

DIRECTION DE L'ENVIRONNEMENT

ET DE

L'AMENAGEMENT LITTORAL

**ESSAIS DE DECONTAMINATION BACTERIOLOGIQUE
DES HUITRES *CRASSOSTREA GIGAS* EN BASSINS PAR
RENOUVELLEMENT ET CIRCULATION D'EAU**

*par Nicole FAURY
et Jacqueline RATISKOL*



R.INT. DEL/93-05/LA TREMBLADE

Adresse :

**Mus de Loup
17 390 LA TREMBLADE**

**DIRECTION DE L'ENVIRONNEMENT ET DE
L'AMENAGEMENT LITTORAL**

LABORATOIRE LA TREMBLADE

AUTEURS (S) : N. FAURY J. RATISKOL		CODE :
TITRE : ESSAIS de DECONTAMINATION BACTERIOLOGIQUE des HUITRES <i>Crassostrea gigas</i> en BASSINS par RENOUVELLEMENT et CIRCULATION D'EAU		Date : Mars 1993 Tirage en nombre :
CONTRAT (intitulé)		DIFFUSION
N° _____		libre <input checked="" type="checkbox"/> restreinte <input type="checkbox"/> confidentielle <input type="checkbox"/>
		Nb pages : 37 Nb figures : 13 Nb photos :

RESUME

La décontamination bactériologique des huîtres *Crassostrea gigas* a été étudiée expérimentalement dans des bassins dégorgeoirs de 13 m³ de conception proche de la configuration normale d'une station de purification française. Les huîtres contaminées artificiellement ont été placées dans des conditions dites "naturelles" d'épuration. Il n'a pas été utilisé de procédé physique ou chimique de purification de l'eau. Elles ont été soumises sur trois périodes de l'année à trois conditions différentes de renouvellement d'eau : quotidien, biquotidien ou apport continu, le témoin étant caractérisé par l'absence de tout renouvellement d'eau. Les résultats permettent de dégager un ensemble de remarques sur l'état physiologique, sur l'activité métabolique des coquillages et d'apprécier le procédé le plus apte à satisfaire la purification afin que les huîtres répondent aux normes bactériologiques de commercialisation. La décontamination des huîtres a été étudiée grâce aux indicateurs classiques de pollution fécale : les Coliformes fécaux et Streptocoques fécaux. Les observations tendent à prouver que la purification dans les conditions expérimentales ne peut être efficace en moins de 48 heures mais permettent de démontrer dans des conditions de très fortes contaminations des huîtres, la performance d'une technique par rapport aux autres. Ainsi les meilleurs résultats ont été obtenus par le procédé assurant un apport d'eau en continu.

Mots clés : Décontamination, Coliformes fécaux, Streptocoques fécaux, bassins, purification



SOMMAIRE

INTRODUCTION	p.1
MATERIELS ET METHODES	p.1
Description du site expérimental	p.1
Préparation et conditionnement des huîtres	p.2
Méthode de contamination	p.2
Protocole expérimental	p.3
Prélèvement et analyses bactériologiques	p.4
Prélèvement et analyses des paramètres abiotiques et biotiques	p.4
RESULTATS	p.5
Avril	p.5
Juin	p.9
Octobre	p.13
Traitement statistique des données	p.17
DISCUSSION	p.19
CONCLUSION	p.25
REMERCIEMENT	p.26
BIBLIOGRAPHIE	p.26
ANNEXE	p.29

INTRODUCTION

Les coquillages consommés crus ou peu cuits sont susceptibles de contenir des germes pathogènes pour l'homme. La purification consiste à les éliminer afin de protéger les consommateurs.

En France, la législation prévoit que les coquillages destinés à être épurés doivent séjourner 48 heures dans une station de purification, lorsqu'ils proviennent de zones insalubres françaises ou étrangères. La station doit désinfecter préalablement les eaux avant stabulation des coquillages. Il est fait appel à différentes méthodes chimiques (chlore, brome, ozone) ou physique (ultra-violets), afin d'éliminer des eaux d'éventuelles bactéries, virus ou parasites, dans le but de garantir la qualité de l'eau mise au contact des mollusques. De plus, la surveillance microbiologique actuelle des zones de production françaises ne permet pas de garantir totalement la salubrité des produits qui peuvent être soumis à une pollution accidentelle non détectée. Les conchyliculteurs disposent donc d'installations permettant un transit des coquillages avant la commercialisation. Celui-ci s'effectue dans des bassins dits "de finition" dont le but premier est de permettre aux bivalves de se décharger de la vase intervalvaire et éventuellement d'éliminer les bactéries qu'ils pourraient renfermer.

Le but de cette étude est de comprendre comment s'opère l'épuration d'huîtres contaminées par des germes témoins (Coliformes et Streptocoques fécaux) dans une eau n'ayant pas subi au préalable de traitement chimique ou physique ce qui est le cas des bassins de finition. Les études réalisées dans ce domaine jusqu'à présent en France ou à l'étranger sont menées soit en laboratoire sur un nombre limité d'individus, soit en milieu ouvert où il est difficile de contrôler les différents paramètres intervenants dans la purification. Ce travail présente l'avantage d'avoir été réalisé dans des conditions comparables à la pratique professionnelle (bassins de 13 m³).

MATERIELS ET METHODES

DESCRIPTION DU SITE EXPERIMENTAL (Fig.1)

La station IFREMER de La Tremblade dispose de bassins bétonnés surélevés de capacités différentes : deux bassins de 37,5 m³, et 4 bassins accolés de 13 m³. Ils sont couverts mais non fermés donc protégés des rayons directs du soleil, de la pluie, néanmoins ils restent exposés au vent. Ils sont alimentés par pompage indépendamment les uns des autres, en eau de mer préalablement décantée durant 48 heures dans un bassin de 300 m³ nommé "réserve".

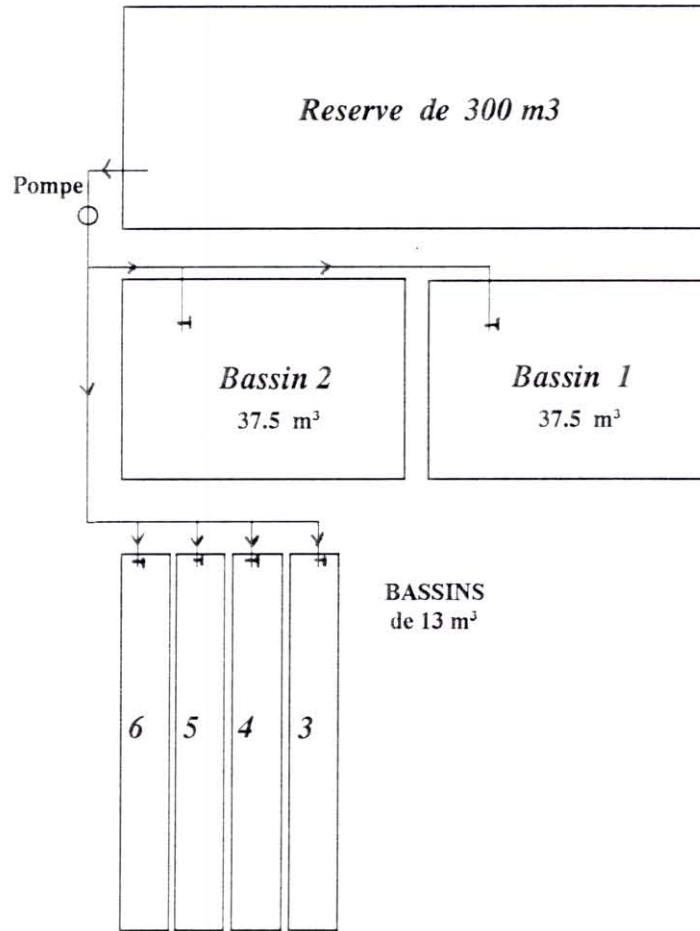


Figure 1 : Site expérimental Station IFREMER La Tremblade.

PREPARATION ET CONDITIONNEMENT DES HUITRES

Les huîtres de l'espèce *Crassostrea gigas* utilisées pour les essais proviennent du bassin de Marennes–Oléron, le poids moyen individuel étant de 80g. Entre chaque essai elles sont stockées dans des poches d'élevage sur un parc en surélevé. Avant expérience, elles sont soigneusement triées et lavées puis disposées en casiers ajourés de 14 kg sur une épaisseur de 10 à 15 cm et installées sur des tringles à environ 15 cm du fond. Ce système permet une meilleure circulation de l'eau. De plus, la biodéposition s'effectue sous les huîtres. Chaque bassin reçoit 520 kg d'huîtres ce qui correspond à une charge de 40 kg/m^2 ou de 52 kg/m^3 .

METHODE DE CONTAMINATION

Deux ballons contenant chacun un litre de bouillon coeur-cerveau sont inoculés : l'un avec des Coliformes fécaux, l'autre avec des Streptocoques fécaux. Les souches de ces germes sont obtenues à partir de coquillages contaminés du milieu naturel. L'incubation

dure 24 heures à 37°C. Il est obtenu des cultures d'environ de 10^9 germes/100 ml qui sont ensuite déversées dans le bassin n°1 contenant de l'eau de mer décantée, un aérateur permet l'homogénéisation. L'eau ainsi contaminée (10^6 Coliformes fécaux/100 ml et 10^5 Streptocoques fécaux/100 ml) est ensuite envoyée dans le bassin n° 2 sur les coquillages (2080 kg), qui ont subi une exondation préalable d'environ 15 heures. La contamination est rapide, elle s'opère en moins d'une demi-heure (Ratiskol et al., à paraître). En raison de l'importante quantité d'huîtres et afin d'obtenir une contamination homogène, il est observé un temps de contact d'une heure.

PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Pendant cinq jours, quatre lots de 520 kg d'huîtres *Crassostrea gigas* contaminées artificiellement sont placés dans les bassins n° 3-4-5-6, dans des conditions variables, basées uniquement sur trois modes de renouvellement d'eau :

- l'eau du bassin n°3 est renouvelée totalement toutes les 24 heures, à 8 h chaque matin : méthode couramment utilisée par les conchyliculteurs.
- le bassin n°5 subit deux mises à sec de 4 heures par 24 heures : de 7 à 11 h et de 19 à 23 h. Son eau renouvelée deux fois à 11 h et 23 h simule l'effet de la marée et place les huîtres dans des conditions proches de celles qu'elles rencontrent sur l'estran, là où elles sont cultivées.
- le bassin n°6 bénéficie d'un apport constant d'eau de $1\text{m}^3/\text{h}$, ce qui équivaut théoriquement à un renouvellement total de l'eau toutes les 10 heures. L'arrivée d'eau se fait en surface à une extrémité du bassin et l'évacuation à l'autre extrémité par un trop plein.
- le bassin n°4 constitue le bassin témoin : l'eau n'est pas renouvelée pendant l'expérience.

Lors des renouvellements, les bassins sont alimentés par de l'eau de mer de même origine qui provient de la réserve de 300 m^3 où elle stagne deux jours avant le début de l'expérience permettant ainsi une décantation naturelle des particules en suspension. Elle est exempte de Coliformes fécaux et de Streptocoques fécaux. L'expérience a été réitérée trois fois la même année sur le même lot d'huîtres alors que ces coquillages se trouvaient dans des conditions physiologiques différentes. Les essais ont été pratiqués :

- en début de printemps (Avril),
- en fin de printemps (Juin),
- en début de saison hivernale (Octobre),

PRELEVEMENTS ET ANALYSES BACTERIOLOGIQUES

L'eau est prélevée à l'aide de flacons stériles, sur toute la longueur du bassin.

A chaque échantillonnage, cinq huîtres sont prises au hasard à deux points différents du bassin à la surface des casiers. Une étude antérieure a permis de considérer ce type d'échantillonnage comme statistiquement fiable (Ratiskol et al., 1992). La lourdeur du système analytique empêche la multiplication des prélèvements. Les analyses bactériologiques sont immédiatement réalisées.

Il est procédé à la numération des germes contaminants selon les méthodes IFREMER (issues de la méthode AFNOR – NF V45 – 110 et circulaire du 21.01.60) basées sur une estimation du nombre le plus probable. La culture s'opère en bouillon lactosé bilié au vert brillant pour les Coliformes fécaux, et en milieu de Rothe pour les Streptocoques fécaux avec confirmation sur milieu de Litsky.

Les bassins sont échantillonnés trois fois par jour, sauf le bassin n°5 où le prélèvement se fait à chaque mouvement d'eau, soit quatre fois par jour.

PRELEVEMENTS ET ANALYSES DES PARAMETRES ABIOTIQUES ET BIOTIQUES

Les méthodes utilisées sont issues du manuel des analyses chimiques en milieu marin (Aminot A., Chaussepied M., 1983).

La température est mesurée *in situ* à l'aide d'un thermomètre électronique au dixième de degré Celsius. L'oxygène dissous fixé sur le terrain est dosé en laboratoire selon la méthode de Winkler adaptée à un mémotitrateur. Les matières en suspension sont recherchées par la méthode pondérale de Banse et al. (1963). Le contrôle de ces paramètres s'effectue trois fois par jour ou à chaque renouvellement d'eau, selon le protocole expérimental, en particulier pour les bassins n°3 et n°5. La salinité est analysée par la méthode de Jacobsen et Knudsen (1940) également adaptée sur mémotitrateur. Les pigments chlorophylliens et les phéopigments sont évalués par fluorométrie selon le protocole de Neveu (1973). Ils sont contrôlés chaque matin. L'ammoniac est fixé immédiatement sur le lieu expérimental puis dosé en laboratoire par la méthode manuelle de Koroleff (1976). Les nitrites sont dosés par la méthode manuelle de Shiwn modifiée par Bendschneider et Robinson (1952), les nitrates par la méthode de Moris et Riley modifiée par Wood, Armstrong et Richard (1967). Ces dosages ont été réalisés sur une chaîne automatisée. Ces sels nutritifs sont échantillonnés deux fois par jour en début et en fin de journée dans les bassins n°4 et n°6, et à chaque renouvellement d'eau dans les bassins n°3 et n°5.

RESULTATS

Les contaminations bactériologiques évaluées sont exprimées pour les huîtres en nombre de germes par 100 g de chair plus liquide intervalvaire et pour les eaux par 100 ml. Les représentations graphiques font apparaître les intervalles de confiance à 95% des nombres les plus probables (Table d'après J.C. de Man, 1983).

Les résultats des analyses des nitrites, des nitrates et de l'urée sont consignés dans les annexes 4 à 9.

AVRIL

La contamination initiale mesurée dans les huîtres est de $3 \cdot 10^6$ Coliformes fécaux et 10^7 Streptocoques fécaux. Les eaux se contaminent rapidement lors du remplissage du bassin, et atteignent au maximum des valeurs de 10^4 Coliformes fécaux et Streptocoques fécaux.

Bassin n°4 (Témoin)

Le bassin témoin indique un niveau comparable de contamination en Coliformes fécaux entre l'eau et les huîtres pendant 24 heures, puis une différence apparaît à partir de 48 heures : les huîtres sont plus chargées. Quant aux Streptocoques fécaux, leur nombre est moins important dans l'eau que dans les huîtres durant toute l'expérience. Au bout de 24 heures la contamination des huîtres est d'environ $5 \cdot 10^3$ Coliformes fécaux, soit une baisse de 10^3 . Les jours suivants l'épuration est faible. Les Streptocoques fécaux suivent le même modèle d'évolution (Fig.2).

