

**INSTITUT PASTEUR DE LILLE**

**LABORATOIRE LITTORAL**

**59820 Gravelines**

**INFLUENCE DES REJETS DE PISCICULTURE MARINE SUR LES MOLLUSQUES :  
POPULATIONS DE VIBRIONS DANS LES COQUILLAGES DU SITE AQUACOLE  
DE GRAVELINES**

**(janvier 1995 à décembre 1995)**

***DELESMONT R. & DELESMONT E.***

**IFREMER Bibliothèque de BREST**



**0EL07767**

*Janvier 1996*



**Contrat IFREMER n° 94.2.450406/DEL Brest**

IFREMER - Centre de Brest  
B.P. 70  
29280 PLOUZANE  
Tél. 98.22.40.40 - Télex 940 627  
Télécopie 98.22.45.45

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

SERVICE AVIS ET AMENAGEMENT

AUTEUR(S) :  DELESMONT R. & E. DELESMONT Institut Pasteur de Lille, Lab. Littoral Gravelines	CODE :  N°
TITRE : <b>Influence des rejets de pisciculture marine sur les mollusques : populations de vibrions dans les coquillages proches du site aquacole de Gravelines (janv.-déc. 1995)</b>	Date : janvier 1996  Nb tirages :
	Nb pages : 28 Nb figures : 28 Nb photos :
CONTRAT (intitulé) : idem  N° IFREMER 94.2.450406 DEL Brest	DIFFUSION : Libre <input checked="" type="checkbox"/> Restreinte <input type="checkbox"/> Confidentielle <input type="checkbox"/>

RESUME :

La présente étude, qui couvre l'année 1995, vise à préciser l'influence des modifications de la microflore des vibrions sur les gisements de coquillages proches de Gravelines. Elle s'appuie sur les suivis déjà en place et réalise des mesures complémentaires sur l'eau et les coquillages, à la fois sur le trajet des eaux concernant la ferme (moules et huîtres immergées en poches) et le milieu extérieur proche.

En effet, les vibrions présents dans le milieu marin sont susceptibles de se multiplier avec l'élévation de la température. L'observation de ce phénomène est vérifiée à Gravelines et fait partie des programmes de surveillance écologique de la centrale électro-nucléaire et du centre aquacole. Ce dernier produit du bar et de la daurade (plus de 1000 t en 1994) en utilisant l'eau réchauffée de l'usine.

Sur le plan méthodologique, l'isolement direct sur TCBS se révèle très intéressant pour la recherche des espèces de vibrions présentes dans l'eau et les coquillages. Les méthodes en milieu liquide donnent des rendements supérieurs mais sont très sensibles à la durée d'incubation, ce qui rend leur emploi délicat.

Les résultats montrent que les vibrions sont concentrés par les mollusques de façon globalement comparable aux coliformes fécaux régulièrement surveillés. Le site de Gravelines influence le gisement proche de moules de Loon Plage sous l'action des courants. Les modifications observées dans la composition de la microflore des vibrions à Gravelines sont partiellement retrouvées sur ce gisement. -

Mots-clés : Vibrions, pisciculture marine, centrale électro-nucléaire, coquillages

INSTITUT PASTEUR DE LILLE

LABORATOIRE LITTORAL

59820 GRAVELINES

Influence des rejets de pisciculture marine sur les mollusques:

populations de vibrions dans les coquillages proches du site aquacole

de Gravelines

- (janvier 1995 à décembre 1995) -

RAPPORT

DELESMONT r. & DELESMONT e.

## Introduction

Depuis le début des études d' avant projet de la centrale de Gravelines, les vibrions ont fait l' objet d' une attention particulière. En effet la centrale électrique utilise de grandes quantités d' eau de mer pour refroidir ses condenseurs. Les vibrions sont des bactéries adaptées au milieu marin susceptibles de se multiplier dans les eaux réchauffées. Ce phénomène est observé à Gravelines depuis la mise en service des installations. *Vibrio alginolyticus* est alors la seule espèce observée.

Le développement du site s' est poursuivi par l' installation d' une aquaculture utilisant les eaux chaudes pour l' élevage de bars et de daurades. Après une phase expérimentale qui a débuté en 1984, les installations sont maintenant très développées avec une production qui dépasse 1000 tonnes par an.

Parallèlement à cette évolution du site, d' autres espèces de vibrions que *V. alginolyticus* ont été isolées de plus en plus fréquemment.

Actuellement deux programmes de surveillance écologique sont en place sur le site:

- Surveillance de la centrale électrique comprenant le dénombrement hebdomadaire des vibrions avec quantification des espèces au rejet et à la prise d' eau de la centrale. Deux campagnes annuelles sont réalisées en mer avec chacune deux points de mesure (référence et panache de rejet)

- Surveillance de l' aquaculture avec des mesures mensuelles de vibrions au rejet de l' aquaculture et dans les alimentations en eau de mer (chaude et froide). Des recherches complémentaires sont réalisées trimestriellement sur trois gisements de coquillages proches et, durant l' été, mensuellement sur trois baignades de façon à estimer l' impact de ces rejets sur ces zones d' utilisation du milieu marin.

Dates	Centrale EdF	Surveillance centrale	Aquaculture	Surveillance aqua.
1976		Etudes d' avant projet (point zero et études sur pilote)		
1979				
1980	Mise en service Tr 1 & 2	Prog. hebdomadaire		
1981	Mise en service Tr 3 & 4			
1984			Ferme expérimentale	Prog. mensuel
1985	Mise en service Tr 5 & 6			
1988		(1987 Prise et Rejet) (Révision)		
1991			Ferme actuelle	
1992			(1 tr. en 91, 1 en 92)	Prog. mensuel
1994		(Révision)		

Fig. 1. Calendrier des études de surveillance

Cette étude vise à préciser l' influence des modifications de la microflore des vibrions à Gravelines sur les gisements de coquillages proches. Les mesures réalisées dans le cadre du programme à la charge des aquaculteurs ne pouvant donner que des indications en raison du nombre limité de prélèvements.

Ce travail a également été l' occasion de réaliser des essais méthodologiques car le seul texte officiel disponible est actuellement la norme NF V 45 111 qui ne s' intéresse qu' au critère présence/absence de vibron dans un échantillon.

### Réalisation des travaux :

station	N° carte et plan	eau	coquillage	période
Prise d' eau Centrale	1			semaine
Prise d' eau Centrale	1		moules	mois
Rejet Centrale	2			semaine
Ferme eau froide	3			mois (sauf hiver)
Ferme eau chaude	4			mois
Aquaculture rejet	5		moules	mois
Aquaculture rejet	5		huîtres	trimestre
Référence Oye Plage puis Marck	6		moules*	mois
Avant Port Ouest	7		coques*	mois
Loon plage	8		moules*	mois
Petit Fort Philippe	9			trimestre

non mesuré    
  surveillance existante  
 mesures créées ou renforcées (\*) pour l' étude

Fig. 2. Points de mesure et calendrier

**Points de mesures et programme de prélèvement :**

Les mesures réalisées dans le cadre de cette étude s'appuient sur les deux programmes de surveillance en place sur le site. Des mesures complémentaires sont réalisées sur l'eau et les coquillages. Au rejet de l'aquaculture, juste avant mélange avec les eaux du rejet de la centrale, des coquillages (moules et huîtres) ont été installés dans des poches en grillage plastique.

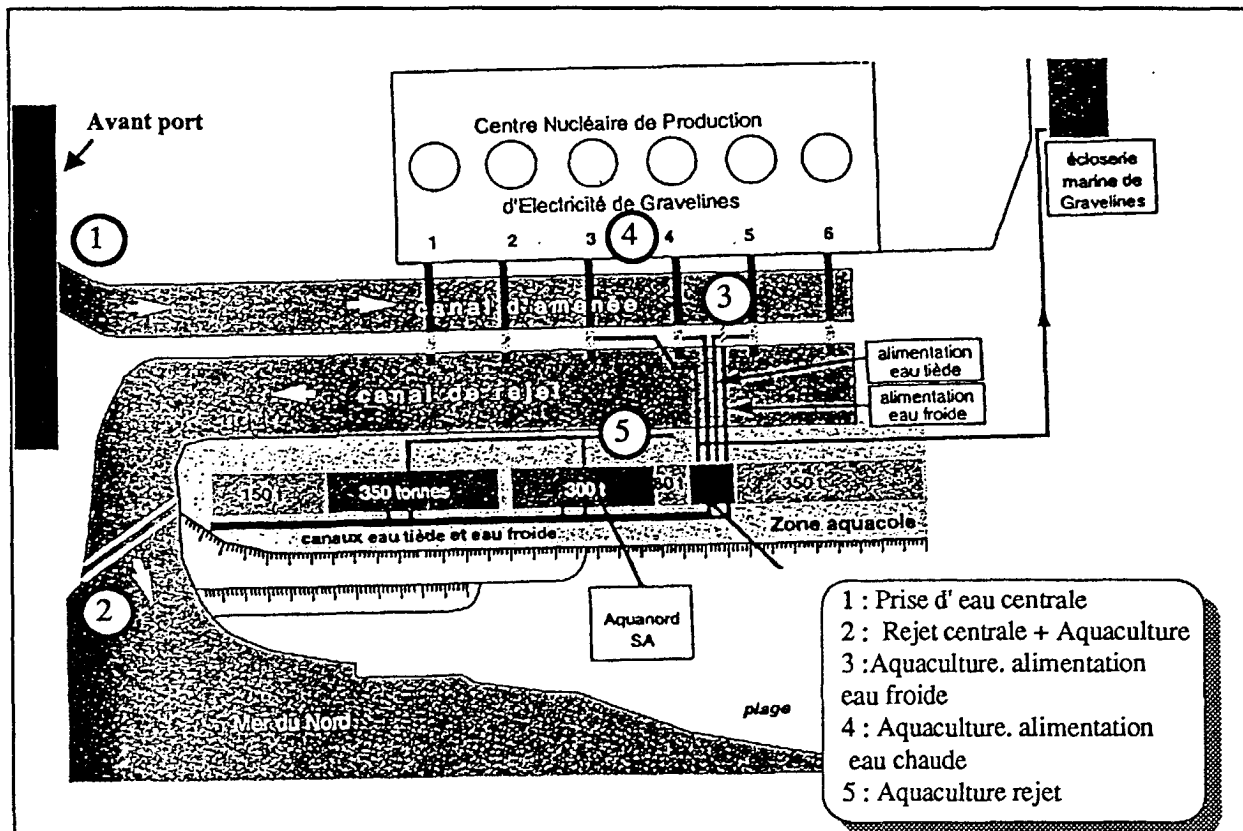


Fig. 3. Gravelines. Plan de la centrale EdF et du centre aquacole

La première campagne de mesure ayant montré une grande diversité des vibriens isolés à Oye Plage "Les Hemmes" le point de mesure a été éloigné de quelques kilomètres vers l'est à Marck pour échapper à une influence éventuelle de la zone de Gravelines bien que les thermographies réalisées ne montraient pas d'influence de la centrale sur cette zone.

Les courants de marée devant Dunkerque sont figurés ci-contre. Ils sont bien entendu moins forts à la côte.

