'efficacité obtenue en purification, n'ont pas permis de retenir cette solution.

■ Conclusions

Les résultats sur l'efficacité de la purification virale des coquillages montrent qu'une purification ainsi renforcée, utilisant des températures de 20-22°C, une forte oxygénation et circulation d'eau, devrait permettre en 4 ou 5 jours l'élimination de virus entériques. Encore faut-il que cette contamination ne soit pas trop élevée et qu'elle soit récente. En effet, les temps de purification de 4-5 jours permettent un abattement d'un facteur 10, 50 au maximum. Par ailleurs la persistance de virus dans des huîtres élevées dans des eaux où la pollution est récurrente a été observée : après huit jours de purification renforcée, la présence de virus a été décelée.

Cependant, la mise en œuvre de mesures de purification renforcée, telles que décrites ci-dessus, doit rester exceptionnelle. En effet si sur le plan théorique, l'augmentation de la température permet de limiter le risque viral, il existe néanmoins plusieurs limites à ce type de traitement. Les données disponibles concernent essentiellement les huîtres. La faisabilité a été testée sur ces coquillages uniquement, car ce sont eux qui ont été impliqués dans les gastro-entérites. Le risque viral lié à la consommation des huîtres est en effet important du fait que ces coquillages sont consommés crus. Par ailleurs, si ce type de purification devait s'appliquer à d'autres coquillages, le résultat semble beaucoup plus aléatoire : les premiers essais sur des moules (*Mytilus edulis*) montrent que pour ce niveau de température élevé (22/25°C), même en utilisant une forte aération et une forte circulation des eaux dans le bassin, la mortalité est importante (> 50%).

La mise en œuvre de mesures de purification renforcée doit donc rester exceptionnelle et liée à la présence de virus entériques. Tout doit être mis en œuvre dans les zones côtières pour que cette situation soit limitée à des événements imprévisibles et ponctuels, tels que la rupture d'un réseau d'assainissement, des pluies diluviennes faisant déborder des structures d'assainissement pendant les périodes où les virus circulent dans la population.

L'obtention d'une bonne qualité des coquillages passe par la prise en compte de toutes les étapes de production, de l'élevage à l'expédition. Les mesures doivent prioritairement concerner la reconquête de la qualité du milieu **en identifiant les points critiques** et en prenant les décisions nécessaires pour éviter la contamination des zones conchylicoles. Car il est illusoire de vouloir épurer des coquillages qui ont été élevés dans des zones très contaminées. Les travaux publiés montrent que les virus sont alors plus difficilement éliminés (vraisemblablement parce qu'enfouis profondément dans les tissus intestinaux) et que d'autres types de pollutions chimiques ou microbiologiques sont associées.

L'advenue simultanée dans la zone côtière d'apports de virus (période épidémique) et de facteurs aggravants (pluie, rupture de structures d'épuration, débordement des rivières, apport renforcé du bassin versant...) peut entraîner des contaminations virales. Dans ce cas, des mesures de purification renforcée pourraient être mises en place avant commercialisation des coquillages pour protéger le consommateur et prémunir l'établissement expéditeur de désagréments tels que des alertes communautaires le désignant comme responsable de gastro-entérites chez des consommateurs.

La démarche particulière à ces mesures consistera à :

1. Identifier les lots qui ont été touchés par cette contamination virale
2. Renforcer leur traçabilité
3. Mettre en place des mesures de prévention selon l'origine des lots

Les mesures correctives consisteront, si le coquillage doit être soumis à la vente, à le passer en purification renforcée et à en contrôler l'absence de virus. Cette démarche HACCP comprendra différentes étapes qui donnent lieu aux recommandations présentées dans ce projet.

Ce projet a fait partie d'un programme plus général appelé "Virus Safe Seafood", programme européen accepté dans le cadre du 5ème PCRD (N° QLRT-1999-00634, coordinateur Monique Pommepuy, IFREMER). Ce programme réunissait cinq pays (France, Espagne, Hollande, Suède et USA). En France, l'IFREMER, le CNC et l'INRA ont participé à ce projet.