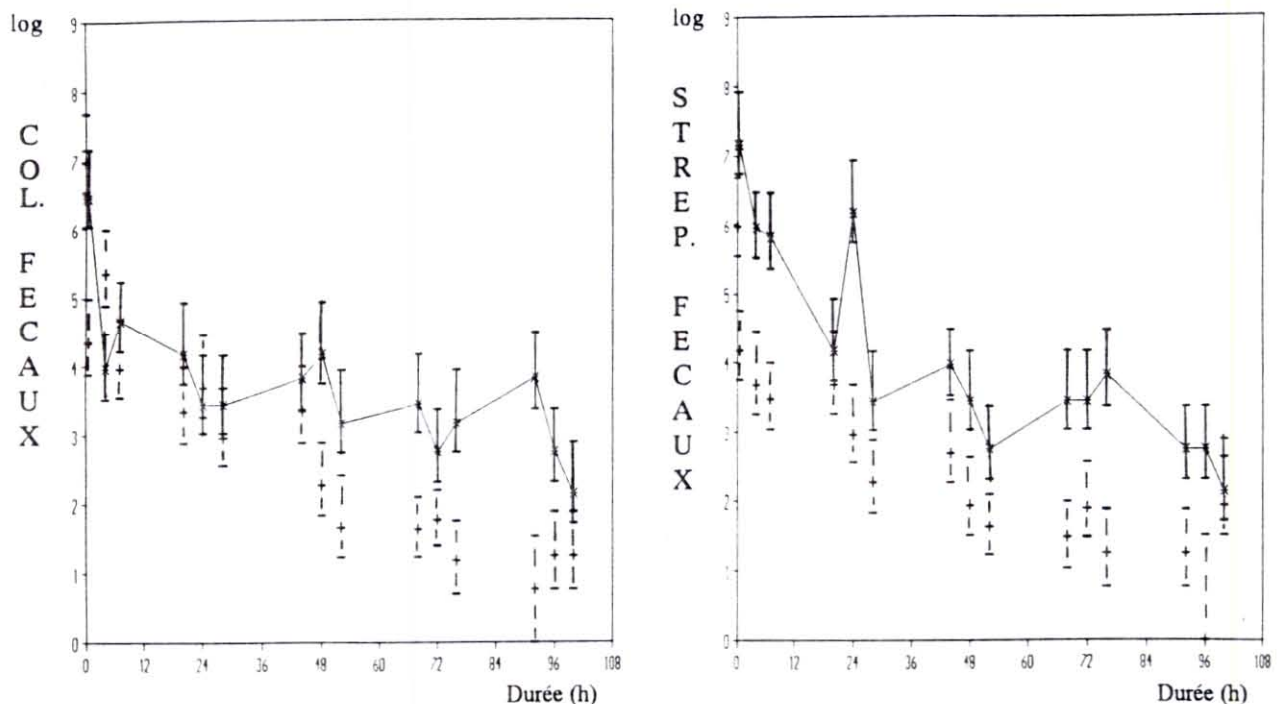


Figure 2 : Cinétique de décontamination dans les huîtres (*) et les eaux (+) en Avril 91, dans le bassin n°4.

La disparition d'oxygène dissous liée pour partie à la consommation des huîtres, est de l'ordre de 3 mg/l les premières 20 heures, puis de 1,3 et 0,8 mg/l les 2 jours suivants, ensuite elle devient très faible; de l'oxygène reste cependant disponible pour la respiration des huîtres (environ 4 mg/l)(Annexe 1).

La concentration en azote ammoniacal atteint progressivement un maximum de 28,5 $\mu\text{mol/l}$ au bout de 68 heures. Elle est relativement faible lors des 24 premières heures, elle se stabilise après 72 heures à la valeur moyenne de 23,6 $\mu\text{mol/l}$. La teneur en nitrates varie peu, elle augmente en début d'expérience et se stabilise ensuite autour de 18 $\mu\text{mol/l}$. Les teneurs en urée et en nitrites changent peu.

Bassin n°3 (renouvellement toutes les 24 heures)

La purification des huîtres en Coliformes fécaux est importante les premières heures : en 7 heures il est enregistré une baisse de 10^2 . A 24 ou 48 heures, le nombre de Coliformes fécaux est comparable, la même observation est faite à 72 et 96 heures. Ceci se traduit par un abaissement en 93 heures de 10^2 (par rapport à la valeur notée au bout de 7 heures). Malgré le premier renouvellement, l'eau reste à un niveau de contamination proche de celui des huîtres ; ce n'est qu'à partir de 48 heures (2ème renouvellement) qu'une différence peut être remarquée. Ainsi, en fin d'expérience l'eau est pratiquement exempte de Coliformes fécaux alors que les huîtres se trouvent à des taux supérieurs à 10^2 . Comme dans le bassin témoin, l'eau reste moins contaminée en Streptocoques fécaux par rapport aux huîtres. L'épuration des coquillages lors des premières heures n'est pas aussi spectaculaire que celle obtenue pour les Coliformes fécaux. Il est tout de même constaté une baisse de 10^3 en 24 heures. Ensuite celle-ci ne sera que légèrement supérieure à 10^1 . En fin d'expérience, les huîtres sont donc encore contaminées à 10^3 Streptocoques fécaux, alors que l'eau est faiblement chargée (Fig.3).

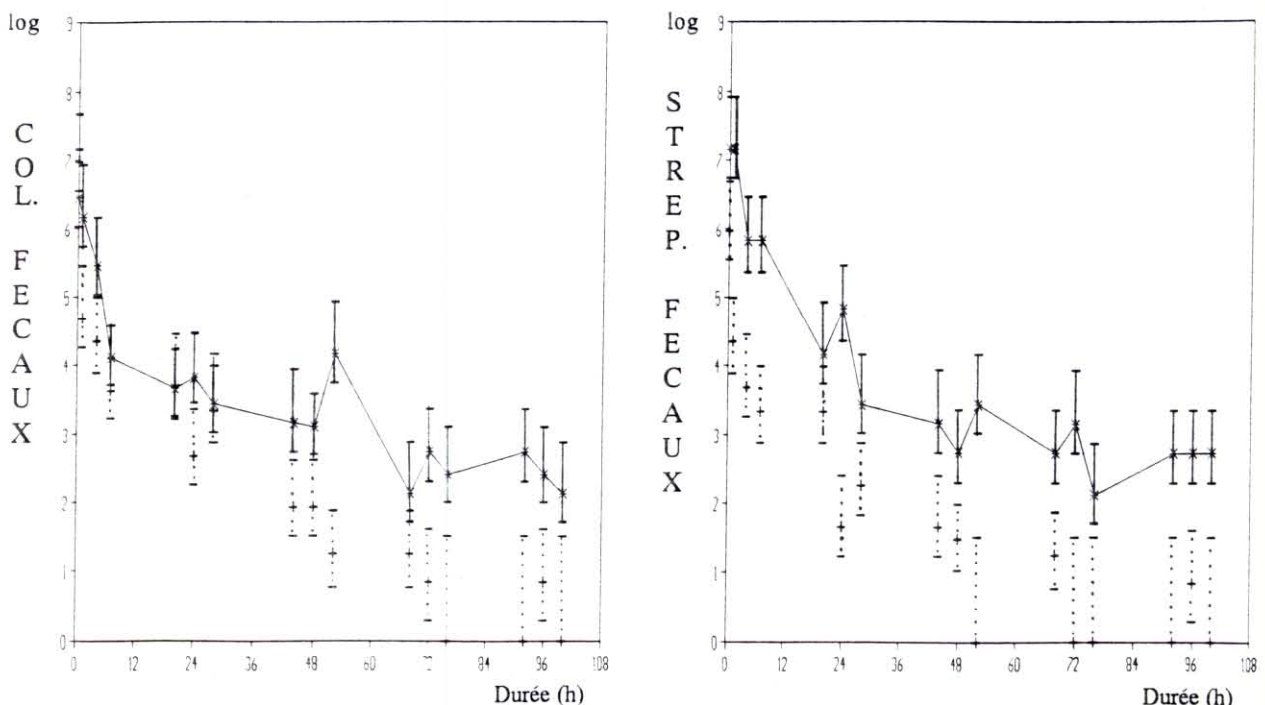


Figure 3 : Cinétique de décontamination dans les huîtres (*) et les eaux (+) en Avril 91, dans le bassin n° 3.

Le renouvellement de l'eau chaque matin ne semble pas avoir d'effet marqué sur la purification des huîtres. Toutefois, il permet un apport d'oxygène dissous qui chaque jour est partiellement utilisé pour la respiration et correspond à une diminution d'oxygène en moyenne de 2,8 mg/l. La disparition d'oxygène des 20 premières heures est comparable à celle du bassin témoin (Annexe 1).

L'excrétion azotée semble régulière durant chaque cycle, elle se caractérise par des concentrations en azote ammoniacal comprises entre 8 et 9 $\mu\text{mol/l}$, elle est cependant plus faible le deuxième jour ($<5 \mu\text{mol/l}$). Il n'est pas observé de formation de nitrites, l'urée s'accroît légèrement durant chaque cycle. On peut seulement noter une augmentation inexplicable de nitrates le troisième jour à 16 heures alors que le bassin retrouve une valeur normale à 8 heures le matin suivant.

Bassin n°5 (deux renouvellements d'eau quotidiens)

Le bassin n°5 bénéficie d'un renouvellement d'eau bi-quotidien qui permet d'obtenir rapidement une eau moins chargée en Coliformes fécaux et Streptocoques fécaux. En revanche, cela ne semble pas contribuer à la purification des huîtres puisque la baisse enregistrée (10^3 Coliformes fécaux et 10^2 Streptocoques fécaux) est identique aux bassins n°3 et n°4. Les trois derniers jours des essais, les Coliformes fécaux baissent de 10^1 et les Streptocoques fécaux de 10^2 dans les huîtres. Durant les mises à sec, les teneurs en Coliformes fécaux et Streptocoques fécaux dans les huîtres se modifient peu et il n'est pas observé de grandes variations de la qualité bactériologique de l'eau (Fig.4).

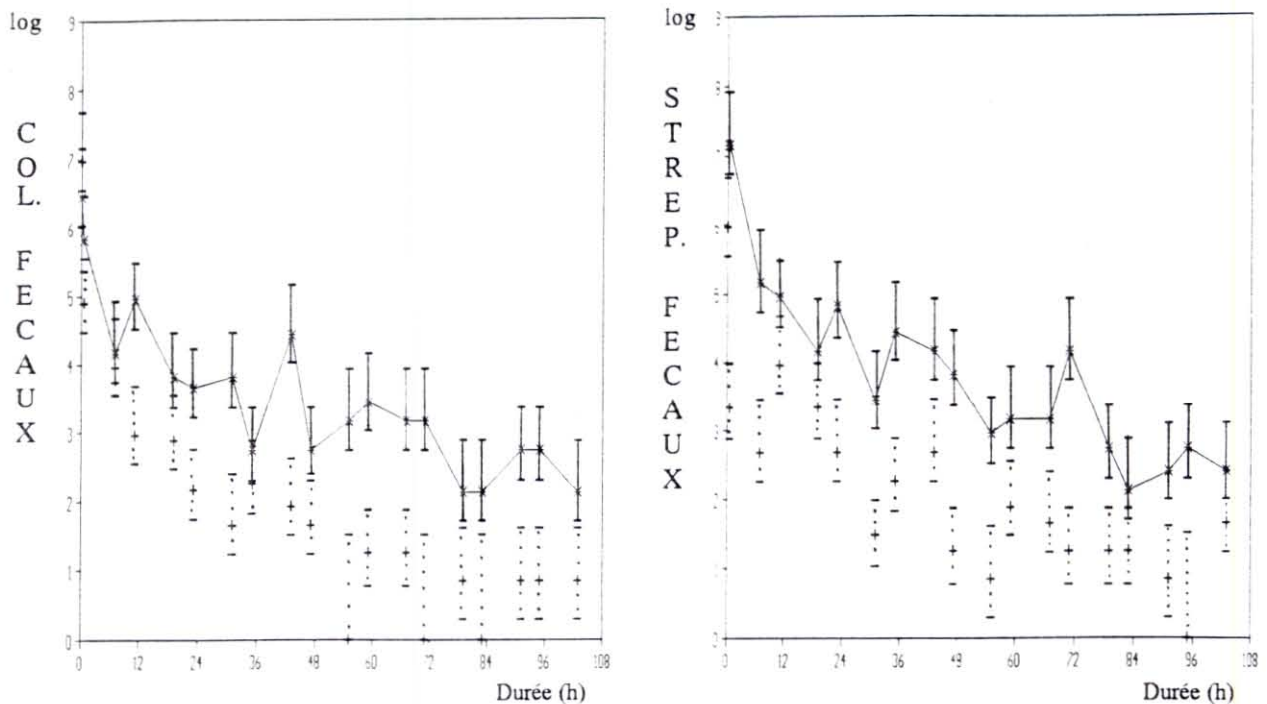


Figure 4 : Cinétique de décontamination dans les huîtres (*) et les eaux (+) en Avril 91, dans le bassin n° 5.

Durant l'immersion (8 heures), en moyenne 1,9 mg/l d'oxygène disparaissent. Ainsi les huîtres ont une activité respiratoire plus importante que celles du bassin n°3 (Annexe 3).

La production d'azote ammoniacal est pour un cycle de l'ordre de 5,2 $\mu\text{mol/l}$ soit 0,65 $\mu\text{mol/l/h}$. Cette valeur comparée à celle du bassin n°3 qui est de 0,35 $\mu\text{mol/l/h}$ indiquerait que l'activité métabolique pendant la période d'immersion est plus intense dans le bassin n°5. La baisse d'oxygène dissous corrobore cette hypothèse. Les nitrates et l'urée augmentent durant chaque cycle, mais l'amplitude est faible. Les nitrites ne varient pas.

Bassin n°6 (renouvellement 1 m³/h)

Grâce à l'apport continu et à la dilution ainsi réalisée, la charge bactérienne dans l'eau diminue plus vite que dans les bassins n°3 et n°5, mais cela reste sans effet sur la purification des huîtres. Il est bénéfique durant les 24 premières heures et se traduit par une baisse de 10^4 . Les jours suivants n'apportent qu'un abaissement assez faible, les huîtres restent relativement contaminées au bout de 5 jours ($10^2 - 10^3$ en Coliformes fécaux et Streptocoques fécaux)(Fig.5).