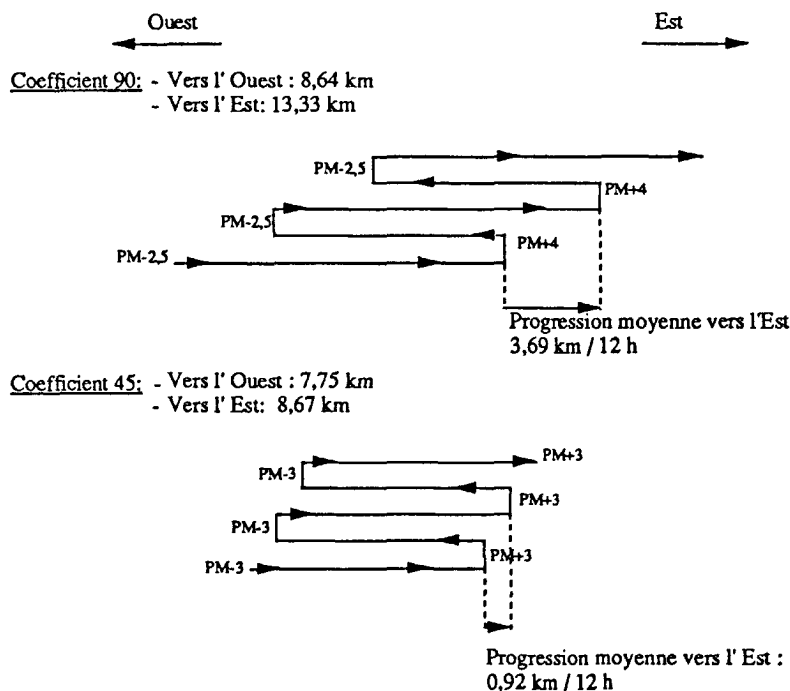


Fig. 4. Gravelines. Schéma des courants devant Dunkerque

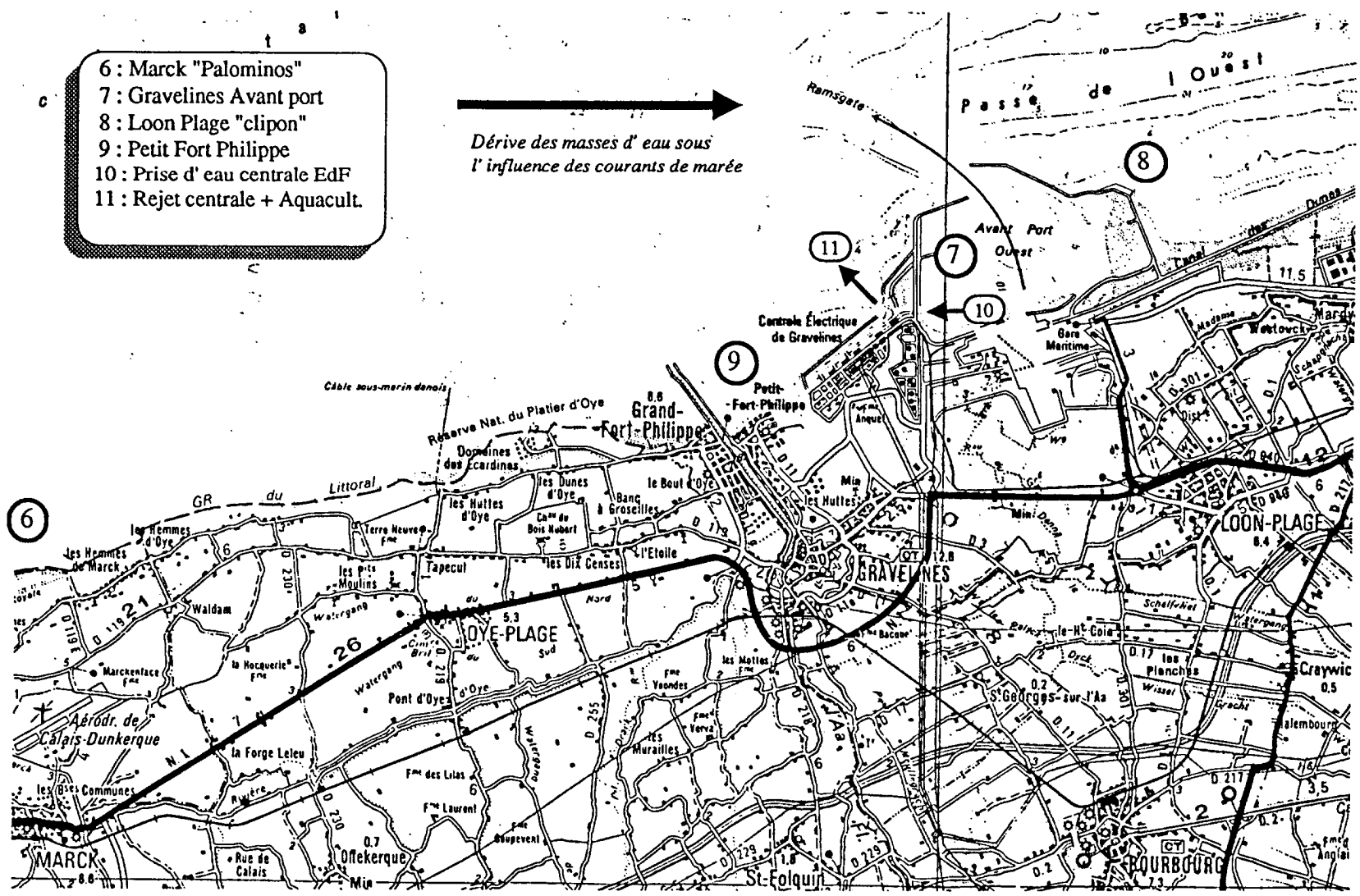


Fig. 5. Carte des gisements de coquillages extérieurs au site de Gravelines

## Méthodes

### Pour les eaux marines ou saumâtres présentant une faible teneur en matières en suspension:

- Filtration sur membrane et ensemencement
  - remettre l'échantillon en suspension par une agitation vigoureuse
  - filtrer sur une membrane stérile un volume d'échantillon choisi de façon que le nombre de colonies après incubation soit compris entre 30 et 100 sur une des dilutions (dilution décimale de 1 litre à 1 ml (-3)), déposer la membrane sur le milieu TCBS, (pour les dilutions ne nécessitant qu'un volume de 0,1 ml il est possible d'étaler directement sur TCBS).
- Incubation
 

Retourner les boîtes ainsi préparées et les placer dans l'étuve thermostatée à  $37^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  pour 18 à 24 heures.
- Dénombrement et repérage des colonies développées à  $37^{\circ}$  sur les boîtes de gélose TCBS
- Isolement des colonies sur TCBS
- Réalisation des tests présomptifs en vue de la confirmation biochimique
- Confirmation au moyen des essais biochimiques
- Confirmation par agglutination pour les souches présomptives de *Vibrio cholerae*
- Résultats : en germes par litre

### Pour les eaux marines ou saumâtres présentant une forte teneur en matières en suspension ou les broyats de coquillages:

- Préparation des coquillages
 

L'analyse des coquillages doit porter sur un nombre d'individus tel que le volume minimal de chair et de liquide intervalvaire soumis à l'analyse soit d'environ 50 g.

  - Laver et brosser chaque coquillage sous courant d'eau du robinet, en insistant au niveau de la charnière ou du point d'ouverture.
  - Egoutter et aseptiser le point d'ouverture par exposition brève à la flamme.
  - Ouvrir la coquille à l'aide d'instruments stérilisés par flambage à l'éthanol. S'il y a présence d'un byssus, le couper aux ciseaux avant l'ouverture (ne pas l'arracher), au fur et à mesure des ouvertures successives, recueillir des eaux intervalvaires et la chair dans un récipient stérile.
  - Vérifier par pesée que le récipient contient environ 50 g de chair + liquide intervalvaire et ajouter le même poids de diluant à coquillage.
  - Broyer à l'aide d'un homogénéisateur rotatif.

On obtient une suspension au 1/2 prête à l'analyse.
- Ensemencement du broyat ou de l'eau turbide:
 

Immédiatement après remise en suspension, sur bouillon BTB d'Akiyama selon la méthode NPP 3 tubes (10 ml à 10<sup>-3</sup> ml). De plus grandes dilutions sont réalisées si l'échantillon est susceptible d'être très contaminé.

Incubation 18 à 24 heures à  $37^{\circ}\text{C}$ .

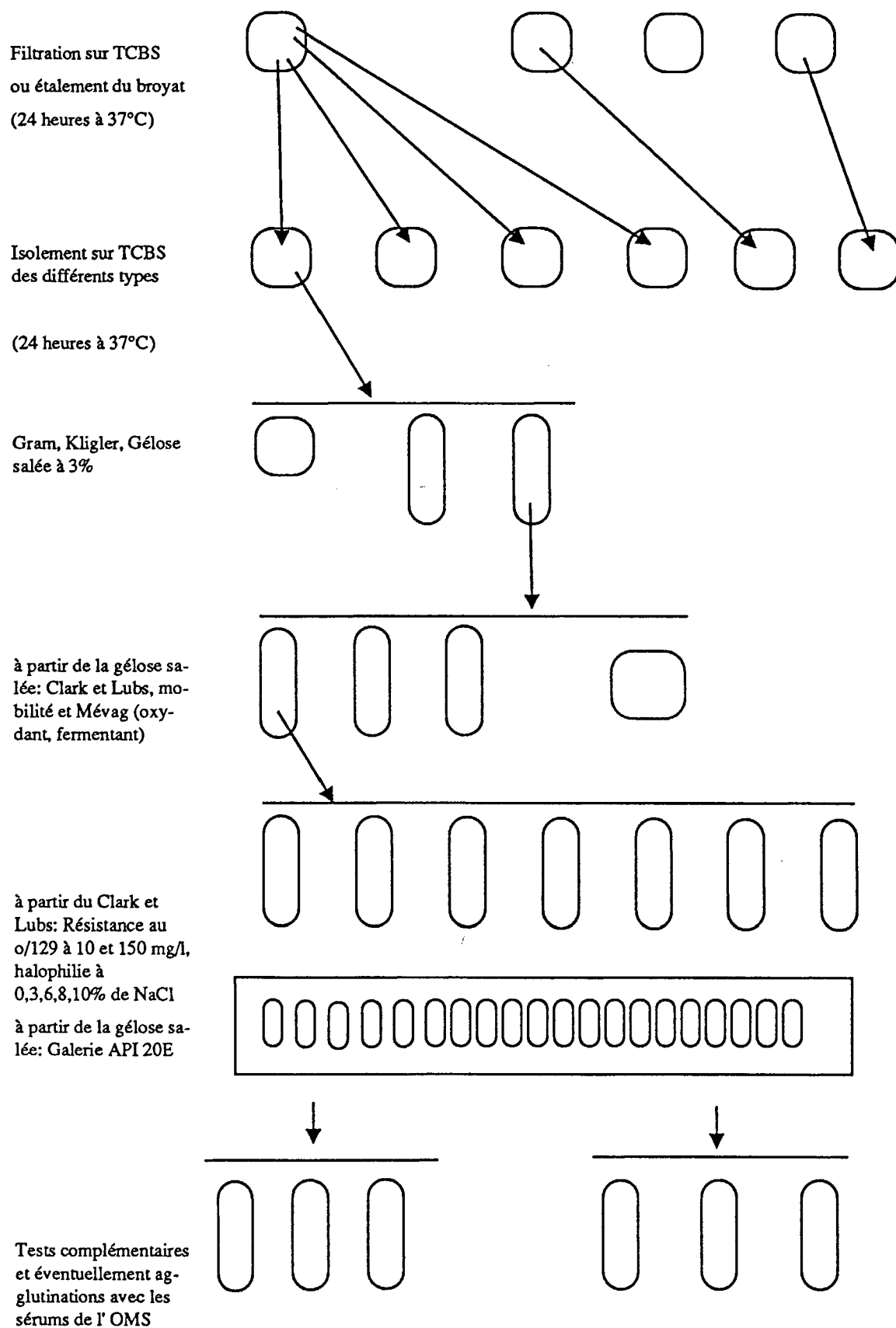
  - Repiquage des tubes d'Akiyama dès le virage de l'indicateur de pH du vert au jaune sur gélose TCBS. Nous avons procédé à ces repiquages au bout de 6 et 17 heures.
  - Dénombrement et repérage des colonies typiques développées à  $37^{\circ}\text{C}$  et identification comme pour la méthode par filtration directe sur TCBS.

- Résultats : ils sont exprimés en germes par litre d'eau ou de chair et liquide intervalvaire en considérant que tout tube ayant conduit à isoler une souche d'une espèce donnée est considéré comme positif pour cette espèce.

La concentration en cette espèce est déterminé par la méthode NPP. La somme des résultats par espèces fournit la concentration en vibrions totaux.

*Remarque: pour les calculs, les résultats inférieurs aux seuils de détection ont été remplacés par la moitié de ce seuil.*

### Schéma d'analyse des vibrions de l'eau:





## Essais méthodologiques:

Depuis 1976, nous avons utilisé pour le dénombrement des vibrions une méthode d'enrichissement en milieu liquide utilisant le bouillon BTB d'Akiyama décrit pour l'isolement de *Vibrio alginolyticus* et *Vibrio parahaemolyticus*.

Depuis plusieurs années, devant l'isolement de plus en plus fréquent de souches d'autres espèces de vibrions, nous avons abandonné cette technique pour l'analyse de l'eau au profit de la méthode par filtration sur membrane et incubation sur gélose TCBS. De nombreux essais de comparaison des deux méthodes ont été réalisés; ils ont montré que cette nouvelle méthode avait un rendement légèrement moindre (de 0 à 1 unité log) que la méthode en milieu liquide. Par contre la méthode par filtration a le grand avantage de donner une image plus exacte de la distribution des espèces de vibrions dans l'échantillon analysé. En effet, dans les tubes d'enrichissement en milieu liquide, une seule souche bactérienne est généralement sélectionnée ce qui tend à masquer les espèces minoritaires.

Pour l'analyse des coquillages, nous avons conservé la méthode par milieu liquide en raison de la non filtrabilité des broyats de coquillages. Pour cette étude, nous avons entrepris des comparaisons entre le bouillon BTB et l'eau peptonée salée alcaline (NFV 45 111). La méthode par isolement direct sur gélose TCBS a également été utilisée par analogie avec l'eau. En l'absence de filtration, on est obligé de procéder à des étalements en surface. Le seuil de détection a été abaissé à 200 pour 100 ml par 5 étalements de 0,2 ml sur gélose TCBS.

Lors des premières campagnes mensuelles, la méthode d'étalement sur TCBS pour l'analyse des coquillages a fourni des résultats intéressants en ce qui concerne la diversité des vibrions isolés. Cette méthode a alors été conservée pour l'ensemble des sites étudiés. La comparaison des trois méthodes s'est poursuivie avec les coquillages du rejet aquacole.

### Comparaison de trois méthodes sur les moules du rejet aquacole

Les concentrations en vibrions sont élevées toute l'année ce qui permet des comparaisons sur des chiffres significatifs.

Les comparaisons basées sur la moyenne géométrique des 12 dénombrements mensuels réalisés sont favorables à l'isolement direct sur TCBS en ce qui concerne le nombre total de vibrions dans les moules. Les méthodes en milieu liquide donnent des rendements un peu plus faibles que le TCBS (80%). Les moyennes sont cependant dans la même unité logarithmique.

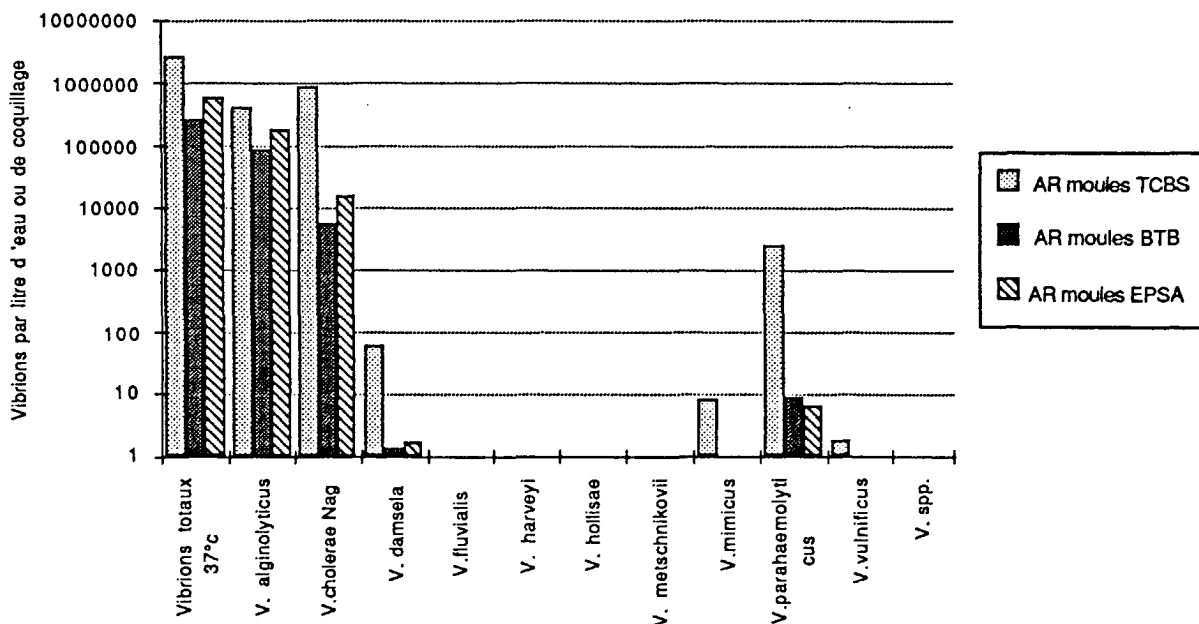


Fig. 6. Rejet aquaculture - moules - comparaison de trois méthodes d'analyse

En ce qui concerne le recouvrement des diverses espèces de vibrions, la méthode sur TCBS apparaît comme supérieure aux méthodes en milieu liquide qui ne permettent pratiquement que l'isolement de deux espèces.

Sur le plan pratique, les méthodes en milieu liquide imposent des contraintes impératives en matière de temps d'incubation. En effet les résultats ont été obtenus après 7 heures d'incubation comme le veut la norme, mais également après 24 heures d'incubation car certains tubes ne sont pas encore positifs après 7 heures. Certains tubes positifs au bout de 7 heures ne permettent plus d'isoler de vibrions après 24 heures d'incubation.

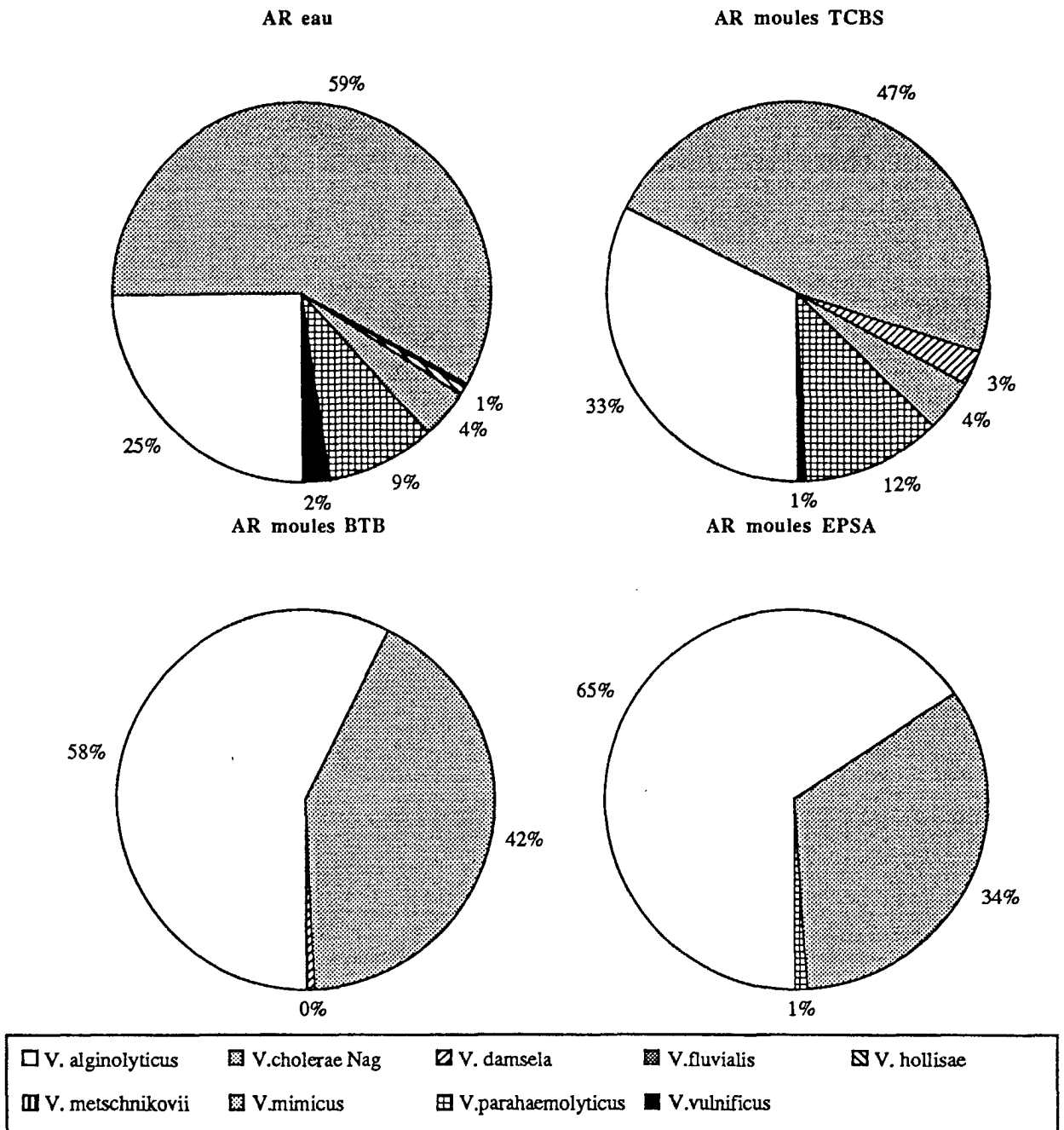


Fig. 7. Rejet aquaculture - moules - distribution des espèces de vibrions

#### Comparaison de trois méthodes sur les huîtres du rejet aquacole

Des huîtres provenant de Gravelines ont été mises également dans le rejet de la ferme aquacole. Cinq séries de dénombrement de vibrions ont été réalisées en 1995 avec les trois méthodes décrites précédemment. Sur le plan quantitatif, les milieux liquides, et surtout l'eau peptonée alcaline, fournissent des

nombre plus élevés. Le facteur de concentration des vibrions entre l'eau et les huîtres varie de 0,4 à 8 fois selon la méthode utilisée. Cette conclusion mériterait cependant des vérifications en raison du petit nombre de mesures réalisées. Sur le plan qualitatif, Les résultats sont comparables à ceux obtenus avec les moules: la plus grande diversité est obtenue par la méthode d'isolement direct sur TCBS.