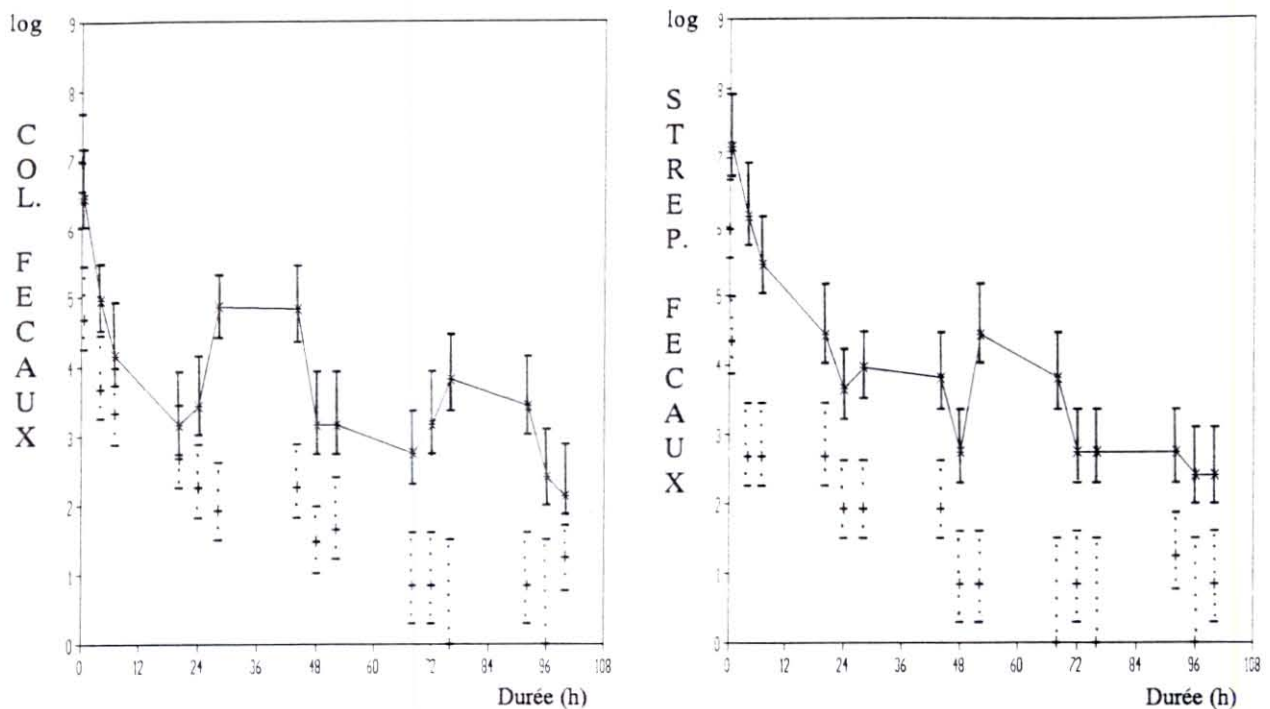


Figure 5 : Cinétique de décontamination dans les huîtres (*) et les eaux (+) en Avril 91, dans le bassin n°6.

La disparition de l'oxygène dissous est similaire à celle du bassin témoin (Annexe 1) ; en 20 heures, la baisse d'oxygène est de 2,7 mg/l et ce malgré l'apport d'eau qui constitue une source permanente d'oxygène et masque la respiration des huîtres. Le taux d'oxygène dissous est maintenu autour de 70 % de saturation (6,3 mg/l) sans qu'aucune grande

variation ne soit observée durant la nuit. Il se produit vraisemblablement un équilibre entre l'apport et la disparition.

Après avoir subi une augmentation lors des quatre premières heures, les teneurs en azote ammoniacal du bassin sont presque constantes ($4,6 \mu\text{mol/l}$ en moyenne). Les nitrates semblent s'accroître en début d'expérience (en 24 heures) puis diminuer ensuite et être deux fois moins élevés qu'initialement. L'urée et les nitrites ne varient pas.

JUIN

Les huîtres contaminées à un niveau comparable à celui du mois d'avril présentent une charge initiale de 10^7 Coliformes fécaux et Streptocoques fécaux. Comme dans l'expérience précédente l'eau se contamine lors du remplissage : le nombre de Coliformes fécaux est de l'ordre de 10^4 et de 10^3 pour les Streptocoques fécaux.

Bassin n°4 (témoin)

Dans le bassin témoin, les huîtres ne se décontaminent que très lentement : au delà de 24 heures de séjour, le nombre de germes ne décroît que faiblement. La baisse rapide de 10^3 Coliformes fécaux observée dans les huîtres au terme de la première journée ne se poursuit plus. Il en est de même pour les Streptocoques fécaux dont le nombre diminue progressivement jusqu'à 48 heures (baisse de 10^4). L'eau est moins contaminée par les Streptocoques fécaux que par les Coliformes fécaux. Les Streptocoques restent en nombre très inférieur à ceux rencontrés dans les huîtres (Fig.6).

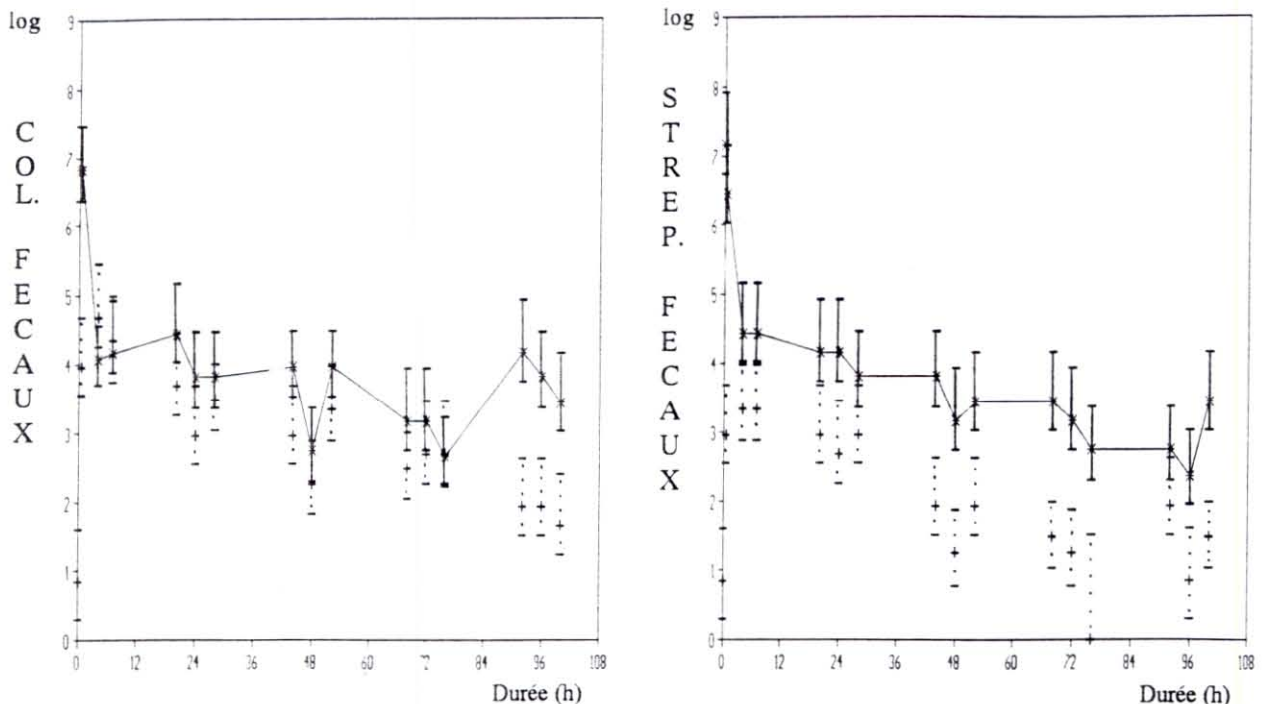


Figure 6 : Cinétique de décontamination dans les huîtres (*) et les eaux (+) en Juin 91, dans le bassin n° 4.

Pendant les vingt premières heures il disparaît la quasi totalité de l'oxygène disponible, soit 5,9 mg/l. Les jours suivants, la faible quantité restante d'oxygène s'appauvrit lentement. Au terme de l'expérience, le taux de saturation n'est plus que de 4 % (Annexe 2).

La teneur en azote ammoniacal du bassin est maximum en 48 heures (50 $\mu\text{mol/l}$), ensuite elle devient stable. Les autres paramètres azotés ne subissent pas de variation.

Bassin n°3 (renouvellement toutes les 24 heures)

L'examen des cinétiques de décontamination montre pour le bassin n°3 des concentrations identiques entre les huîtres et les eaux, ces dernières se recontaminant rapidement malgré le renouvellement quotidien. En 48 heures, il est observé une baisse de 10^3 Coliformes fécaux dans les huîtres, au delà apparaît un déclin lent permettant d'atteindre 10^2 au terme des 100 heures d'expérience. L'élimination des Streptocoques dans les huîtres s'opère de façon semblable : chute importante lors des premières 24 heures et nouvelle baisse qui s'observe au delà de 72 heures. Lors du premier et du second changement d'eau, l'eau se contamine. Lorsque les huîtres présentent une contamination de 10^3 Streptocoques fécaux, l'eau se contamine peu contrairement à ce qui a été observé pour les Coliformes fécaux (Fig 7). Ce point est évoqué plus loin.

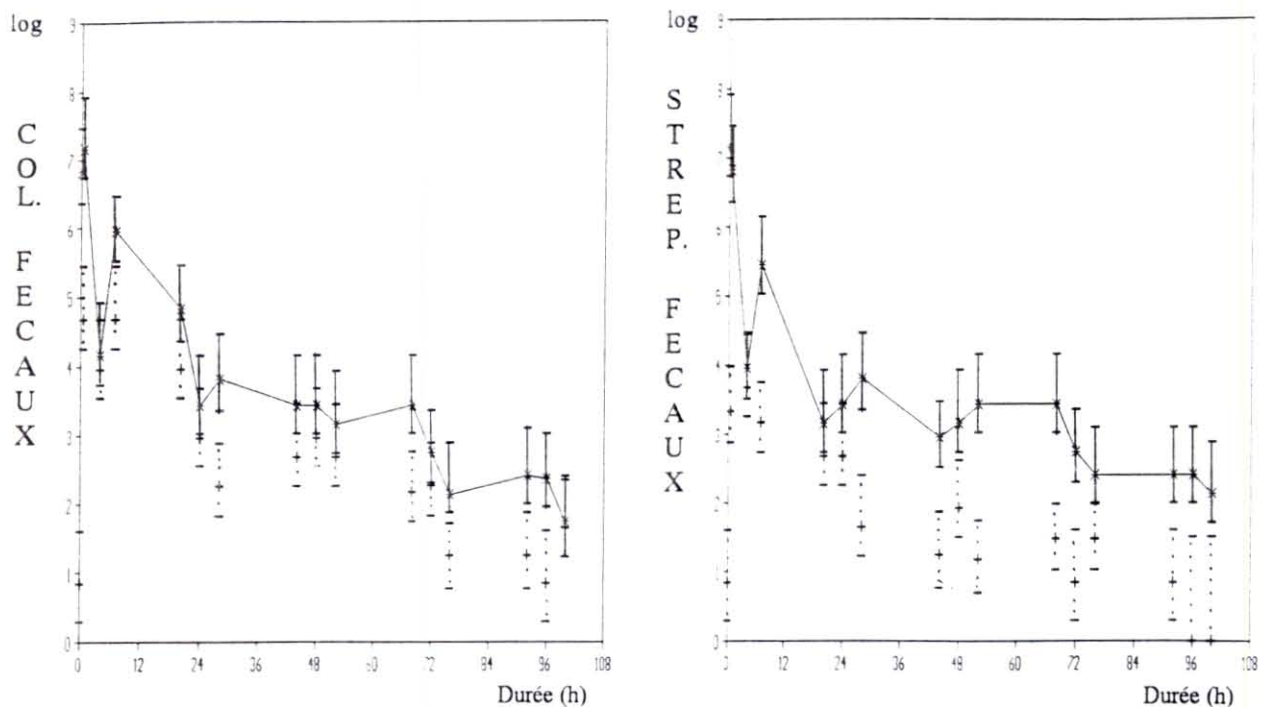


Figure 7 : Cinétique de décontamination dans les huîtres (*) et les eaux (+) en Juin 91, dans le bassin n°3.

Lors des 20 premières heures, la disparition d'oxygène dissous a été de 6,5 mg/l. Chaque jour, le renouvellement d'eau permet d'obtenir une quantité initiale d'oxygène dissous d'environ 6,6 mg/l. Durant chaque cycle de 24 heures, il disparaît en moyenne 5,8 mg/l d'oxygène (Annexe 2).

Parallèlement, la production d'azote ammoniacal est la plus importante le premier jour, en 20 heures elle est égale à 18 $\mu\text{mol/l}$. Les jours suivants, la quantité d'azote ammoniacal mesurée sur 24 heures est voisine de 15 $\mu\text{mol/l}$, les autres matières azotées mesurées n'ont pas ou peu varié.

Bassin n°5 (deux renouvellements d'eau quotidiens)

Malgré le renouvellement bi-quotidien de l'eau, la purification des huîtres ne paraît pas meilleure que dans les autres bassins : la baisse en 24 heures est comparable à celle observée dans les bassins n°3 et n°4. Elle est égale à 10^1 les 24 heures suivantes ; ensuite la décontamination ne s'opère plus que ce soit en Coliformes fécaux ou Streptocoques fécaux. L'eau se contamine lors du remplissage du bassin : la concentration en Coliformes fécaux de chaque nouveau cycle d'immersion s'avère identique à celle du cycle précédent. Ceci ne se vérifie pas pour les Streptocoques fécaux qui ont tendance à disparaître (baisse de 10^1). Les huîtres présentent systématiquement en fin de mise à sec des concentrations en germes supérieures à celles du début d'exondation que ce soit en Coliformes fécaux ou en Streptocoques fécaux (Fig.8).

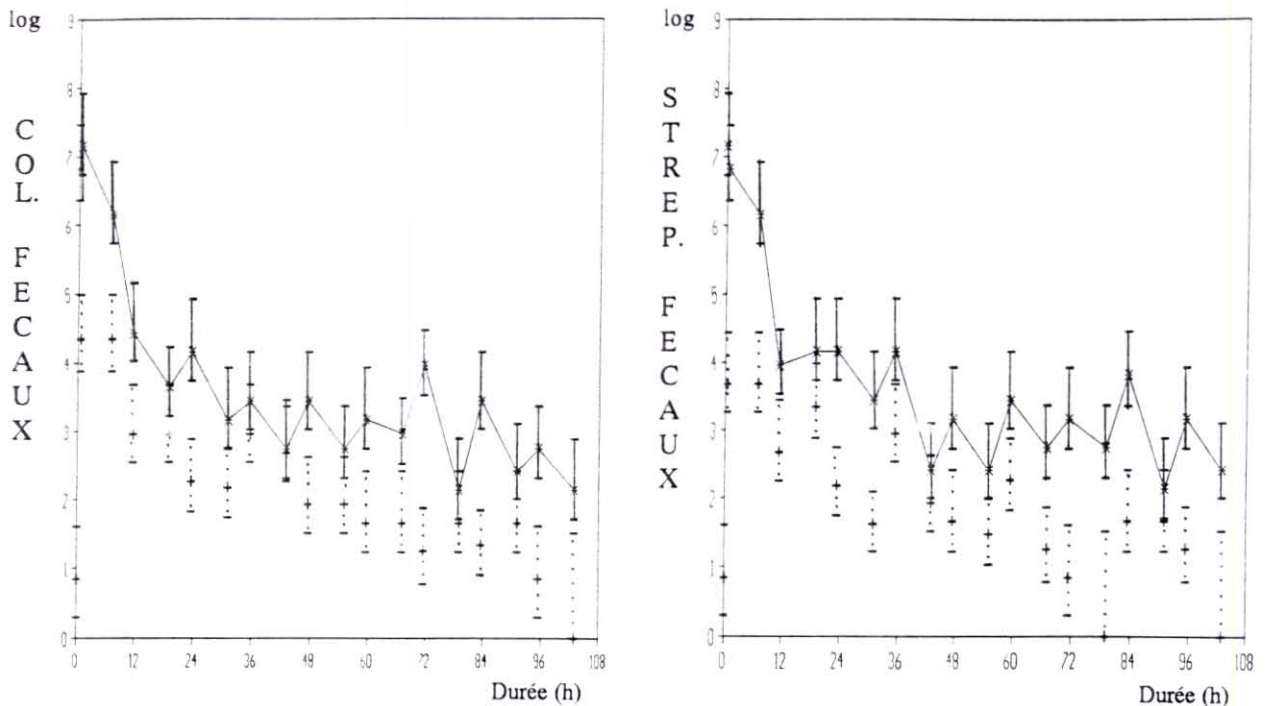


Figure 8 : Cinétique de décontamination dans les huîtres (*) et les eaux (+) en Juin 91, dans le bassin n° 5.