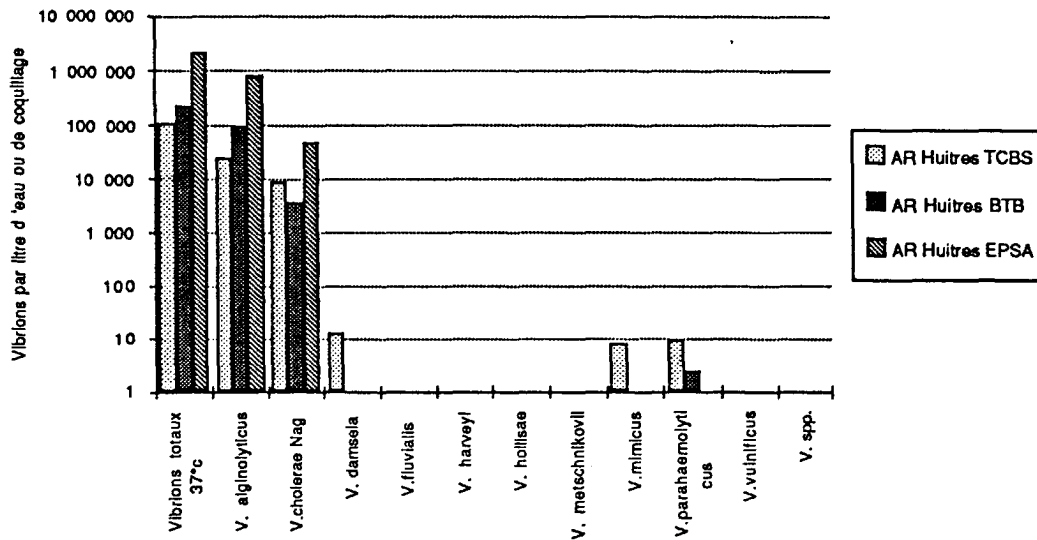


Fig. 8. Rejet aquaculture - huîtres - comparaison de trois méthodes d'analyse

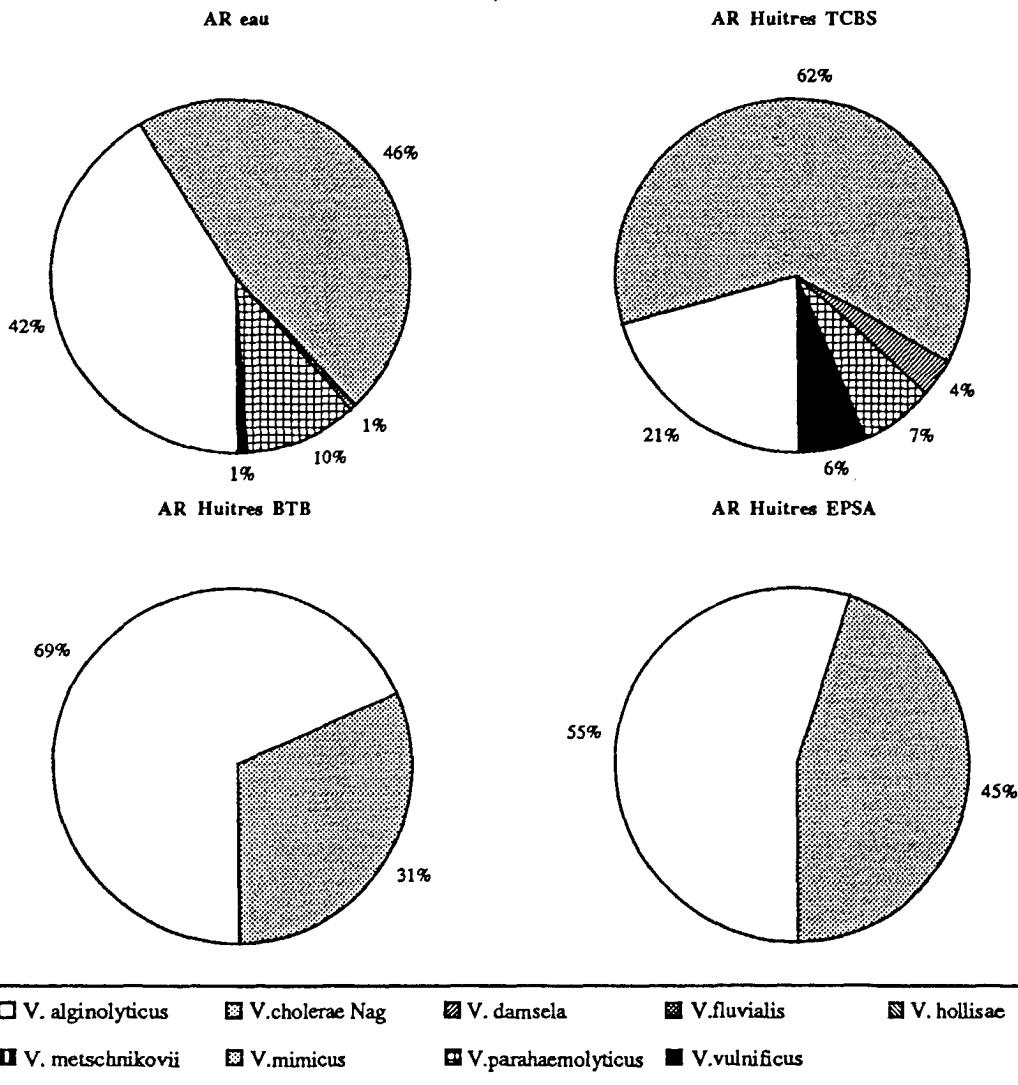


Fig. 9. Rejet aquaculture - huîtres - distribution des espèces de vibrions

Résultats

Aspect quantitatif

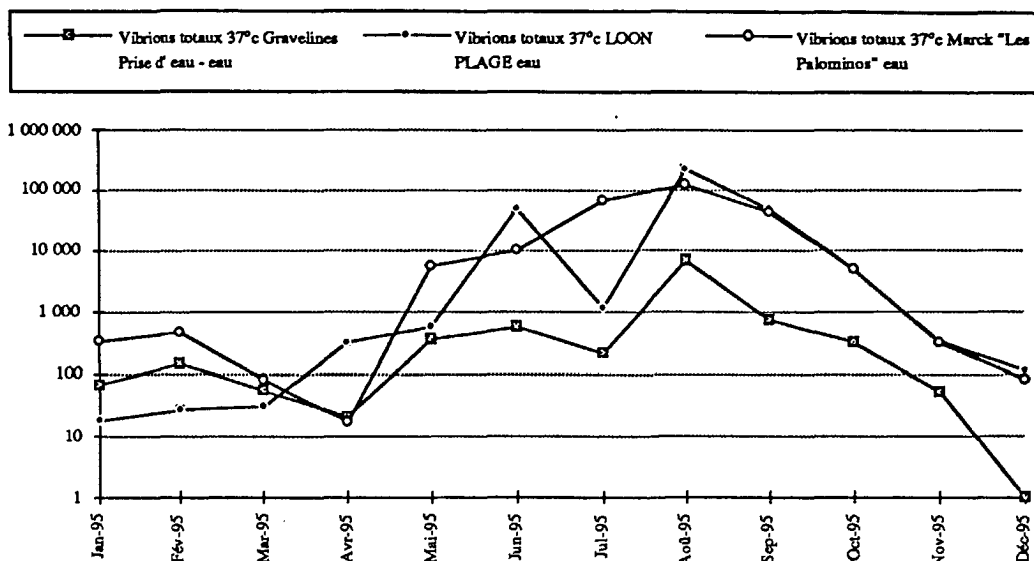


Fig. 10. Concentrations en vibrions par litre dans l' eau de trois sites non réchauffés

Les vibrions ont été retrouvés en toutes saisons sur tous les échantillons d' eau analysés (sauf un). On observe pour l' ensemble des points, un cycle d' abondance annuel très fortement lié à la température de l' eau. Pour l' ensemble des mesures réalisées, on observe la relation:

$$\log(\text{Vibrions/litre eau}) = 0,267 (\text{Temp eau } ^\circ\text{C}) - 0,724 \quad (r^2 = 0,707 \text{ pour } 48 \text{ valeurs})$$

D' après l' équation de cette droite, les vibrions ne sont pas détectables dans l' eau au seuil de 1/litre en dessous d' une température de 2,7 °C; durant l' étude, la température minimale relevée est de 7,1 °C.

Les valeurs sont moins élevées à la prise d' eau de la centrale de Gravelines qu' aux autres points non échauffés car le pompage de la centrale entraîne en ce point des eaux du large moins riches en vibrions.

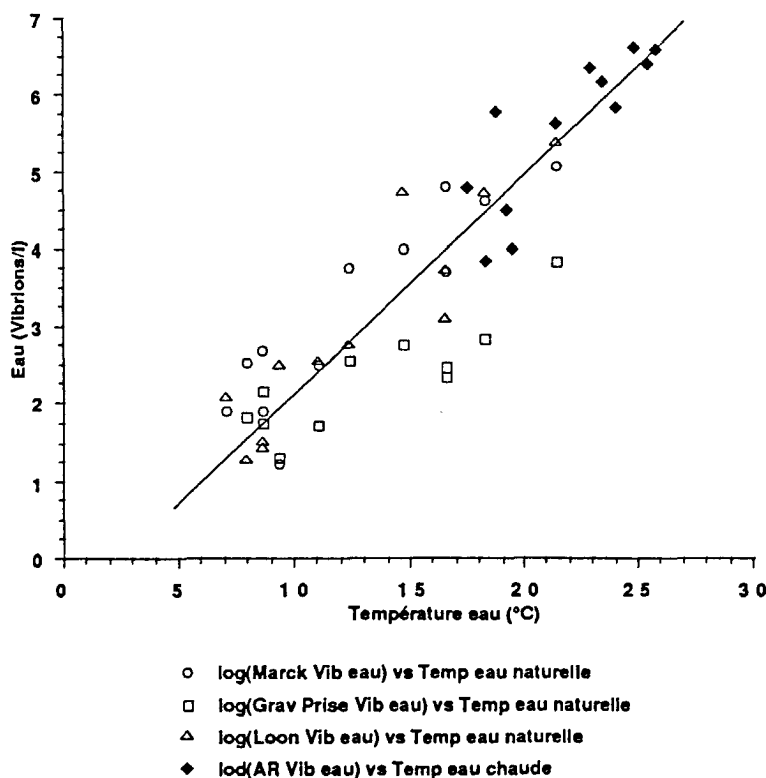


Fig. 11. Eau - Relation entre la température et les concentrations en vibrions

Dans les coquillages, on retrouve des relations encore plus marquées entre la température et les concentrations en vibrions:

$$\log(\text{Vibrions/litre coquillage}) = 0,211 (\text{Temp eau } ^\circ\text{C}) + 1,393 \quad (r^2 = 0,752 \text{ pour } 60 \text{ valeurs})$$

En été des concentrations de l'ordre de 106 à 107 vibrions par litre de broyat de coquillage sont mesurées. En saison froide, des valeurs inférieures au seuil de détection de 2000/l. sont atteintes. D'après l'ajustement linéaire calculé, les températures minimales de détection des vibrions sont de 9 °C pour la méthode sur TCBS et de 1,8 °C pour les méthodes en milieu liquide (3 x 10 mlensemencés).

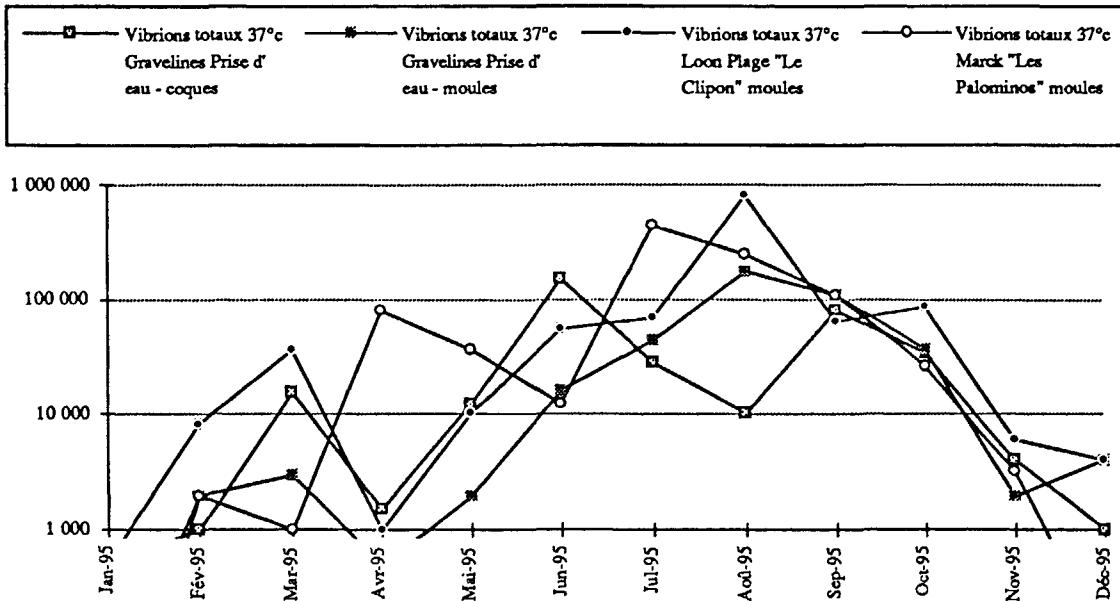


Fig. 12. Concentrations en vibrions par litre dans les coquillages de trois sites non réchauffés

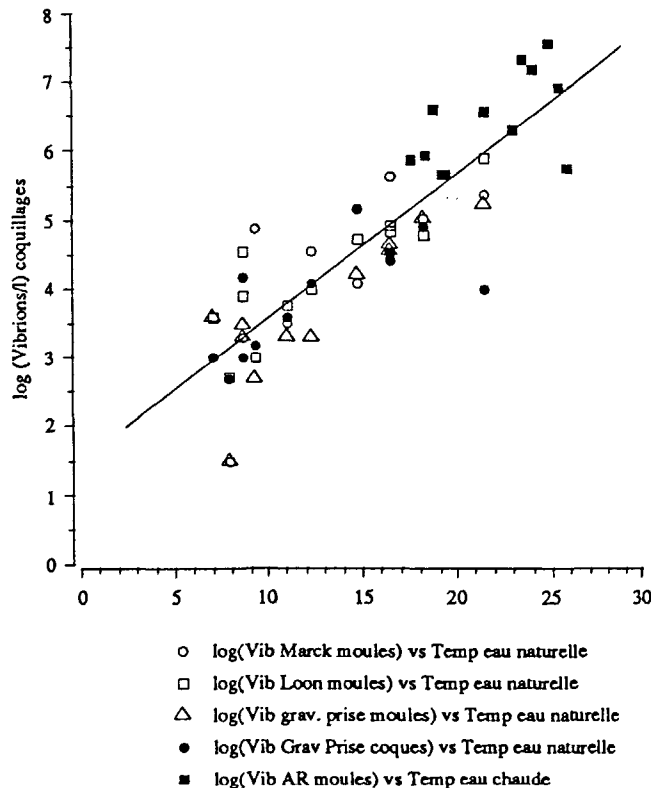


Fig. 13. Coquillages - Relation entre la température et les concentrations en vibrions

### Aspect qualitatif et résultats par sites

#### Marck " les Palominos"

Les trois premiers prélèvements de ce point ont été réalisés un peu plus à l'est, à Oye Plage. Devant la diversité des vibrions observés, ce point à été déplacé à Marck, à l'extrémité ouest de la concession de moules pour éviter toute influence éventuelle du rejet de Gravelines.

Les concentrations moyennes en vibrions sont de 1 700/l. pour l' eau et de 7 400/l. pour les moules soit un facteur moyen de concentration de 4. *Vibrio alginolyticus* représente 79% des isollements dans l' eau (73% dans les moules).

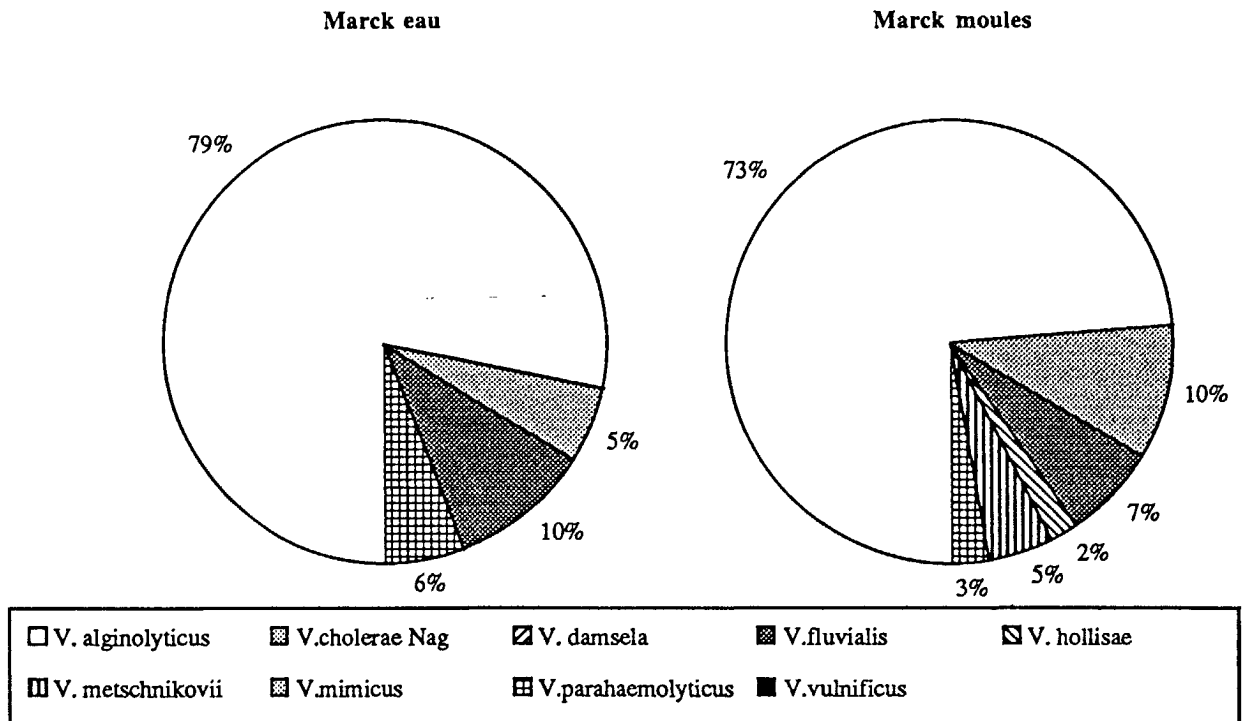


Fig. 14. Marck - moules - distribution des espèces de vibrions

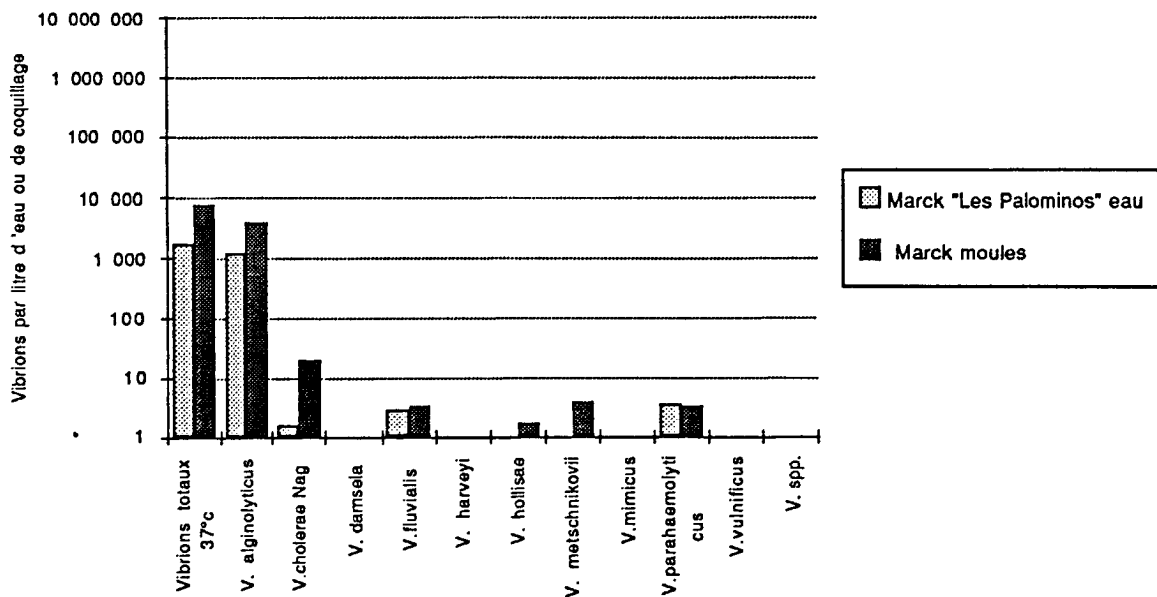


Fig. 15. Moules - Marck - concentrations en vibrions

**Gravelines prise d' eau et avant port**

Sur ce gisement, les mesures ont porté sur des moules et des coques. Malgré le voisinage de l' ensemble centrale-aquaculture, les concentrations en vibrions sont les plus basses des sites étudiés en raison de la circulation des eaux (196 Vib./l.). Les teneurs observées dans les coquillages sont proches de celles de Marck (moules : 5400/l. - coques : 7900/l.) Les pourcentages en *V. alginolyticus* sont par contre nettement plus faibles dans l' eau (45%) dans l' eau. Les deux types de coquillages ont des distributions en vibrions très semblables (74% *V. alginolyticus*).