La disparition de l'oxygène dissous est de l'ordre de 3,4 mg/l pour chaque cycle d'immersion. Elle reflète d'une respiration active (Annexe 2).

La teneur en azote ammoniacal des sept premières heures (premier cycle) est de 12 $\mu\text{mol/l}$. Lors des cycles suivants, la concentration diminue un peu avec une tendance à remonter en fin d'expérience. La moyenne des concentrations sur l'ensemble des cycles de 8 heures est de 10 $\mu\text{mol/l}$, soit 1,25 $\mu\text{mol/l/h}$ alors que dans le bassin n°3 elle est deux fois moins importante (0,62 $\mu\text{mol/l/h}$). Il est donc constaté comme en avril, une activité plus importante des huîtres dans ce bassin par rapport à celle du bassin n°3. L'urée augmente légèrement durant les cycles, les nitrites et nitrates ne changent pas.

Bassin n°6 (renouvellement 1 m³/h)

L'élimination des Coliformes fécaux est importante lors des 48 premières heures et se matérialise par une chute de 10^4 , alors qu'en 24 heures la numération des Streptocoques fécaux montre une baisse de $5 \cdot 10^3$, suivie par une stagnation. L'eau et les huîtres présentent des contaminations en Coliformes fécaux analogues jusqu'à 72 heures de séjour ; la charge en Streptocoques fécaux s'amenuise régulièrement tout au long de l'expérience (Fig.9).

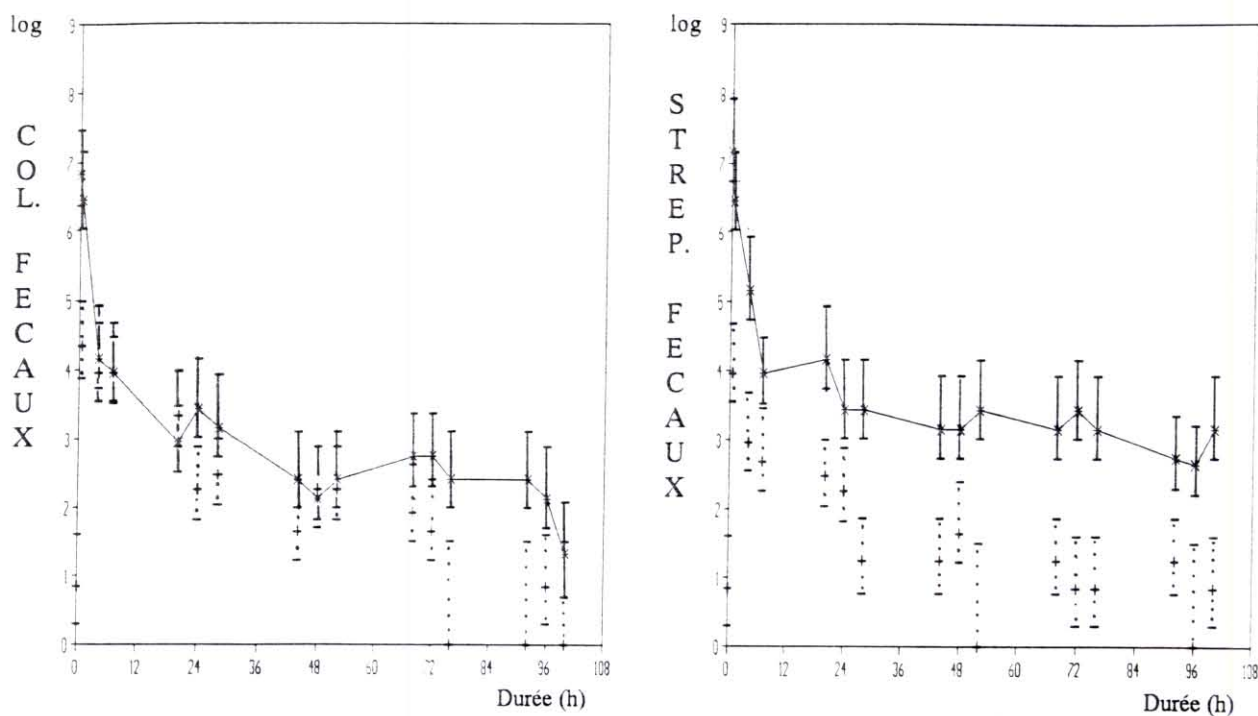


Figure 9 : Cinétique de décontamination dans les huîtres (*) et les eaux (+) en Juin 91, dans le bassin n° 6.

La disparition de l'oxygène dissous des 7 premières heures semble comparable à celles des autres bassins, l'apport constant d'eau maintient le taux de saturation à 50% les jours suivants, soit 3,9 mg/l (Annexe 2).

Les huîtres de ce bassin excrètent beaucoup plus que celles des autres bassins lors des 7 premières heures ($12 \mu\text{mol/l}$ de N-NH_4), puis la valeur se stabilise à $10,5 \mu\text{mol/l}$. Les nitrates et l'urée augmentent un peu les premières 24 heures puis auraient tendance à diminuer.

OCTOBRE

La contamination initiale des huîtres est de 10^6 en Coliformes fécaux et de 5.10^7 en Streptocoques fécaux. Les eaux se contaminent lors du remplissage et affichent des concentrations de 10^4 pour ces deux types de germes fécaux.

Bassin n°4 (témoin)

L'eau et les huîtres se décontaminent faiblement en Coliformes fécaux durant les 5 jours d'expérience. Seule une baisse de 10^2 est observée chez les mollusques. Les concentrations rencontrées dans les eaux et les coquillages sont proches. Par contre la numération des Streptocoques fécaux des huîtres révèle un abaissement de 10^3 en 24 heures, suivi d'une diminution lente et faible. Les eaux deviennent moins chargées à partir de 72 heures (Fig.10).

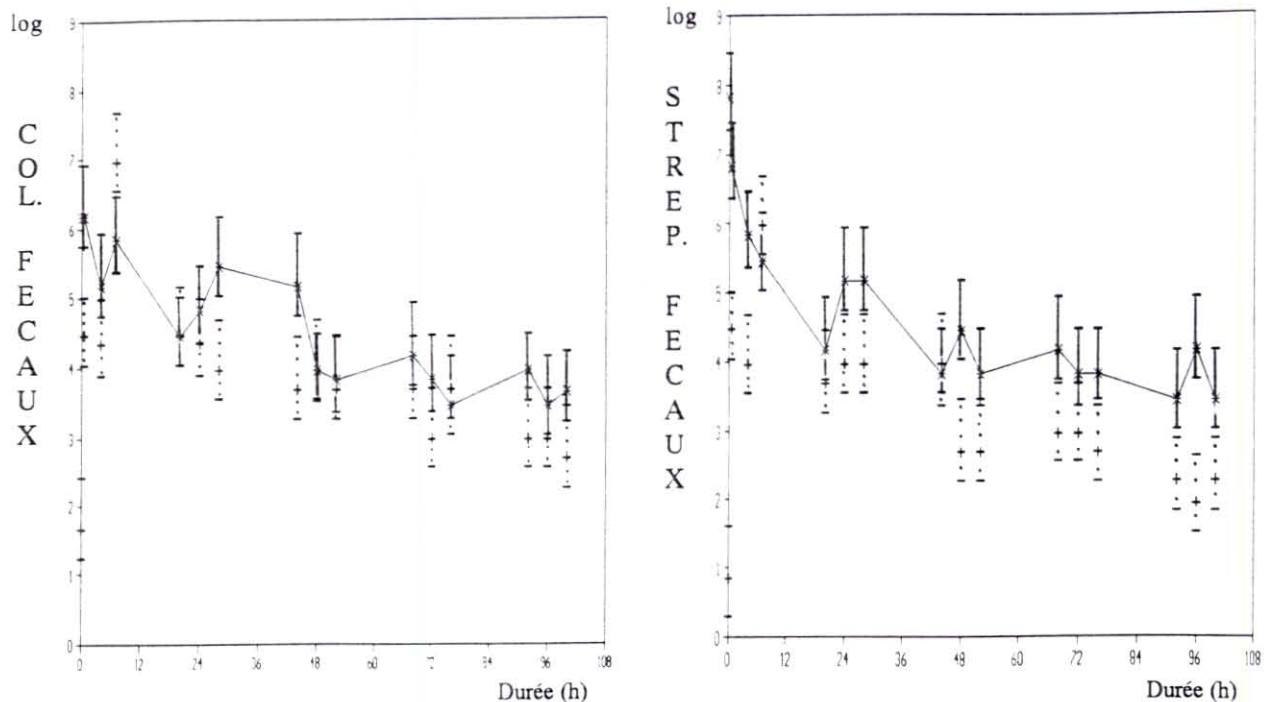


Figure 10 : Cinétique de décontamination dans les huîtres (*) et les eaux (+) en Octobre 91, dans le bassin n° 4.

La disparition est forte lors des 24 premières heures (on note une baisse de 4 mg/l d'oxygène), ensuite la consommation décroît (2,2 mg/l le second jour et 0,3 mg/l le troisième jour), puis elle devient nulle (Annexe 3).

La teneur maximum d'azote ammoniacal est obtenue en fin d'expérience (72 $\mu\text{mol/l}$). Les productions journalières s'ajoutent les unes aux autres (13,4 $\mu\text{mol/l}$ le premier jour, 27 $\mu\text{mol/l}$ le second, 9,3 $\mu\text{mol/l}$ le troisième et 18,2 $\mu\text{mol/l}$ le quatrième jour). La production d'azote ammoniacal est constante et sans palier alors que la respiration est faible. Les teneurs en nitrites, nitrates et urée ne varient pas.

Bassin n°3 (renouvellements toutes les 24 heures)

Dans ce bassin, la plus forte diminution des Coliformes fécaux dans les huîtres est obtenue lors des premières 48 heures (soit une baisse de 10^3), mais ne se poursuit pas. Le premier changement d'eau permet une épuration de 10^2 Coliformes fécaux. Comme au mois d'avril et de juin, l'eau reste contaminée les premières 48 heures. La décontamination des Streptocoques fécaux des huîtres est forte en début d'expérience (baisse de 10^3 en 7 heures). Pendant les cycles suivants, l'eau se charge peu en Streptocoques fécaux, comparativement aux Coliformes fécaux (Fig.11).

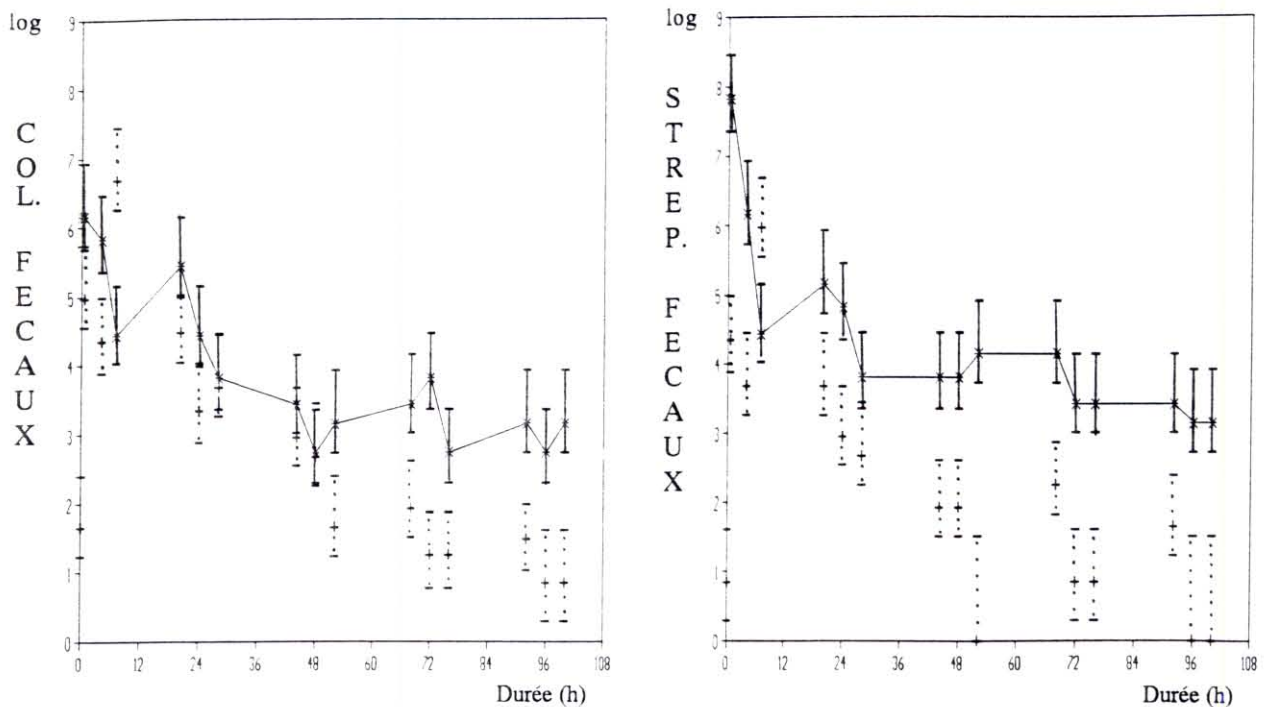


Figure 11 : Cinétique de décontamination dans les huîtres (*) et les eaux (+) en Octobre 91, dans le bassin n° 3.

La disparition de l'oxygène dissous est pratiquement constante les trois premiers jours (environ 3,4 mg/l). Elle devient faible les deux derniers jours d'expérience (Annexe 3).

La teneur en azote ammoniacal de 13 $\mu\text{mol/l}$ lors des premier et deuxième cycles, s'affaiblit lors du troisième et du quatrième pour n'être que de 10 et 9 $\mu\text{mol/l}$. Un abaissement des températures extérieures, et par conséquent celle de l'eau, expliquerait la diminution de consommation d'oxygène et de l'activité excrétoire, surtout sensible les deux derniers jours d'expérience. L'urée augmente durant les cycles, les nitrates et nitrites quant à eux ne subissent pas de variation.

Bassin n°5 (deux renouvellements d'eau quotidiens)

Alors qu'il a toujours été constaté une contamination instantanée de l'eau lors du remplissage du bassin (30 mn), celle-ci continue au moins jusqu'à 19 h soit 5 h après le début de l'expérience en raison de la décontamination plus lente des huîtres. Ceci a été observé pour les Coliformes fécaux et les Streptocoques fécaux. Après 24 heures d'épuration, soit après deux renouvellements d'eau, la baisse est proche de celle des bassins n°3 et n°6. Au delà de 48 heures, la concentration en Streptocoques fécaux stagne tandis que la charge en Coliformes fécaux baisse régulièrement. La période de mise à sec ne favorise pas comme en Juin l'augmentation des germes à l'intérieur des coquillages. L'eau montre une tendance à la contamination lors de chaque changement. La concentration en Coliformes fécaux et en Streptocoques fécaux reste distincte de celle des huîtres (Fig.12).