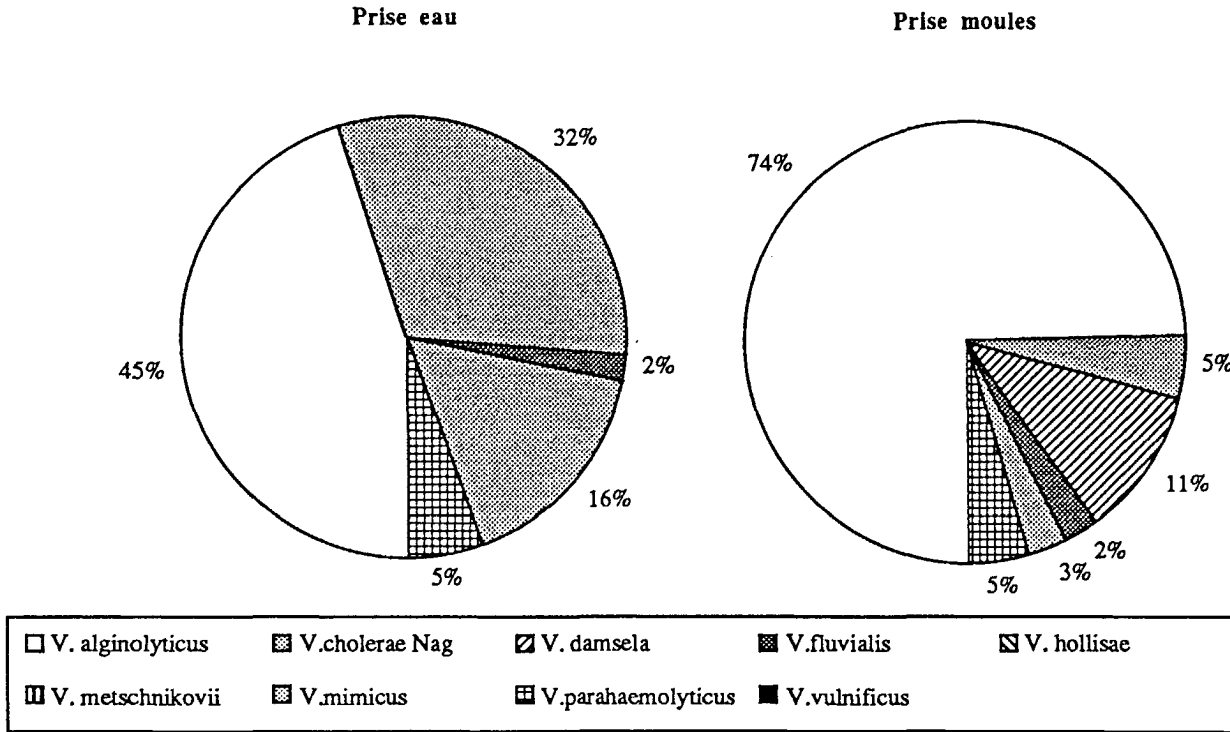


Fig. 16. Gravelines - moules - distribution des espèces de vibrions

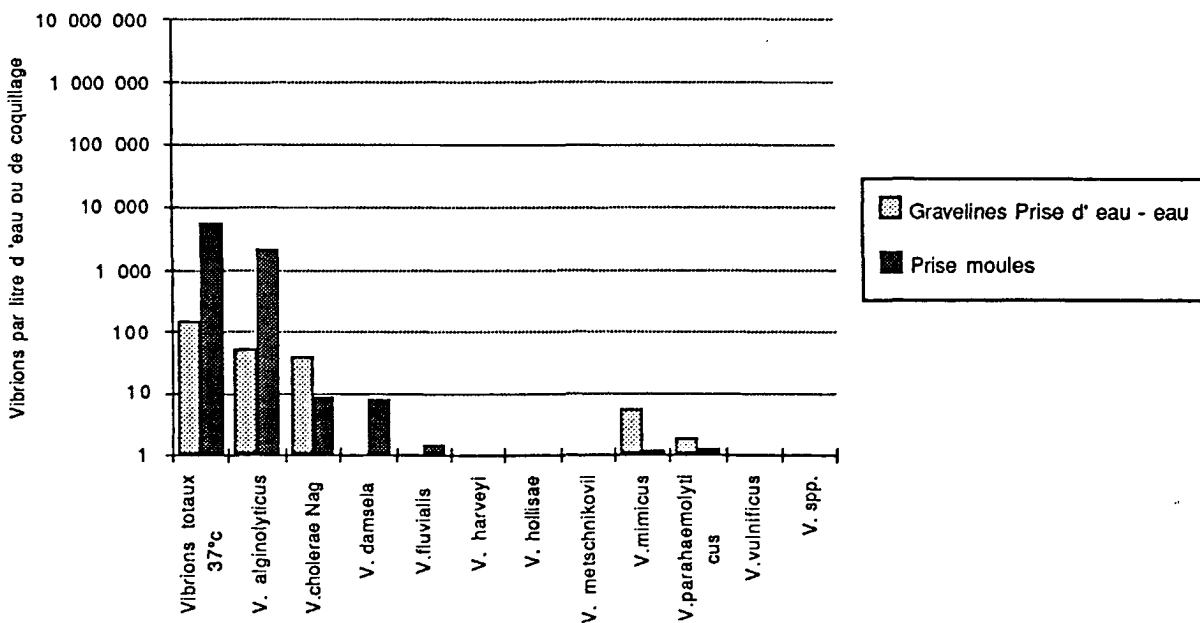


Fig. 17. Moules - Gravelines - concentrations en vibrions

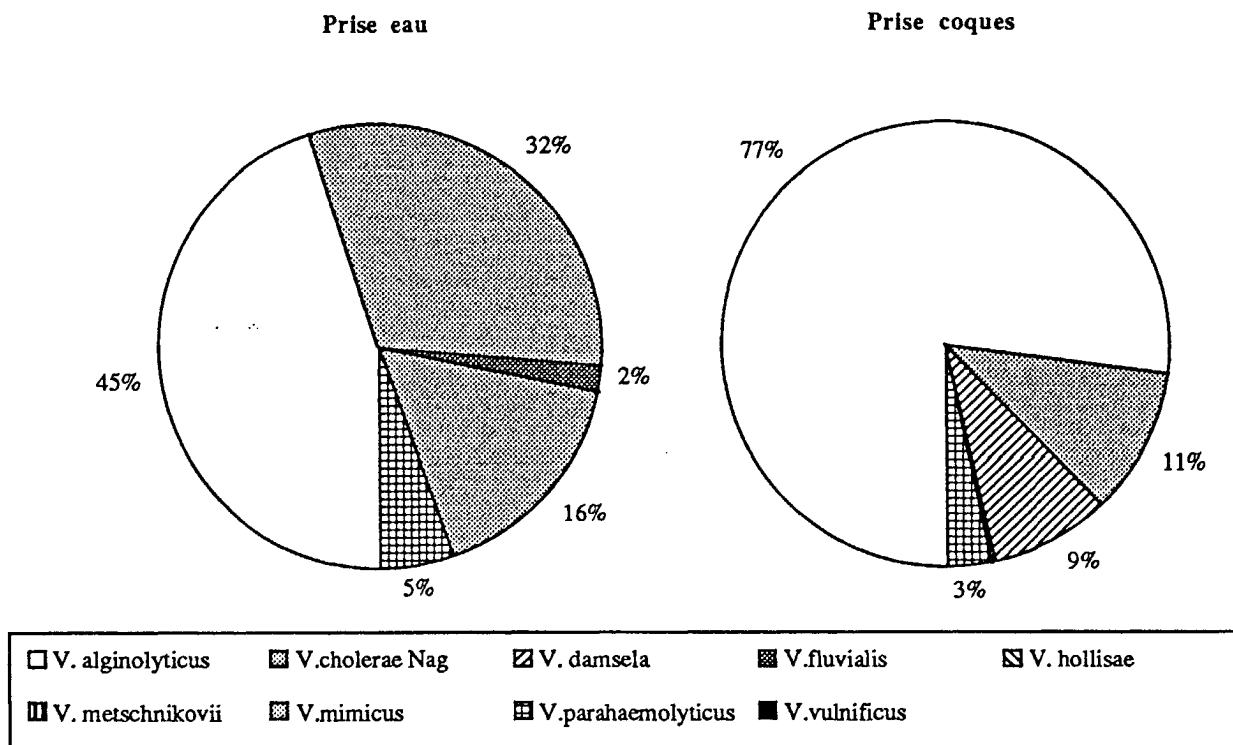


Fig. 18. Gravelines - coques - distribution des espèces de vibrions

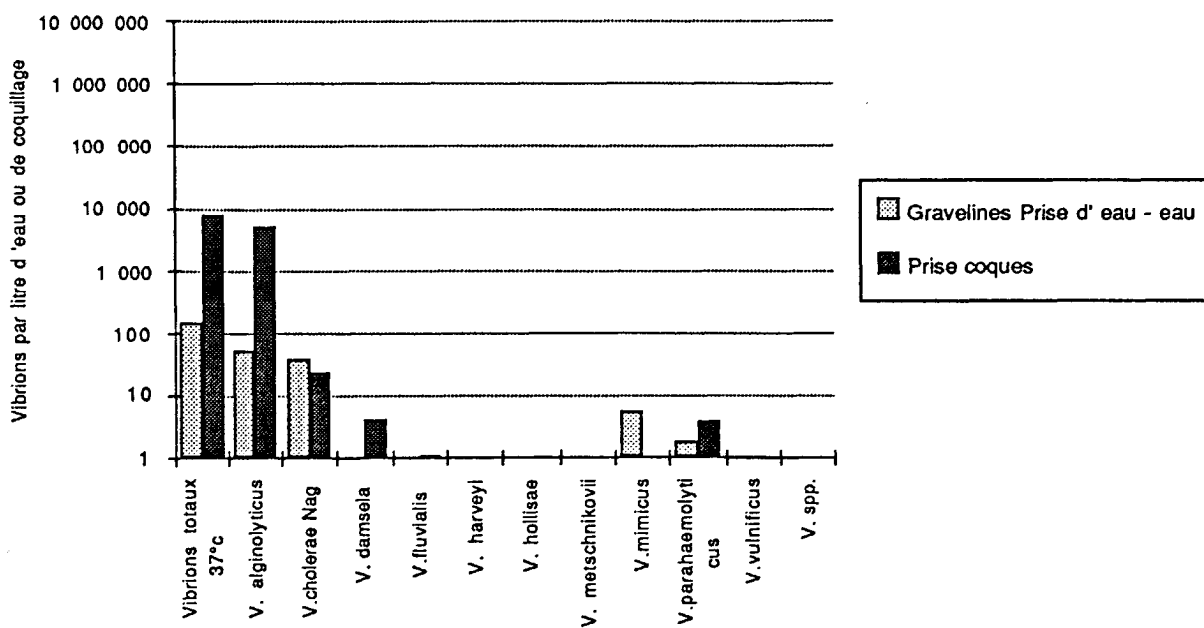


Fig. 19. coques - Gravelines - concentrations en vibrions



Gravelines- Rejet du centre Aquacole

Conséquence des concentrations élevées de vibrions existant dans le rejet aquacole (moy. 345 000/l.), les vibrions sont retrouvés en quantité très importante dans les moules installées dans le rejet, 2 800 000/l en moyenne géométrique.

*V. alginolyticus* ne représente que 25% des isolations dans l' eau et 33% dans les moules. L' espèce majoritairement isolée dans l' eau et les moules est *Vibrio cholerae* Nag. En moyenne le facteur de concentration eau/moules est de 8.

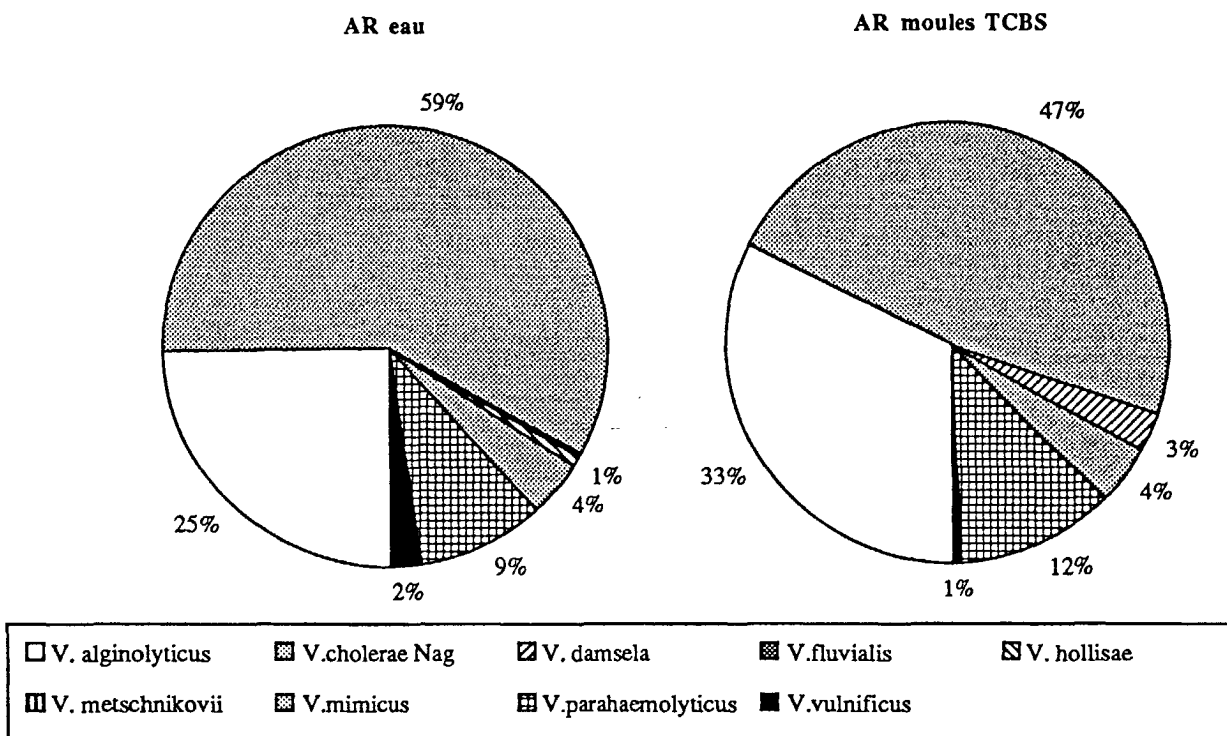


Fig. 20. Rejet aquaculture - moules - distribution des espèces de vibrions

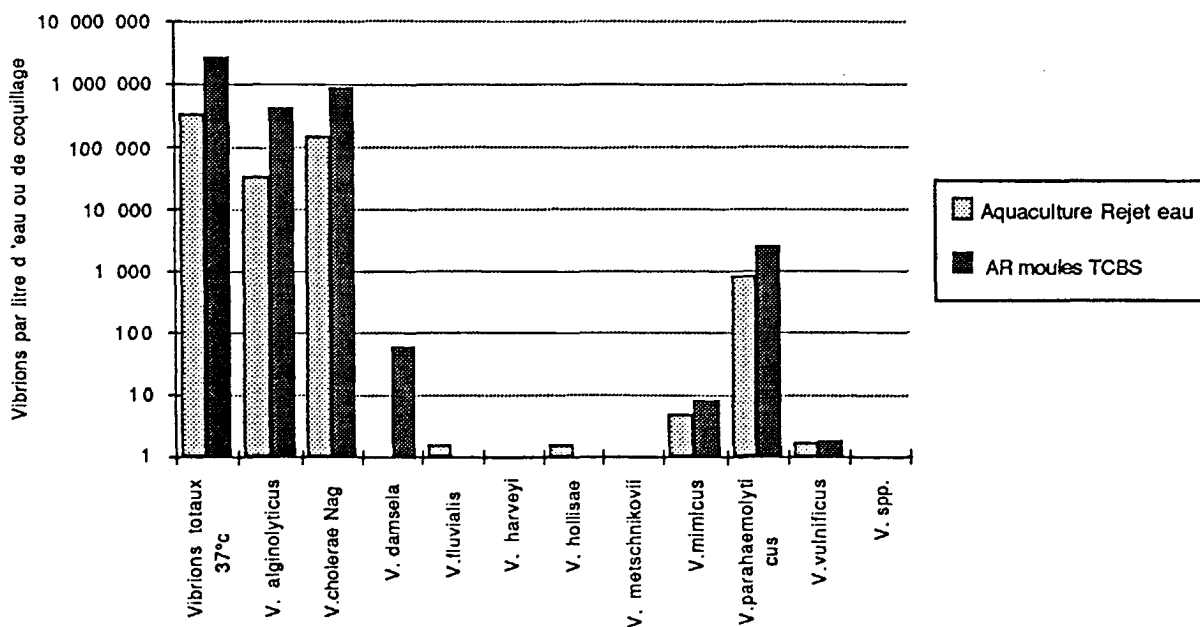


Fig. 21. Moules - Aquaculture rejet - concentrations en vibrions

**Loon Plage "le clipon"**

Compte tenu de la dérive des masses d'eau sous l'influence des courants, le site de Loon Plage se trouve sous l'influence des rejets de Gravelines. Le nombre moyen de vibrions dans l'eau est d'importance moyenne (920 Vib./l.); il est intermédiaire entre ceux de l'avant port et ceux de Marck. Dans les moules le nombre moyen est de 16 900 ce qui correspond à un facteur de concentration eau/moules de 18.