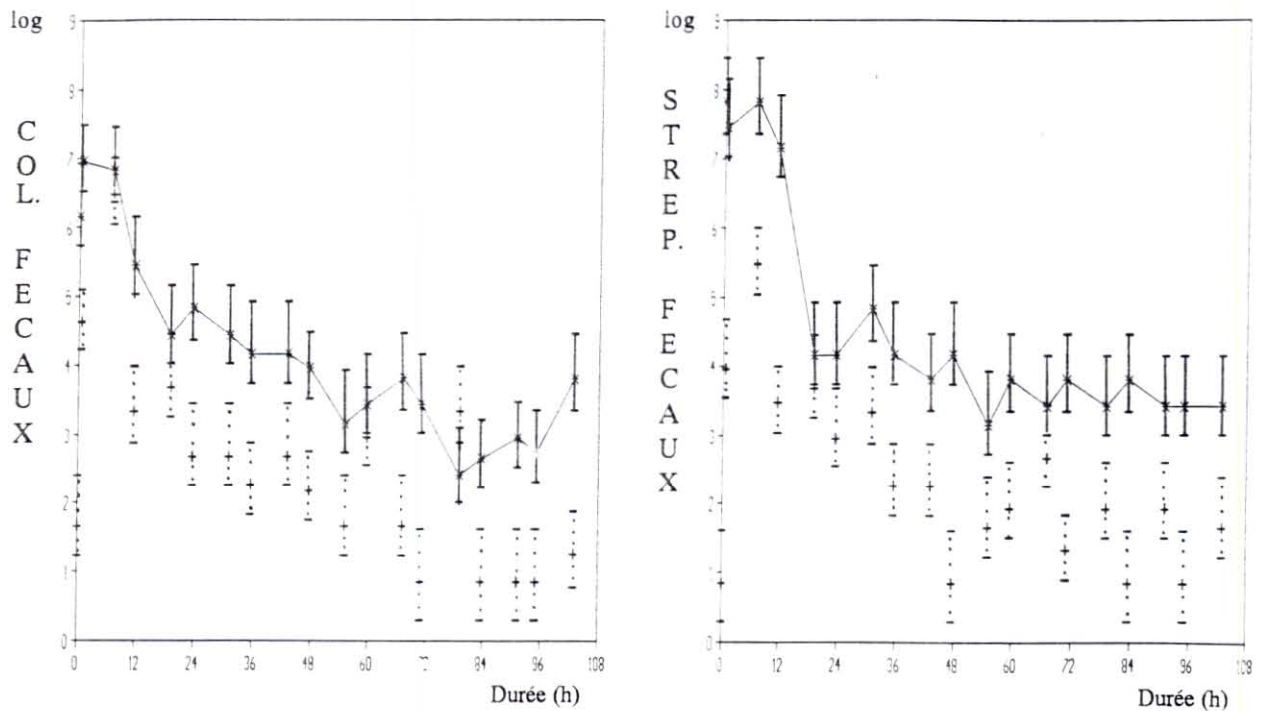


Figure 12 : Cinétique de décontamination dans les huîtres (*) et les eaux (+) en Octobre 91, dans le bassin n°5.

Les disparitions de l'oxygène sont un peu moins importantes qu'en juin, 1,4 mg/l en moyenne par cycle (Annexe 3).

Le schéma d'excrétion est identique à celui de juin mais les valeurs obtenues sont cependant moins fortes : 6,6 $\mu\text{mol/l}$ de N-NH_4 en moyenne par cycle, soit 0,8 $\mu\text{mol/l/h}$, contre 0,46 $\mu\text{mol/l/h}$ dans le bassin n°3. Les nitrites, nitrates et l'urée ne subissent pas de variation significative.

Bassin n°6 (renouvellement 1 m³/h)

L'eau se décharge progressivement et nettement en Coliformes fécaux et en Streptocoques fécaux ; elle demeure moins chargée que les huîtres et sa contamination finale est voisine de 10^1 . La décontamination des coquillages s'amorce dès les premières 24 heures, elle est d'autant plus marquée pour les Streptocoques fécaux que la contamination initiale est forte, la stagnation n'est observée qu'à partir de 48 heures contrairement à celle enregistrée dans les bassins n°3 et n°5 où elle débute à 24 heures. Curieusement, lors des prélèvements de 12 et 16 heures, les huîtres montrent une tendance à accumuler les Coliformes fécaux, l'eau par contre se décharge. En fin d'expérience les huîtres présentent une charge de 10^2 Coliformes fécaux et de 10^3 Streptocoques fécaux (Fig.13).

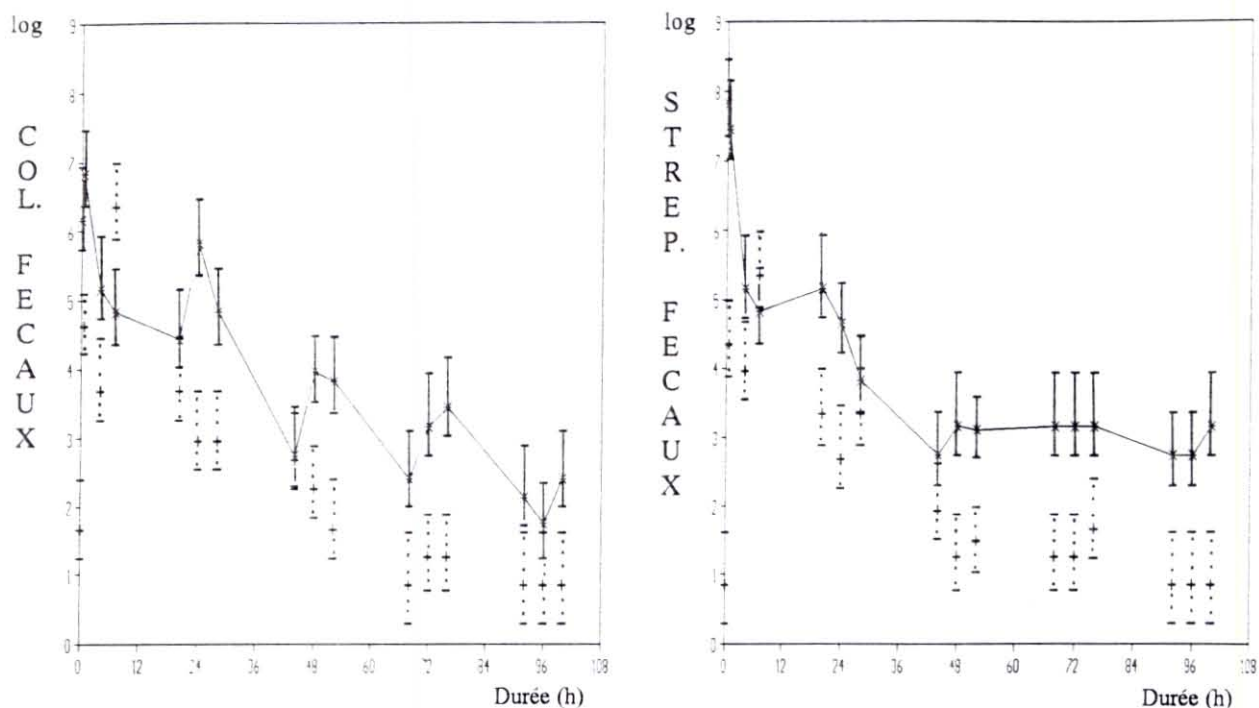


Figure 13 : Cinétique de décontamination dans les huîtres (*) et les eaux (+) en Octobre 91, dans le bassin n° 6.

Les mesures d'oxygène dissous suggèrent à ces mêmes périodes une respiration plus prononcée des huîtres, donc une filtration plus active. Le taux sur les 5 jours d'expérience subit comme dans tous les bassins une chute le premier jour, puis celui-ci grâce à l'apport constant d'eau se maintient aux environs de 65 % du taux de saturation (5,1 mg/l). A partir de 72 heures, une légère hausse de ce taux se fait sentir (75 % correspondant à 6 mg/l) due au vent et à la baisse de température extérieure (Annexe 3).

Le maximum de production azotée est enregistré lors des 24 premières heures (11,7 $\mu\text{mol/l}$ de N-NH_4), puis celle-ci diminue soit en raison de la dilution (mais ceci n'a pas été observé lors des expériences d'avril et de juin), soit par baisse d'activité des huîtres. L'urée et les nitrites sont stables durant toute l'expérience, les nitrates augmentent les 48 premières heures puis diminuent, les valeurs sont toutefois relativement faibles.

Traitement statistique des données

L'examen des résultats a permis de recueillir des informations brutes et doit être appuyé par des traitements statistiques. Ils ont pour but de déterminer si une différence existe entre les bassins selon les périodes d'expérience : le paramètre pris en compte étant l'estimation du nombre de Coliformes fécaux et de Streptocoques fécaux dans les huîtres. Les variables étudiées ne faisant pas l'objet d'une hypothèse de distribution théorique, le test de Friedman semble adapté à la problématique envisagée. Il permet une analyse de variance non paramétrique à deux critères de classification. Les résultats des classements et le niveau de signification sont rassemblés dans le tableau suivant :

Tableau 1 : Résultats du test de Friedman. Comparaison entre les bassins aux différentes périodes et comparaison toutes périodes confondues.

HUITRES	N° BASSIN	RANG MOYEN EN COL.FEC.	SEUIL DE SIGNIFICATION	RANG MOYEN EN STREP.FEC.	SEUIL DE SIGNIFICATION
Expérience Avril 91	3	2.12	0.441	2.28	0.69
	4	2.72		2.72	
	5	2.47		2.40	
	6	2.69		2.59	
Expérience Juin 91	3	2.75	0.000859	2.19	0.32
	4	3.06		2.84	
	5	2.72		2.31	
	6	1.47		2.67	
Expérience Octobre 91	3	2.09	0.0348	2.62	0.00124
	4	3.15		3.09	
	5	2.62		2.75	
	6	2.12		1.53	
Toutes expériences confondues	3	2.32	0.001735	2.36	0.0399
	4	2.98		2.88	
	5	2.60		2.49	
	6	2.09		2.26	

Il n'apparaît pas de différences significatives pour l'expérience d'avril que ce soit en Coliformes fécaux ou en Streptocoques fécaux. Le test appliqué à l'expérience de juin révèle une différence significative uniquement pour les Coliformes fécaux, le bassin n°6 ayant obtenu le meilleur classement. L'examen des résultats obtenu pour octobre indique des différences significatives pour les deux paramètres : le bassin n°3 est le mieux placé en ce qui concerne les Coliformes fécaux et le bassin n°6 l'est pour les Streptocoques fécaux.

Le test de Friedman a permis également de comparer un bassin par rapport à un autre aux différentes époques. Les résultats corroborent logiquement ceux obtenus précédemment:

- en avril la comparaison n'apporte pas d'éléments supplémentaires par rapport au test général,

- en juin, le bassin n°6 est significativement meilleur que les bassins n°4 et n°3 pour les Coliformes fécaux. Le test est négatif pour les Streptocoques fécaux,

- en octobre, le test révèle une différence marquée entre les bassins n°3 et n°4, en ce qui concerne les Coliformes fécaux. Les résultats obtenus pour les Streptocoques fécaux indiquent une différence du bassin n°6 par rapport aux trois autres bassins pris séparément.

La comparaison toutes périodes confondues permet de dégager et de confirmer que les bassins n°6, puis n°3 sont les plus performants. Il était prévisible que le bassin témoin n°4 soit systématiquement le plus mal placé.

DISCUSSION

Cette étude a été menée sur le même lot d'huîtres, mais à des périodes différentes de l'année, les conditions hydrobiologiques et météorologiques n'étaient pas similaires dans les trois cas. La température de l'eau a oscillé en avril entre 11°C et 13°C, en juin entre 18 et 20°C ; en octobre, l'eau s'est rafraîchie en cours d'expérience : elle est passée de 16°C à 14°C. Toutes les expériences se sont déroulées à des salinités comprises entre 32‰ et 33‰.

La richesse en phytoplancton est variable selon la saison. Toutefois il est à noter qu'il a été dans tous les cas consommé extrêmement rapidement (observations également faites par Bougrier *et al.*, 1991). Dans le bassin n°6, il est ingéré au fur et à mesure qu'il arrive ; il a même été constaté lors des trois essais une croissance de la coquille.

L'état physiologique des animaux dépend également de la saison (Bougrier *et al.*, 1991). Ainsi en avril, les coquillages présentent un métabolisme réduit ayant épuisé leurs réserves durant l'hiver. La nourriture à cette époque est faible. En juin, profitant des efflorescences printanières, l'huître a une activité métabolique intense qui lui permet en outre d'assurer la gamétogénèse. En Octobre, la reproduction terminée, l'huître constitue des réserves glycogéniques et, en raison de la baisse des températures, amorce la diminution de son métabolisme.

Ces comportements physiologiques différents se refléteraient au travers de la disparition de l'oxygène dissous (liée à la consommation) relevée dans le bassin témoin n°4 : l'examen sur les 20 premières heures montre une forte respiration en juin, 5,9 mg/l de l'oxygène dissous disponible sont consommés. En avril, la consommation n'est que de 3 mg/l. En octobre, elle se situe au niveau intermédiaire de 4 mg/l. Les bassins expérimentaux (n°3, n°5 et n°6) montreraient également une dépendance saisonnière de l'activité respiratoire : dans le bassin n°3, l'eau séjourne 24 heures, les consommations moyennes établies sur les 3 cycles complets de 24 heures ont été de 2,7 en avril et de 5,8 en juin et 2,8 mg/l en octobre. Les huîtres du bassin n°5 qui subissent 2 mises à sec de 4 heures par 24 heures, immergées deux fois 8 heures, utilisent durant chaque cycle respectivement 1,9 mg/l en avril, 3,4 mg/l en juin et 1,4 mg/l en octobre. La respiration des huîtres du bassin n°6 est plus difficilement quantifiable. En effet, l'apport constant d'eau (1 m³/h) rend difficile cette appréciation. Néanmoins les représentations graphiques (Annexes 1, 2 et 3) sont expressives : en avril le taux d'oxygène dissous se stabilise à environ 70 % (soit 6,3 mg/l) en juin en étant toutefois plus irrégulier à 50 % (soit 3,9 mg/l) et en octobre à 65 % (soit 5,1 mg/l).

Outre l'impact de l'état physiologique des animaux aux différentes saisons sur l'activité respiratoire, il apparaît que les différents procédés expérimentaux auxquels ont été soumis les animaux joueraient également un rôle. Les résultats obtenus sur le bassin témoin n°4 privé de renouvellement d'eau indiqueraient une adaptation des huîtres à la quantité d'oxygène disponible ce que décrivent également Bougrier *et al.*, (1991). Ces auteurs

précisent qu'un changement de processus métabolique peut intervenir dans de telles conditions. Ce processus se modifie notablement selon les dispositions expérimentales : l'activité métabolique des huîtres subissant deux mises à sec quotidiennes est supérieure à celle des huîtres dont l'eau est renouvelée une fois par jour. L'examen de la respiration le montre parfaitement. Les exondations de quelques heures entraînent chez les huîtres une consommation d'oxygène dissous intense lors de l'immersion consécutive (Annexe 1, 2, 3).

D'autre part, la production ammoniacale vient étayer cette hypothèse (tableau 2). Les quantités mesurées, ramenées en production par heure indiquent une excrétion supérieure dans le bassin n°5 à celle du bassin n°3. L'activité excrétoire du bassin n°6 est quantifiable s'il est considéré que le flux apporté ($1 \text{ m}^3/\text{heure}$) se disperse de façon homogène et opère ainsi une dilution. La production dans ce bassin comparée aux bassins n°3 et n°5 est la plus faible. Néanmoins, les huîtres du bassin n°6 ne semblent pas subir de stress et elles rencontrent ici des conditions favorables à leur métabolisme (croissance). A l'opposé, les huîtres du bassin n°5 sont soumises à des chocs en raison des mises à sec qui provoquent une intensification de leur activité respiratoire et excrétoire, dès qu'elles sont à nouveau immergées. Elles sont ici dans des conditions proches de celles qu'elles rencontrent sur l'estran. Les huîtres du bassin n° 3 ne supportent pas d'exondation de longue durée (le remplissage du bassin est consécutif à la vidange).

Tableau 2 : Excrétion azotée en $\mu\text{mol/l/h}$ des huîtres dans les bassins expérimentaux aux 3 périodes (il n'a pas été retenu les valeurs du bassin témoin en raison de l'accumulation et la transformation possible sur 5 jours de l'azote ammoniacal).

	BASSIN N°3	BASSIN N°5	BASSIN N°6
AVRIL	0,35	0,65	0,21
JUIN	0,62	1,25	0,48
OCTOBRE	0,46	0,80	0,37

Les deux paramètres (oxygène dissous et azote ammoniacal) permettent d'établir un classement de l'activité métabolique dans chaque bassin qui peut être associé à l'état physiologique des animaux. Ainsi, en octobre les huîtres présentent un dynamisme métabolique inférieur à celui de juin mais supérieur à celui d'avril.

Les états physiologiques des huîtres différents selon les saisons et l'activité métabolique dépendante des conditions expérimentales ont-ils une influence sur la purification des huîtres contaminées?

On peut considérer que les huîtres ont été contaminées aux mêmes niveaux aux 3 périodes données : 10^7 Coliformes fécaux et 10^7 à 10^8 Streptocoques fécaux. L'examen des cinétiques de décontamination a généralement montré que la diminution la plus spectaculaire intervient en 24 heures ou 48 heures. Cet effondrement de la contamination a également été observé par Buisson *et al.* (1981), qui notent que pour des contaminations initiales supérieures à 10^5 germes, la purification est la plus intense lors des premières 24 heures et note que pour de pareils taux, la décontamination n'est pas suffisante en 72 heures, quelles que soient les températures. Toutefois les conditions expérimentales (circuit fermé, stérilisation de l'eau par U.V.) étaient différentes de celles décrites ici. La forte intensité de décontamination observée dans les premières heures (Buisson *et al.*, 1981), est déterminée par le mode de rétention des bactéries dans l'animal : des bactéries se trouvent encore dans le liquide intervalvaire et sont donc plus facilement éliminées, les autres sont soit retenues par le mucus des différents tissus, soit contenues dans le tube digestif. Leur relargage dans l'eau en sera donc dépendant. Dans ces essais, il est probable que beaucoup de bactéries soient présentes dans le liquide intervalvaire et ne soient pas encore ingérées. Ceci expliquerait d'autre part la contamination rapide de l'eau (< 30 mn). En conséquence, au terme de 24 ou 48 heures, les taux rencontrés et le mode de rétention des bactéries rendraient les huîtres comparables à celles contaminées naturellement dans les zones insalubres où sont fréquemment rencontrées des charges de l'ordre de 10^3 et 10^4 germes fécaux. Des études ultérieures vont permettre d'affiner la technique de contamination artificielle de manière à obtenir un niveau initial dans les coquillages proche de celui observé en milieu naturel.

En France, la législation exige que les coquillages livrés à la consommation présentent une charge inférieure à 300 Coliformes fécaux/100 ml de chair et de liquide intervalvaire de coquillages (Directive Européenne du 30.10.79, n° 79-923 CEE). Deux jours minimum sont jusqu'à présent couramment retenus pour l'épuration des différents coquillages. Lors de cette étude, les résultats obtenus, excepté pour le bassin témoin n° 4 qui est totalement clos pendant cinq jours, et où se déroule un "entretien" de la contamination de l'eau, ces huîtres fortement contaminées ne s'épurent pas en moins de 48 heures. Si l'on se réfère au tableau n°3, dont les pourcentages ont été calculés sur le petit nombre de prélèvements journaliers mais dont la fiabilité est supérieure à celle pratiquée en contrôle courant dans les stations de purification (un seul prélèvement permet de décider si le produit est commercialisable ou non), il apparaît que :

- le bassin n°6 fournit incontestablement le plus grand nombre de bons résultats (inférieurs à 300 germes). En Juin, il est obtenu 66 % de bons résultats en Coliformes

fécaux entre 24 et 48 heures et 100 % en 72 heures. Le système est totalement inefficace pour la purification des Streptocoques fécaux, où seulement 50 % des prélèvements d'Avril sont < à 300/100 g en 72 heures.

- le bassin n°3 est un peu moins performant que le bassin n°6 pour l'élimination des Coliformes fécaux : 72 heures sont nécessaires pour obtenir 100 % de résultats négatifs en juin. En avril, 33 % des résultats sont acceptables entre 48 et 72 heures. En octobre aucun prélèvement n'est inférieur à 300. Comparé au bassin n°6 il serait obtenu des meilleurs résultats en purification des Streptocoques fécaux.

- le bassin n°5 ne commence à être efficace qu'à compter de 72 heures en Coliformes fécaux et Streptocoques fécaux.

Tableau 3 : Pourcentage d'échantillons présentant une charge en Coliformes fécaux (C.F.) et en Streptocoques fécaux (S.F.) < 300/100 g de chair + liquide intervalvaire.

		BASSINS							
		N°3		N°4		N°5		N°6	
Durée de purification		C.F.	S.F.	C.F.	S.F.	C.F.	S.F.	C.F.	S.F.
Avril	<24h	0	0	0	0	0	0	0	0
	de 24h à 48h	0	0	0	0	0	0	0	0
	de 48h à 72h	33	0	0	0	0	0	0	0
	>72h	75	25	25	25	60	60	50	50
Juin	<24h	0	0	0	0	0	0	0	0
	de 24h à 48h	0	0	0	0	0	0	66	0
	de 48h à 72h	0	0	0	0	0	25	33	0
	>72h	100	100	0	25	60	40	100	0
Octobre	<24h	0	0	0	0	0	0	0	0
	de 24h à 48h	0	0	0	0	0	0	0	0
	de 48h à 72h	0	0	0	0	0	0	33	0
	>72h	0	0	0	0	20	0	75	0

Les eaux de chaque bassin étant soumises à des gestions différentes n'ont pas été comparées entre elles. Cependant dans chaque cas, la contamination de l'eau est souvent proche de celle des huîtres surtout pendant les 2 premiers jours. De plus, il apparaît généralement que les Coliformes fécaux sont plus abondants que les Streptocoques fécaux.

Deux explications à cela pourraient être avancées :

- les Coliformes fécaux seraient relargués plus facilement par les huîtres, les Streptocoques fécaux étant par leur mode de groupement en chaîne mieux ingérés et mieux retenus grâce à une meilleure résistance aux enzymes digestives rencontrées dans le coquillage (observations faites sur *Mytilus edulis* par Plusquellec *et al.*, 1990). Ainsi, les Coliformes entretiendraient une certaine pollution de l'eau.

- les Coliformes fécaux auraient-ils une durée de vie dans l'eau de mer supérieure à celle des Streptocoques fécaux ? Cette théorie est très controversée. La survie dépendrait de la richesse nutritive du milieu récepteur (Lessard et Sieburth, 1982).

Il semble que la première hypothèse soit la plus satisfaisante pour expliquer la charge en Coliformes fécaux des eaux.

Les bactéries trouveraient-elles dans les bassins où elles sont confinées des conditions favorables à leur survie ?

- Les huîtres consomment le phytoplancton en quelques heures, le milieu est donc appauvri, l'absence de matières organiques serait favorable à l'élimination des germes.

- La couverture des bassins protégerait l'eau des rayonnements solaires mettant les micro-organismes à l'abri de leur pouvoir bactéricide (Pommeppy *et al.*, 1990).

- D'autre part, une recontamination des bassins par les biodépôts peut être envisagée. Des études ont montré que les bactéries viables des fécès pouvaient être relarguées (Goggins, 1964) et recontaminer le milieu (Haven *et al.*, 1977), notamment pour des températures supérieures à 25°C (Souness et Fleet, 1991) : température controversée pour *E. coli* par Rowse et Fleet (1982) et Cook (1984) qui précisent que la survie des bactéries dans les fécès est inversement proportionnel à la température.

Dans cette étude, grâce à l'installation des huîtres en surélevé (20 cm au dessus du sol) les fécès tombent au fond du bassin et le contact huîtres-fécès est évité. Elles sont partiellement évacuées lors des changements de l'eau, mais une partie peut subsister et être remise en suspension lors du remplissage car aucun lavage des huîtres et des bassins n'est pratiqué entre les renouvellements. Le risque de recontamination n'est donc pas à écarter dans les bassins n°3 et n°5, un lavage minutieux des casiers d'huîtres et du bassin (parois et fond) permettrait de l'atténuer et devra donc être pratiquée lors de prochains essais. Par contre, l'apport constant d'eau au bassin n°6 n'est pas suffisant pour provoquer leur remise en suspension ; dans ce cas le risque de recontamination semble nul.

L'ensemble de toutes ces observations est complété par le test de Friedman qui ne tient pas compte de la valeur intrinsèque du résultat. En effet, il démontre une efficacité de la décontamination des huîtres pour les Streptocoques fécaux dans le bassin n°6 que

l'examen précédent (tableau 4) ne traduit pas. La technique employée dans le bassin n° 6 serait donc la plus efficace pour purifier les huîtres et le renouvellement quotidien (bassin n°3) donnerait également de bons résultats. Il semble même que la technique pourrait être améliorée par une arrivée d'eau à mi-hauteur, c'est-à-dire à 20 cm au-dessus des huîtres, permettant ainsi une meilleure homogénéisation du flux. Par contre, l'apport en profondeur n'est pas souhaitable en raison de la remise en suspension des biodépôts. Ce procédé nécessite une grande disponibilité en eau.

La technique adoptée pour le bassin n°3 paraît avantageuse quant à la gestion de l'eau (un seul renouvellement par 24 heures). L'apport d'eau nouvelle est deux fois supérieur pour le bassin n°5. La durée d'immersion n'est pas comparable pour les deux bassins : proche de 24 heures pour le bassin n°3, elle n'est que de 16 heures pour le bassin n°5. La pratique de la mise à sec stimule le métabolisme de l'huître sans être bénéfique à la purification. Elle pourrait même l'aggraver comme en juin où l'exondation aurait favorisé la multiplication des bactéries dans les huîtres. Il ne paraît pas intéressant de retenir cette pratique pour des essais futurs car elle entraînerait inévitablement une augmentation des temps de séjour dans le bassin.

L'état physiologique de *Crassostrea gigas* et l'activité métabolique semblent jouer un rôle dans la purification. La mise en évidence de leur action n'est pas aussi nette qu'on aurait pu l'espérer lors de la mise en place de ces expériences. Les meilleurs résultats incontestablement obtenus en juin correspondent à l'optimum de ces deux facteurs, mais les différences ne sont pas aussi marquées entre octobre et avril : il y aurait une épuration des huîtres en avril pour les bassins n°3 et n°5 qui n'existerait pas en octobre, bien que les processus métaboliques soient considérés plus intenses qu'en avril.

La disponibilité en nourriture ne semble pas être un paramètre déterminant dans la décontamination, comme le remarquent Buisson *et al.* (1981) ainsi que Haven *et al.* (1977). L'apport nutritif a été équivalent pour les bassins n°5 et n°6, un peu moindre pour le bassin n°3.

CONCLUSION

La purification est l'aboutissement d'un grand nombre de facteurs conjugués où la température de l'eau tiendrait une place prépondérante : de nombreuses études font état de son influence (Buisson *et al.*, 1981 ; Quayle et Bernard, 1976 ; Prieur *et al.*, 1990) sur l'accumulation et l'élimination des bactéries chez les bivalves en intervenant sur leur taux de filtration. Chez ces animaux poïkilothermes, elle détermine l'activité métabolique et reproductrice. Des essais de décontamination en période hivernale à des températures inférieures à 10°C semblent peu prometteurs.

La purification en bassin est délicate. La maîtrise de celle-ci passe par une prise en compte de la contamination initiale, des conditions environnementales et de l'espèce.

L'apport permanent d'eau saine apporterait un début de réponse. Cependant, il paraît illusoire d'obtenir des résultats acceptables en moins de 48 heures pour des huîtres *Crassostrea gigas* à l'origine fortement contaminées en Coliformes fécaux et il serait vain d'envisager dans les mêmes conditions une épuration des Streptocoques fécaux. Les huîtres relargant plus facilement les Coliformes fécaux que les Streptocoques fécaux, la mesure de l'efficacité de la purification devrait s'appuyer sur le dénombrement des Streptocoques fécaux, qui constitue un indicateur plus performant que les Coliformes fécaux. Toutefois, les techniques de renouvellement quotidien et surtout de circulation d'eau offrent d'intéressantes perspectives qu'il est nécessaire d'approfondir et de tester sur des coquillages présentant des contaminations proches de celles rencontrées dans le milieu naturel (10^3 à 10^4).

REMERCIEMENTS :

Cette étude a été réalisée grâce à la collaboration technique de nos collègues du laboratoire DEL de La Tremblade : J.P. Bouquet, G. Ratiskol, D. Fouché, A. Leroy, F. Rivet, B. Rambaud. Un remerciement particulier est adressé à B. Beliaeff (IFREMER, Nantes) pour ses précieux conseils dans le traitement statistique des données.

BIBLIOGRAPHIE

- Aminot A., Chaussepied M., 1983. Manuel des analyses chimiques en milieu marin. CNEXO.
- Banse K., Falls C.P. and Hobson L.A., 1963. A gravimetric method for determining suspended matter in sea water using Millipore filters. *Deep Sea Res.* 10, 639–642.
- Bendschneider K. and Robinson R.J., 1952. A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in sea water. *J. Mar. Res.* 11, 87–96.
- Bougrier S., Masson D., Geairon P., Fouché D., Leroy A., Faury N., Ratiskol J., 1991. Métabolisme de l'huître *Crassostrea gigas* stockée dans des dégorgeoirs conchylicoles à différentes densités et saisons. *CIEM – Mariculture Committee* CM 1991/F : 55 Ref. K.
- Buisson D.H., Fletcher G.C., Begg C.W., 1981. Bacterial depuration of the Pacific oyster (*C. gigas*) in New Zealand. *New Zealand journal of Sciences.* Vol. 24 : 253–262.
- Cook D.W., 1984. Fate of enteric bacteria in estuarine sediments and oyster feces. *Journal of the Mississippi Academy of Sciences*, vol. 29.
- Circulaire du 21 Janvier 1960 relative aux méthodes d'analyses bactériologiques des eaux d'alimentation (J.O. du 15 mars 1960).
- De Man J.C., 1983. MPN tables. corrected. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 17. 301–305.
- Directive du Conseil des Communautés Européennes du 30.10.79 n° 79–923 CEE relative à la qualité des eaux conchylicoles.