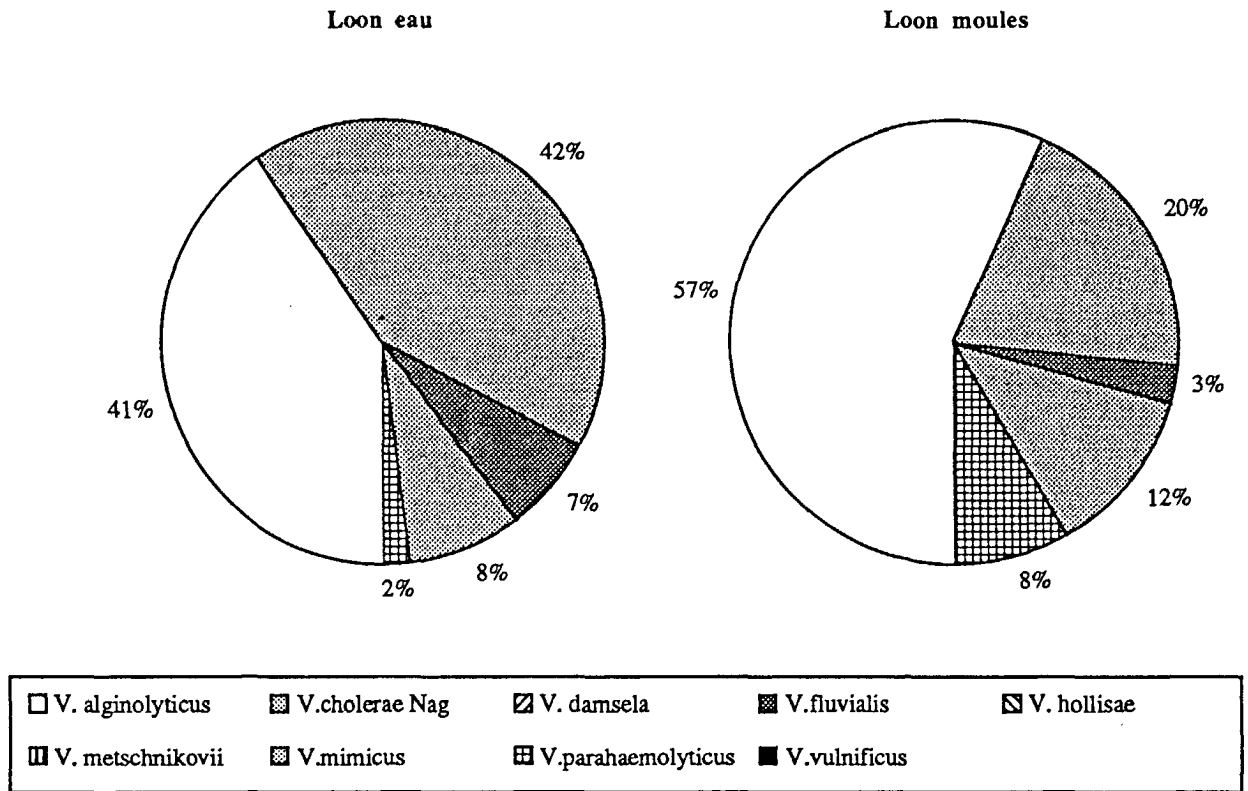


Fig. 22. Loon Plage - moules - distribution des espèces de vibrions

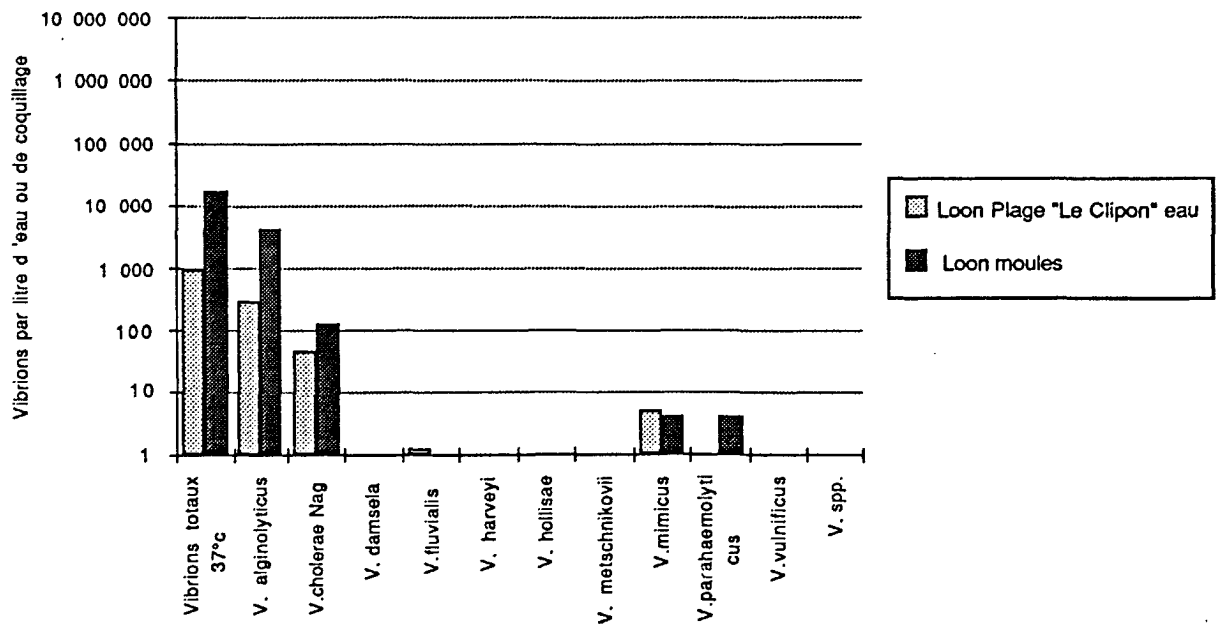


Fig. 23. Moules - Loon Plage - concentrations en vibrions

## Mesures de contamination fécale

Des dénombrements de coliformes fécaux ont été réalisés par le laboratoire Ifremer de Boulogne conjointement aux dénombrements de vibrions. Les résultats détaillés en annexe montrent une relative bonne qualité sanitaire des coquillages contrôlés. 50% des mesures sont inférieures au seuil de détection de 30 /100 ml de broyat et 5 valeurs sont supérieures à 300/100 ml. Les concentrations élevées en vibrions n'interfèrent pas avec la méthode de dénombrement utilisée (Malthus).

Aucune corrélation significative n'est observée entre les teneurs en vibrions et celles en coliformes fécaux. La chloration des eaux alimentant l'aquaculture en saison chaude élimine les coliformes alors que les vibrions sont abondants ce qui induit une tendance négative dans la relation coliformes/vibrions.

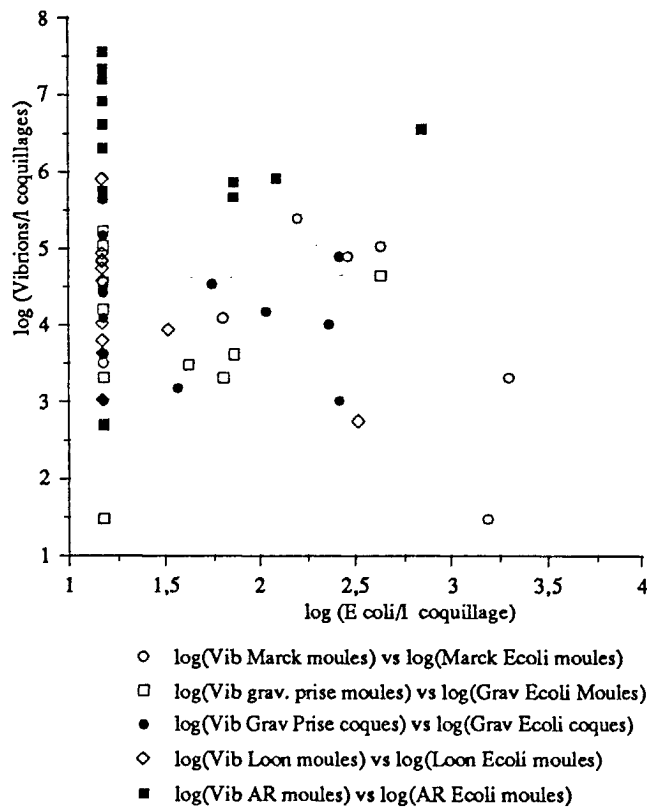


Fig. 24. Coquillages - Relations entre pollution fécale et vibrions

## Comparaison inter-sites et relations eau/coquillage

Les vibrions ont été retrouvés en toutes saisons sur tous les échantillons d'eau analysés avec des concentrations importantes sur le site de Gravelines. Les concentrations en vibrions des gisements proches ne semblent pas directement influencées par les valeurs notées dans le rejet aquacole.

Sur le plan des espèces rencontrées, la diversité des espèces de vibrions observée sur le site de Gravelines est retrouvée dans les coquillages grâce à la méthode d'isolement direct sur TCBS.

Une observation importante réside dans la présence de vibrion de diverses espèces à Marck alors que ce gisement n'est pas censé être sous l'influence de l'ensemble centrale-aquaculture. Le système constitué par la

centrale et l'aquaculture multiplie préférentiellement d'autres souches que celles de *Vibrio alginolyticus*. Les programmes d'élevages actuels à Gravelines comportent des aspects d'isolement sanitaires (pas d'apports d'animaux extérieurs au site et nourriture stérilisée par chauffage), ce qui devrait empêcher l'importation de souches bactériennes.

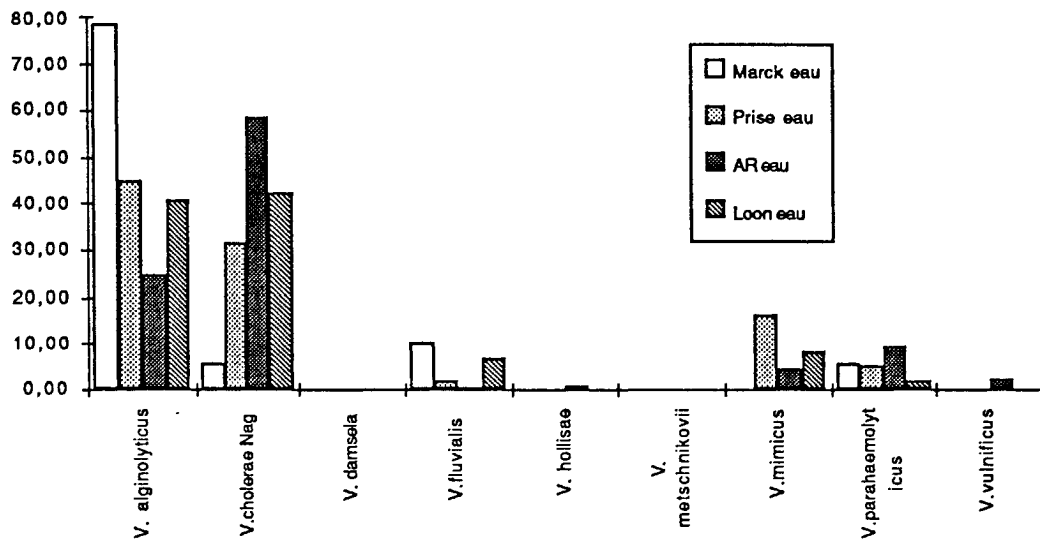


Fig. 25. Eau - Pourcentages moyens des différentes espèces de vibrions

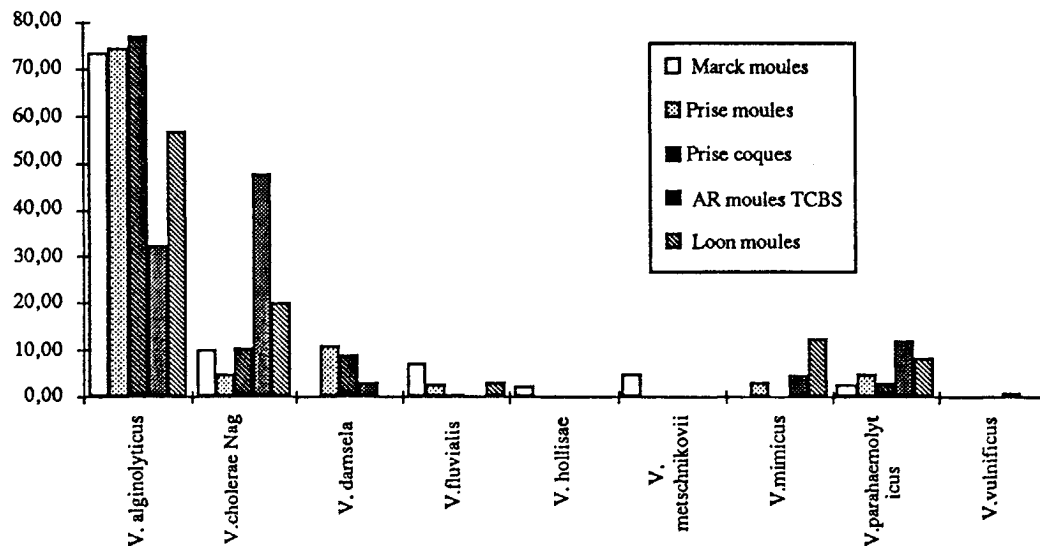


Fig. 26 Coquillages - Pourcentages moyens des différentes espèces de vibrions

L'eau et les moules de Loon Plage ont des pourcentages de *V. alginolyticus* nettement plus faibles que ceux de Marck et l'avant port de Gravelines; ils apparaissent comme influencés par les rejets. A la prise d'eau de Gravelines les modifications de microflore observées dans l'eau ont peu d'influence sur la flore des moules et des coques. *Vibrio damsela* n'est retrouvé que dans les coquillages du site de Gravelines.