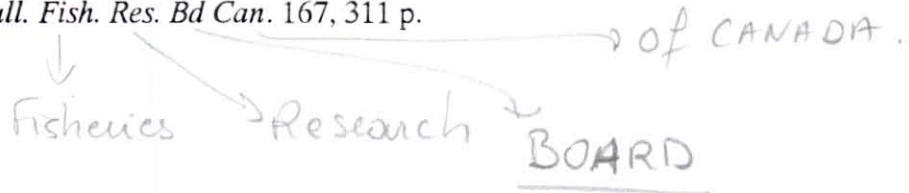
- Goggins P.L., 1964. Depuration in Marine p. 78-92. In : L.S. Houser (ed.). Fifth National Shellfish Sanitation Workshop.
- Haven S.H., Perkins F.O., Morales-Alamo R., Rhodes M.W., 1977. Coliform depuration of Chesapeake Bay oysters. *National Shellfish Sanitation Workshop*. Hunt Valley : 49-59.
- Jacobsen J.P. and Knudsen M., 1940. Urnormal 1937 or primary standard sea water 1937. *Int. Union Geodesy Geophys. Assoc. Phys. Occanogr. Publ. Sci* 7,38 p.
- Korofeff F., 1976. Determination of ammonia, p 126-133, in *Methods of sea water analysis*, K. Grasshoff (ed.). Verlag chemie, Weinsheim, RFA.
- Lessard E.J. and Sieburth J. McN, 1982. Survival of Natural sewage populations of Enteric bacteria in diffusion and batch chambers in the marine environment. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 45, n°3 : 950-959.
- Neveu J., 1973. Recherches sur la chlorophylle a et la pheophytine a. Thèse Université Paris VI, spécialité océanographie, mention biologie. 1-116.
- Pommepeuy M., Guillaud J.F., Martin Y., Dupray E., Derrien A., L'Yavanc J., Cormier M., 1990. Le devenir des bactéries en zone littorale. La mer et les rejets urbains. *Actes de Colloques n° 11* : 89-100.
- Plusquellec A., Beucher M., Prieur D., Le Gal Y., 1990. Contamination of the mussels, *Mytilus edulis* Linnaeus, 1758, by Enteric bacteria. *Journal of Shellfish Research*, Vol. 9, n°1 : 95-101.
- Prieur D., Mevel G., Nicolas J.L., Plusquellec A., Vigneulle M., 1990. Interactions between bivalve molluscs and bacteria in the marine environment. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.*, 28 : 277-352.
- Quayle D.B., Bernard F.R., 1976. Purification of basket-held Pacific oysters in the Natural environment. *Proceedings of the National Shellfisheries Association*. Vol. 66 : 69-75.
- Ratiskol J., Faury N., Masson D., 1992. Essais de contamination artificielle de l'eau de mer et des huîtres (*Crassostrea gigas*). A paraître.

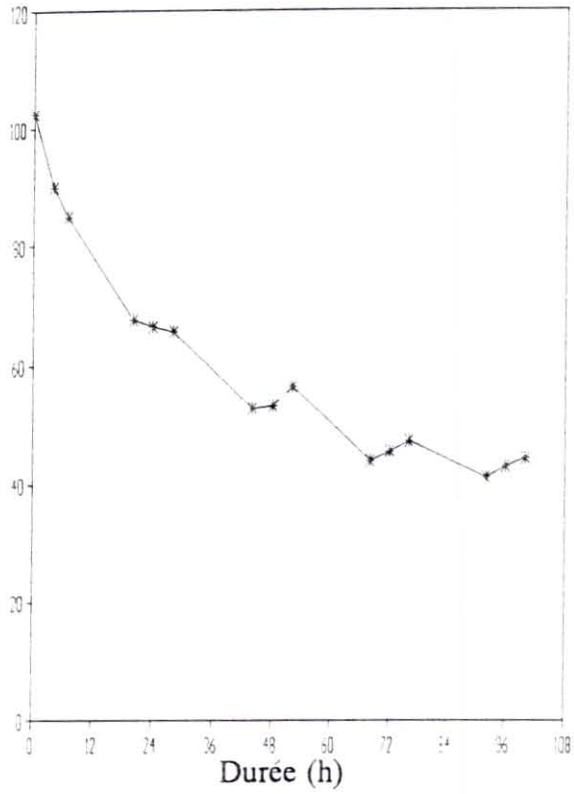
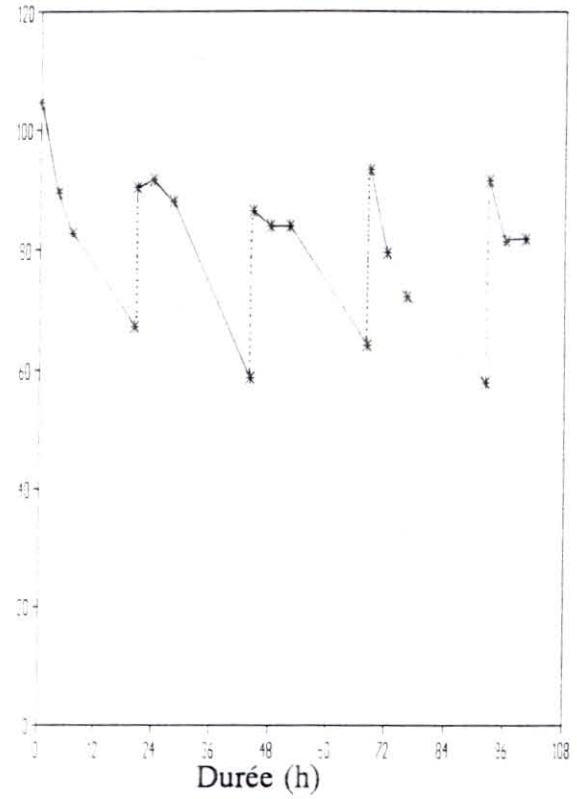
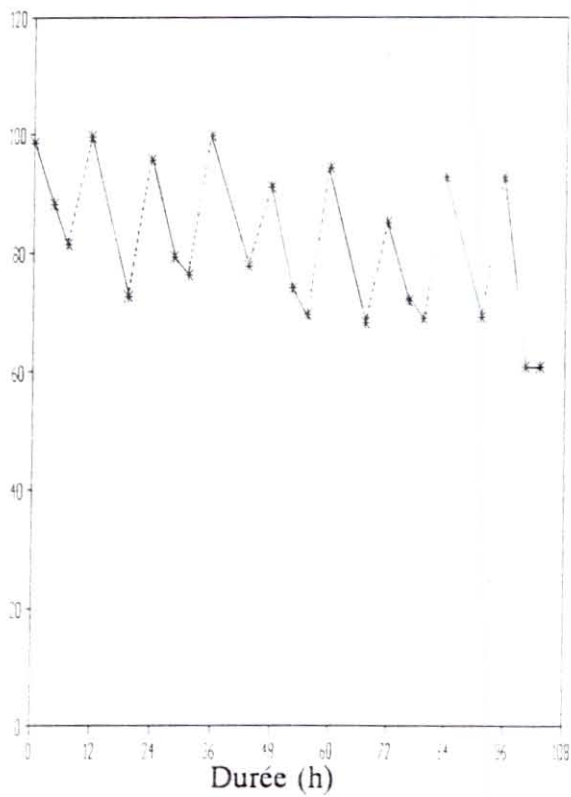
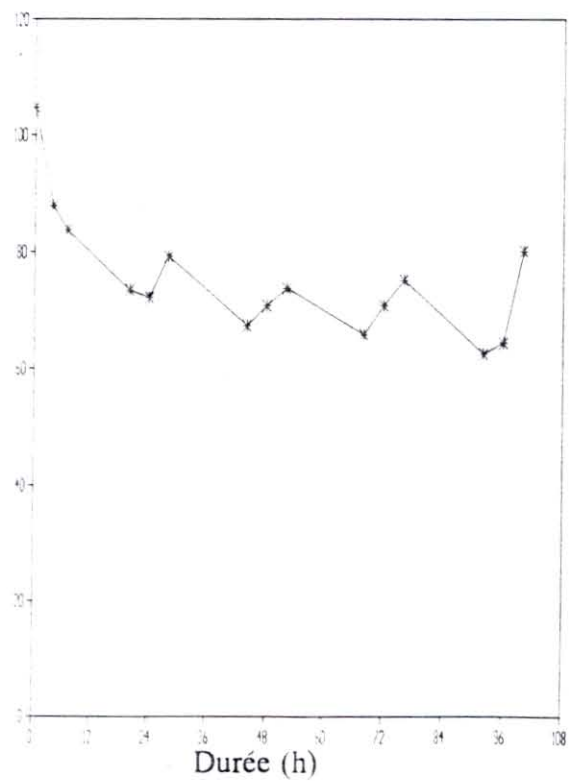
Rowse A.J., Fleet G.H., 1982. Variability and release of *Salmonella charity* and *Escherichia coli* from oyster feces. Applied and environmental microbiology, sept. pp. 544-548.

Souness R.A. and Fleet G.H., 1991. Bacterial agents in shellfish depuration. In : Molluscan shellfish depuration ed/ Ofwell, Rodrick and Martin.

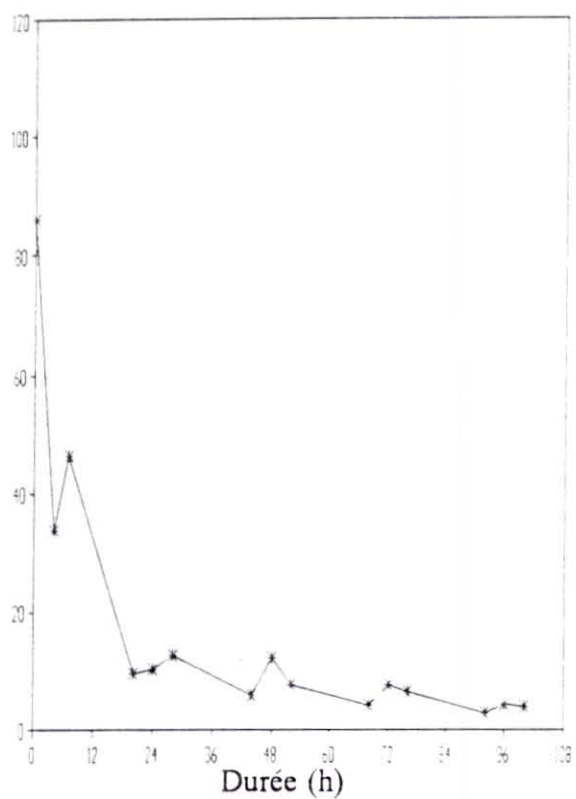
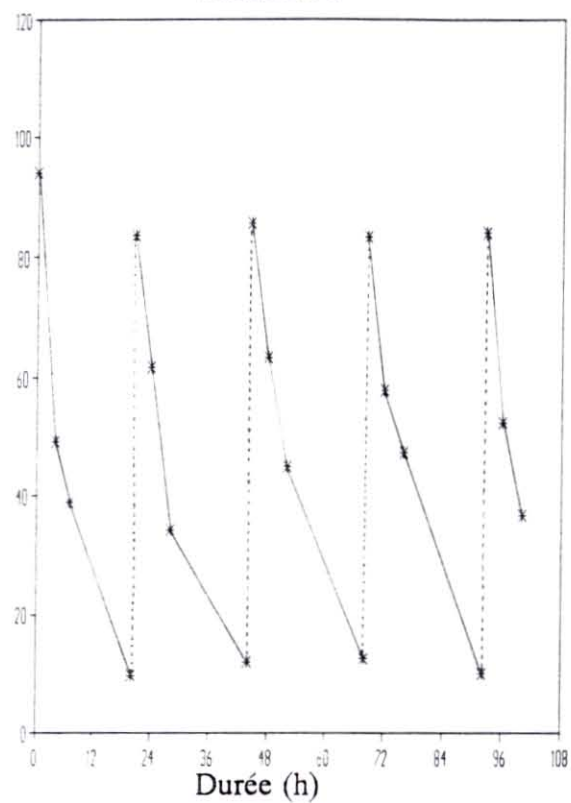
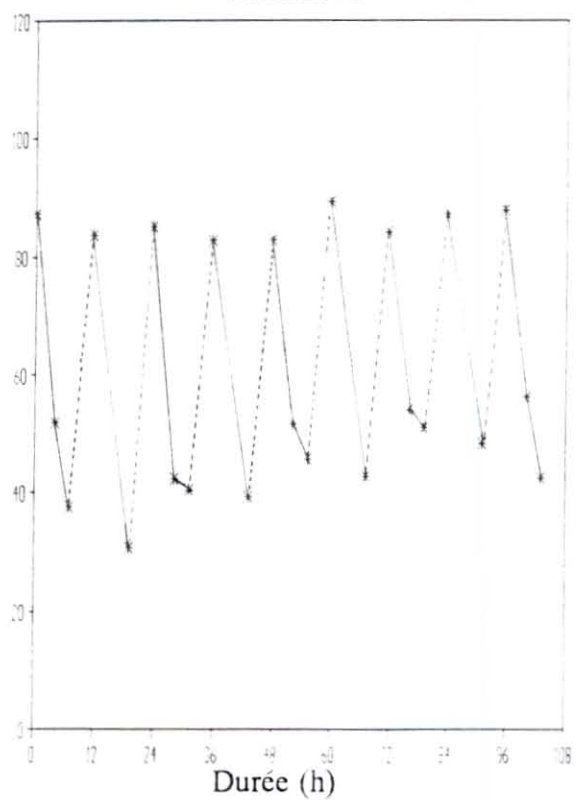
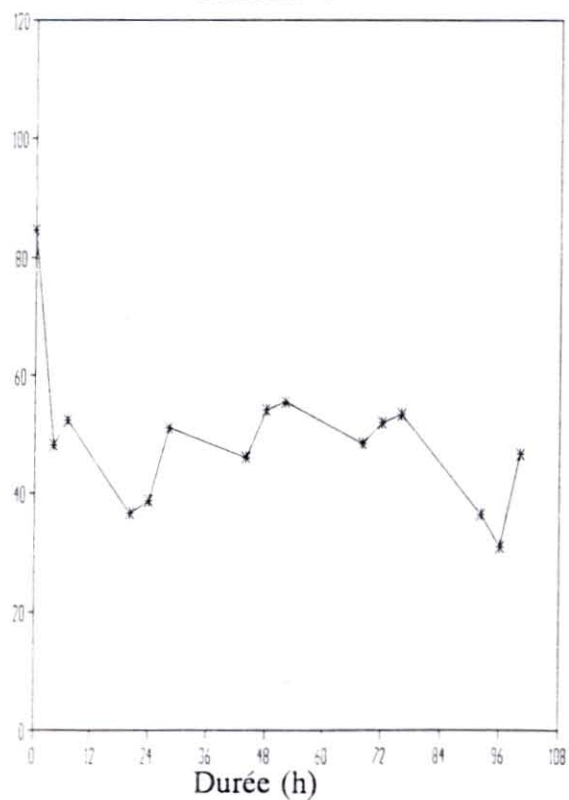
Wood E.D., Amstrong F.A.J. and Richards F.A., 1967. Détermination of nitrate in seawater by cadmium copper reduction to nitrite. *J. Mar. Bio. Ass. U.K.* 47, 23-31.

Winkler in Strickland J.D.H. and Parsons T.R., 1972. A practical handbook of sea water analysis. *Bull. Fish. Res. Bd Can.* 167, 311 p.

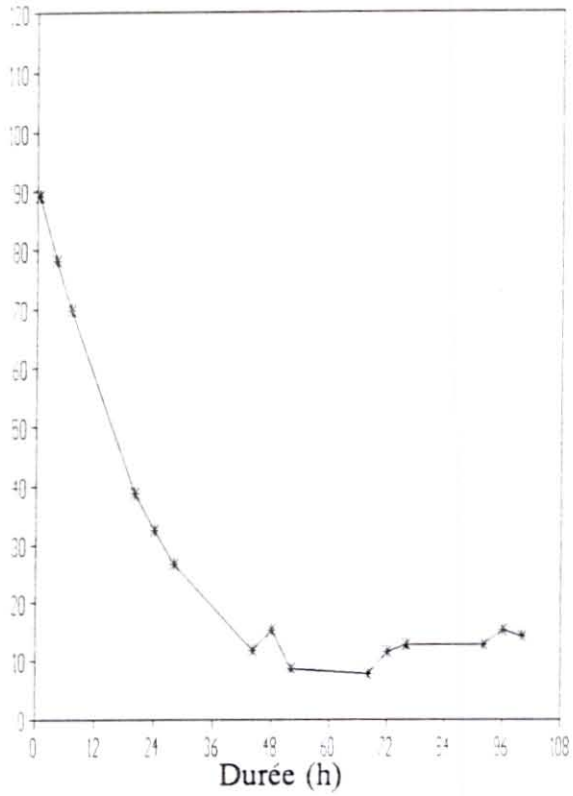
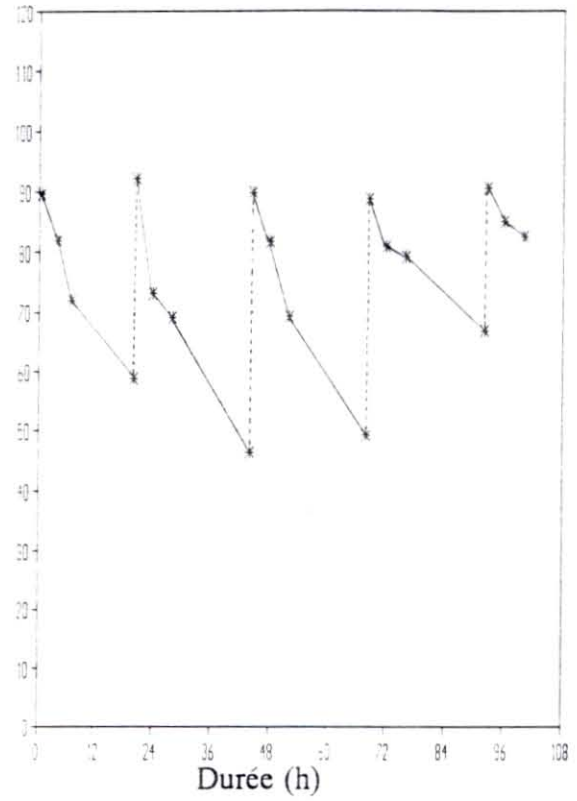
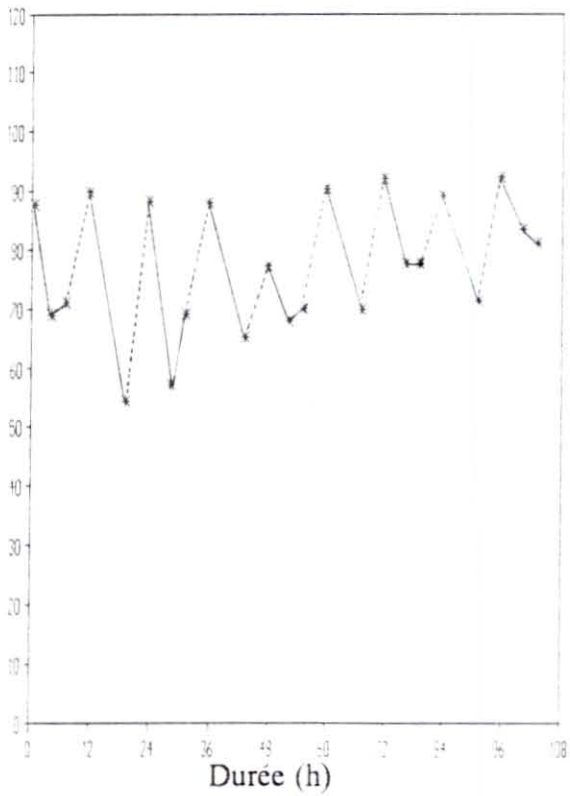
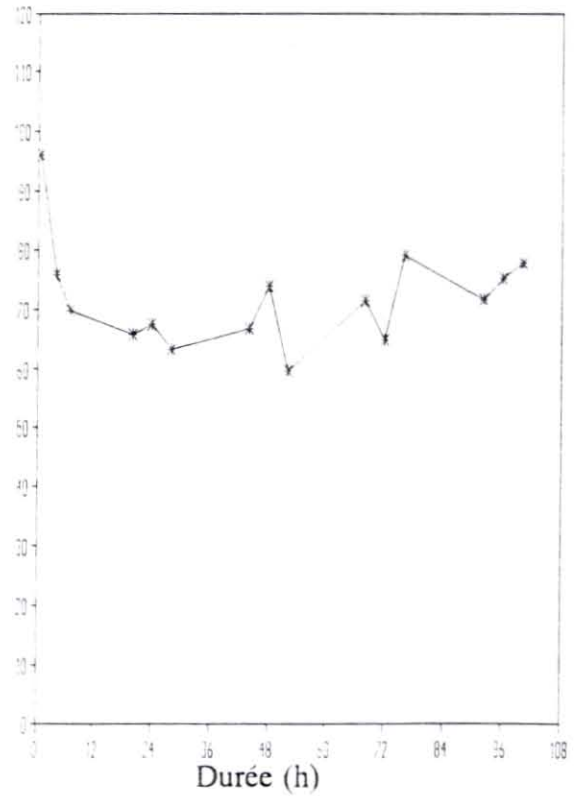


BASSIN 4**BASSIN 3****BASSIN 5****BASSIN 6**

ANNEXE 1: Saturation en Oxygène dissous (%) en Avril 1991 pour les 4 bassins .

BASSIN 4**BASSIN 3****BASSIN 5****BASSIN 6**

ANNEXE 2: Saturation en Oxygène dissous (%) en Juin 1991 pour les 4 bassins .

BASSIN 4**BASSIN 3****BASSIN 5****BASSIN 6**

ANNEXE 3: Saturation en Oxygène dissous (%) en Octobre 1991 pour les 4 bassins .

BASSIN	DUREE	UREE	NO2	NO3
BASSIN 3	0	0,58	0,27	15,38
	4	7,67	0,49	19,56
	7	2,73	0,33	14,94
	20	3,68	0,48	14,31
	20,5	1,4	0,53	11,94
	24	1,94	0,3	18,38
	28	2,83	0,37	14,26
	44	4,17	0,6	15,32
	44,5	2,84	0,34	15,35
	48	2,56	0,32	16,3
	52	2,77	0,41	26,24
	68	5,92	0,51	13,56
	68,5	2,64	0,25	9,13
	72	1,96	0,34	10,96
	76	3,67	0,37	10,52
	92	2,57	0,53	9,37
	92,5	0,68	0,23	7,11
96	1,73	0,28	7,33	
100	5,33	0,37	8,01	
BASSIN 4	0	0,48	0,26	13,96
	4	2,8	0,31	12,19
	7	2,67	0,39	13,43
	20	3,27	0,5	11,89
	24	4,42	0,54	19,29
	28	3,16	0,57	15,79
	44	5,41	0,94	19,64
	48	4,3	0,99	19,17
	52	13,57	1,03	20,21
	68	6,46	1,3	18,13
	72	4,93	1,44	18,49
	76	4,97	1,45	17,02
	92	4,18	1,76	20,37
	96	4,05	1,84	18,75
	100	5,74	1,88	18,13

ANNEXE 4 : Résultats des analyses d'urée ($\mu\text{mol/l}$), de nitrite ($\mu\text{mol/l}$) et de nitrate ($\mu\text{mol/l}$) dans les bassins n°3 et n°4 en avril 1991.

BASSIN	DUREE	UREE	NO2	NO3
BASSIN 5	0	0,45	0,26	12,49
	7	1,89	0,37	18,76
	11,5	1,07	0,25	9
	19	3	0,35	11,09
	23,5	3,83	0,29	13,65
	31	3,03	0,39	14,75
	35,5	1,39	0,3	16,58
	43	2,92	0,38	17,17
	47,5	0,88	0,33	21,18
	55	3,15	0,41	17,93
	59,5	0,71	0,3	10,33
	67	5,65	0,41	11,54
	71,5	0,88	0,26	9,22
	79	3,48	0,39	10,5
	83,5	0,76	0,28	8,51
	91	1,9	0,37	8,16
	95,5	0,63	0,26	5,98
103	3,85	0,39	8,46	
BASSIN 6	0	0,55	0,26	15,79
	4	2,39	0,27	13,58
	7	2,8	0,31	18,06
	20	2,79	0,4	18,89
	24	3,05	0,35	22,83
	28	2,76	0,4	24,66
	44	2,84	0,43	15,36
	48	2,45	0,41	22,44
	52	16,8	0,43	17,51
	68	3,39	0,45	12,11
	72	2,55	0,41	12,29
	76	2,68	0,43	8,88
	92	2,68	0,4	7,6
	96	2,93	0,4	7,31
	100	3,18	0,43	6,04

ANNEXE 5 : Résultats des analyses d'urée ($\mu\text{mol/l}$), de nitrite ($\mu\text{mol/l}$) et de nitrate ($\mu\text{mol/l}$) dans les bassins n°5 et n°6 en avril 1991.

BASSIN	DUREE	UREE	NO2	NO3
BASSIN 3	0	0,58	0,27	15,38
	4	7,67	0,49	19,56
	7	2,73	0,33	14,94
	20	3,68	0,48	14,31
	20,5	1,4	0,53	11,94
	24	1,94	0,3	18,38
	28	2,83	0,37	14,26
	44	4,17	0,6	15,32
	44,5	2,84	0,34	15,35
	48	2,56	0,32	16,3
	52	2,77	0,41	26,24
	68	5,92	0,51	13,56
	68,5	2,64	0,25	9,13
	72	1,96	0,34	10,96
	76	3,67	0,37	10,52
	92	2,57	0,53	9,37
	92,5	0,68	0,23	7,11
	96	1,73	0,28	7,33
100	5,33	0,37	8,01	
BASSIN 4	0	0,48	0,26	13,96
	4	2,8	0,31	12,19
	7	2,67	0,39	13,43
	20	3,27	0,5	11,89
	24	4,42	0,54	19,29
	28	3,16	0,57	15,79
	44	5,41	0,94	19,64
	48	4,3	0,99	19,17
	52	13,57	1,03	20,21
	68	6,46	1,3	18,13
	72	4,93	1,44	18,49
	76	4,97	1,45	17,02
	92	4,18	1,76	20,37
	96	4,05	1,84	18,75
	100	5,74	1,88	18,13

ANNEXE 6 : Résultats des analyses d'urée ($\mu\text{mol/l}$), de nitrite ($\mu\text{mol/l}$) et de nitrate ($\mu\text{mol/l}$) dans les bassins n°3 et n°4 en juin 1991.

BASSIN	DUREE	UREE	NO2	NO3
BASSIN 5	0	0,3	0,1	1,06
	7	4,17	0,33	4,28
	11,5	1,07	0,11	0,5
	19	2,26	0,12	1,04
	23,5	0	0,04	0,44
	31	5,24	0,27	1,17
	35,5	1,31	0,1	0,38
	43	4,4	0,09	3,97
	47,5	3,21	0,06	0,61
	55	2,86	0,16	1,16
	59,5	0,48	0,05	0,42
	67	2,5	0,28	1,48
	71,5	0,48	0,41	3,43
	79	4,52	0,04	0,91
	83,5	0,71	0,13	2,53
	91	2,26	0,2	2,29
	95,5	3,62	0,1	3,91
103	2,38	0,17	1,66	
BASSIN 6	0	0,38	0,1	3,11
	4	0,5	0,55	0,76
	7	4,65	0,1	1,83
	20	0	0,16	1,08
	24	4,05	0,16	1,34
	28	5,95	0,23	5,28
	44	3,45	0,28	3,71
	48	3,09	0,3	4,5
	52	2,74	0,26	2,72
	68	1,78	0,43	2,28
	72	3,21	0,32	1,72
	76	3,21	0,18	0,93
	92	3,57	0,14	3,6
	96	6,43	0,18	1,26
	100	3,92	0,27	2,89

ANNEXE 7 : Résultats des analyses d'urée ($\mu\text{mol/l}$), de nitrite ($\mu\text{mol/l}$) et de nitrate ($\mu\text{mol/l}$) dans les bassins n°5 et n°6 en juin 1991.

BASSIN	DUREE	UREE	NO2	NO3
BASSIN 3	0,5	1,09	0,24	5,5
	4	2,25	0,32	2,39
	7	2,75	0,38	2,36
	20	6,47	0,7	10,54
	20,5	1,65	0,05	0,54
	24	1,52	0,27	0,62
	28	2,38	0,22	1,26
	44	4,09	0,65	1,95
	44,5	0,95	0,06	0,45
	48	2,3	0,1	0,89
	52	4,38	0,27	0,77
	68	4,42	0,56	2,2
	68,5	1,42	0,38	4,4
	72	2,21	0,46	4,63
	76	2,81	0,53	4,59
	92	1,7	0,91	7,5
	92,5	0,36	0,33	3,57
96	1,59	0,39	3,88	
100	2,56	0,47	3,42	
BASSIN 4	0,5	1,26	0,24	1,75
	4	2,6	0,54	3,26
	7	3,35	0,46	2,9
	20	5,48	0,7	6,18
	24	4,81	0,85	4,55
	28	5,21	1	5,26
	44	6,23	1,62	7,25
	48	6,25	1,08	3,66
	52	6,07	1,55	6,61
	68	5,6	1,71	5,54
	72	5,21	1,78	5,73
	76	4,28	1,22	3,33
	92	4,67	2,85	8,93
	96	4,81	2,38	7,1
	100	4,72	2,58	7,18

ANNEXE 8 : Résultats des analyses d'urée ($\mu\text{mol/l}$), de nitrite ($\mu\text{mol/l}$) et de nitrate ($\mu\text{mol/l}$) dans les bassins n°3 et n°4 en octobre 1991.

BASSIN	DUREE	UREE	NO2	NO3
BASSIN 5	0,5	0,26	0,32	2,81
	7	3,03	0,4	1,98
	11,5	3,07	0,18	2,8
	19	4,36	0,23	4,5
	23,5	1,23	0,13	0,71
	31	2,11	0,36	1,12
	35,5	1,57	0,19	0,58
	43	3,23	0,26	1,4
	47,5	2,18	0,21	0,98
	55	2,89	0,23	1,38
	59,5	3,02	0,49	3,33
	67	2,47	0,56	3,7
	71,5	3,63	0,44	5,11
	79	3,36	0,66	5,05
	83,5	1,31	0,45	3,79
	91	1,43	0,53	4,64
	95,5	1,01	0,39	6,93
103	1,63	0,63	5,6	
BASSIN 6	0.5	0,82	0,23	1,88
	4	1,88	0,28	0,94
	7	2,44	0,34	0,85
	20	1,52	0,44	2,86
	24	1,95	0,38	2,56
	28	2,23	0,49	4,06
	44	2,37	0,7	6,48
	48	3,03	0,63	4,78
	52	2,38	0,65	6,13
	68	1,68	0,59	4,86
	72	2,4	0,55	3,68
	76	2,35	0,57	5,21
	92	1,53	0,46	3,21
	96	2,17	0,4	3,39
	100	2,33	0,43	2,42

ANNEXE 9 : Résultats des analyses d'urée ($\mu\text{mol/l}$), de nitrite ($\mu\text{mol/l}$) et de nitrate ($\mu\text{mol/l}$) dans les bassins n°5 et n°6 en octobre 1991.