Les relations entre les différents paramètres de cette études sont figurés dans le tableau ci-dessous. On observe les fortes corrélations déjà commentées entre les concentrations en vibrions et la température. Ces relations fortes induisent de nombreuses relations indirectes entre les différents dénombrements de vibrions.

Seules trois corrélations liant *E. coli* à d' autres paramètres apparaissent; en réalités ces relations n' existent pas car, pour les calculs, les valeurs inférieures aux seuils (<30) ont été remplacées par la moitié du seuil (15/100 ml). Pour Loon Plage, par exemple, il existe seulement deux valeurs de concentration en *E. coli*.

Temp eau naturelle	1,000																			
Temp eau chaude	0,940	1,000																		
Aqua rejet log(vib.) eau	0,791	0,838	1,000																	
Marck log(vib.) eau	0,905	0,881	0,784	1,000																
Loon Plage log(vib.) eau	0,912	0,845	0,669	0,776	1,000															
Grav. prise log(vib.) eau	0,831	0,806	0,624	0,821	0,703	1,000														
Marck log(E coli) moules	-0,098	-0,262	-0,588	-0,060	-0,096	0,181	1,000													
Grav. prise log(E coli) moules	-0,114	-0,092	0,099	0,071	-0,298	-0,276	-0,228	1,000												
Grav. prise log(E coli) coques	0,274	0,014	0,201	0,085	0,348	-0,033	-0,075	-0,086	1,000											
Aqua rejet log(E coli) moules	-0,475	-0,456	-0,497	-0,542	-0,385	-0,535	-0,020	-0,214	-0,212	1,000										
Loon log(E coli) moules	-0,387	-0,424	-0,612	-0,203	-0,475	-0,097	0,619	-0,119	-0,334	0,281	1,000									
Aqua rejet log(vib.) moules	0,492	0,573	0,656	0,554	0,427	0,308	-0,423	0,230	-0,080	-0,300	-0,334	1,000								
Marck log(vib.) moules	0,770	0,764	0,662	0,621	0,717	0,525	-0,235	0,119	0,180	-0,454	-0,706	0,388	1,000							
Loon Plage log(vib.) moules	0,850	0,798	0,868	0,783	0,761	0,719	-0,298	0,087	0,396	-0,633	-0,553	0,468	0,633	1,000						
Grav. prise log(vib.) moules	0,846	0,777	0,828	0,754	0,811	0,557	-0,314	0,157	0,486	-0,562	-0,695	0,533	0,758	0,924	1,000					
Grav. prise log(vib.) coques	0,716	0,764	0,811	0,678	0,735	0,594	-0,392	-0,061	0,119	-0,562	-0,560	0,840	0,594	0,743	0,746	1,000				
	Temp eau naturelle	Temp eau chaude	Aqua rejet log(vib.) eau	Marck log(vib.) eau	Loon Plage log(vib.) eau	Grav. prise log(vib.) eau	Marck log(E coli) moules	Grav. prise log(E coli) moules	Grav. prise log(E coli) coques	Aqua rejet log(E coli) moules	Loon log(E coli) moules	Aqua rejet log(vib.) moules	Marck log(vib.) moules	Loon Plage log(vib.) moules	Grav. prise log(vib.) moules	Grav. prise log(vib.) coques				

Fig. 27 Relations entre les différents paramètres

L'une des relations les plus intéressantes est celle qui lie les concentrations en vibrions dans l'eau et les coquillages. Cette relation est la suivante pour l'ensemble des gisements de l'étude:

$$\log(\text{Vib./l.}) \text{ coquillage} = 0,633 \log(\text{Vib./l.}) \text{ eau} + 2,523 \quad r = 0,805 \quad (60 \text{ valeurs})$$

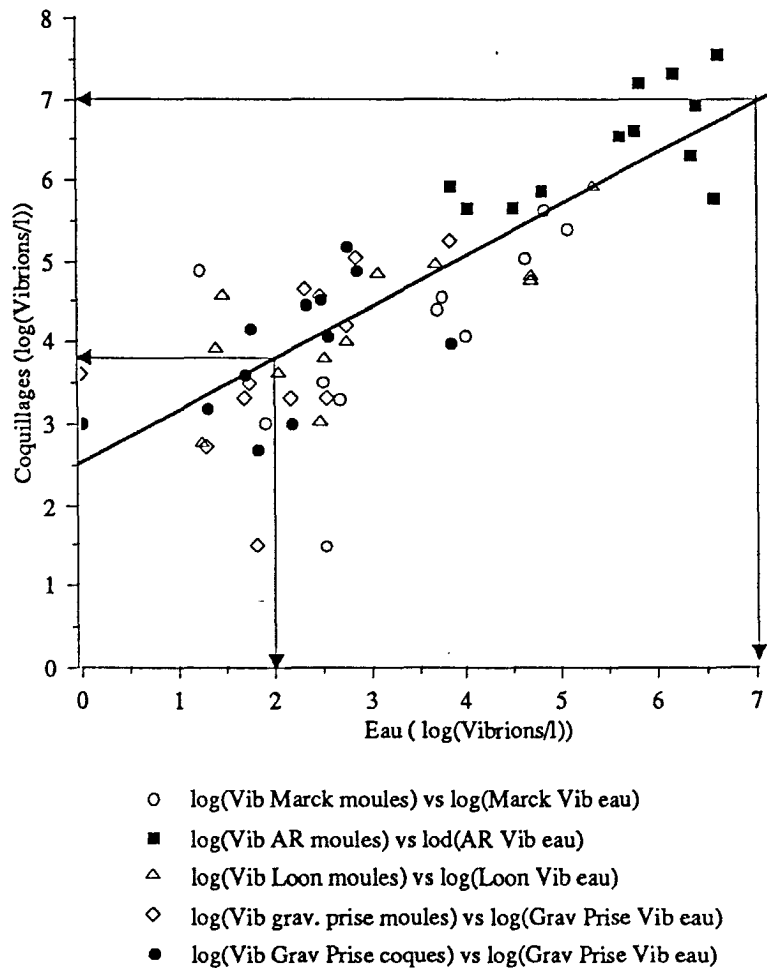


Fig. 28. Relations entre les concentrations en vibrions de l'eau et des coquillages

L'ajustement linéaire réalisé traduit un coefficient de concentration des vibrions par les mollusques (moules et coques) variable selon la teneur en vibrions de l'eau. A des concentrations faibles de l'eau de l'ordre de 100 vibrions/l., le coefficient de concentration par les mollusques est de l'ordre de 50; il décroît quand la concentration en vibrions de l'eau augmente (2,5 pour une concentration dans l'eau de  $10^6$  /l.). Aux concentrations maximales observées dans le rejet de l'aquaculture, on est donc très proche de valeurs pour lesquelles la concentration par les coquillages ne se produit plus.

## Conclusion

Cette étude a permis en renforçant dans le domaine des coquillages, les programmes de surveillance en place à Gravelines de montrer que les vibrions étaient concentrés par les mollusques de façon globalement comparable aux coliformes fécaux régulièrement surveillés.

Le site de Gravelines influence le gisement proche de moules de Loon Plage sous l'influence des courants. Les modifications observées dans la composition de la microflore des vibrions à Gravelines sont partiellement retrouvées sur ce gisement.

Sur le plan méthodologique, la méthode d'isolement direct sur TCBS se montre très intéressante pour la recherche des espèces de vibrions présentes dans l'eau et les coquillages. Au plan qualitatif, les méthodes en milieu liquide montrent des rendements parfois supérieurs mais sont très sensibles à la durée d'incubation ce qui rend leur emploi délicat.

**Annexes**  
**Tableaux de résultats**

## Marck "Les Palominos" eau

Eau	Vib. totaux 37°C	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. anguillarum</i>	<i>V. cholerae</i> Nag	<i>V. damsela</i>	<i>V. fluvialis</i>	<i>V. harveyi</i>	<i>V. hollisae</i>	<i>V. metschnikovii</i>	<i>V. mimicus</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. spp.</i>
09/01/95	350	80		110		40					120		
02/02/95	480	480											
20/03/95	80	80											
03/04/95	17	17											
15/05/95	5 600	5 600											
01/06/95	10 000	2 000				8 000							
04/07/95	65 000	55 000									10 000		
01/08/95	118 000	118 000											
12/09/95	42 000	42 000											
12/10/95	5 000	5 000											
27/11/95	320	210			50						60		
12/12/95	80	40			15	25							

\* : Vibrions par litre d' eau ou par litre de chair et de liquide intervalvaire

## Marck "Les Palominos" moules

coquillage	Vib. totaux 37°C	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. anguillarum</i>	<i>V. cholerae</i> Nag	<i>V. damsela</i>	<i>V. fluvialis</i>	<i>V. harveyi</i>	<i>V. hollisae</i>	<i>V. metschnikovii</i>	<i>V. mimicus</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. spp.</i>
09/01/95	<60	<60											
02/02/95	2 000	2 000											
20/03/95	1 000	1 000											
03/04/95	77 500	77 500											
15/05/95	36 000	18 000		16 000		2 000							
01/06/95	12 000	6 000							6 000				
04/07/95	430 000	10 000		230 000				110 000	30 000		50 000		
01/08/95	240 000	240 000											
12/09/95	108 000	108 000											
12/10/95	26 000	4 000		2 000		20 000							
27/11/95	3 200	2 100		500							600		
12/12/95	<2000	<2000											

\* : Vibrions par litre d' eau ou par litre de chair et de liquide intervalvaire



## Gravelines Prise d' eau - eau

Eau	Vib. totaux 37°C	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. anguillarum</i>	<i>V. cholerae</i> Nag	<i>V. damsela</i>	<i>V. fluvialis</i>	<i>V. harveyi</i>	<i>V. hollisae</i>	<i>V. metschnikovii</i>	<i>V. mimicus</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. spp.</i>
09/01/95	68	44		2		2				20			
02/02/95	150	20		66						64			
20/03/95	56	36		8						12			
03/04/95	20	16				4							
15/05/95	370	80		230						60			
01/06/95	580	340		240									
04/07/95	220	40		180									
01/08/95	7 000	3 600		1 200							2 200		
12/09/95	720	180		240						300			
09/10/95	310	100		110							100		
27/11/95	52	6		24						22			
11/12/95	1	1											

\* : Vibrions par litre d' eau ou par litre de chair et de liquide intervalvaire

## Gravelines Prise d' eau - moules

coquillage (moules)	Vib. totaux 37°C	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. anguillarum</i>	<i>V. cholerae</i> Nag	<i>V. damsela</i>	<i>V. fluvialis</i>	<i>V. harveyi</i>	<i>V. hollisae</i>	<i>V. metschnikovii</i>	<i>V. mimicus</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. spp.</i>
09/01/95	<60	<60											
02/02/95	2 000				2 000								
20/03/95	3 000	3 000											
03/04/95	500	500											
15/05/95	2 000	2 000											
01/06/95	16 000	12 000		4 000									
04/07/95	44 000	32 000		6 000	6 000								
01/08/95	170 000	120 000				50 000							
12/09/95	106 000	70 000		20 000	16 000								
10/10/95	36 000	4 000								12 000	20 000		
27/11/95	2 000	2 000											
11/12/95	4 000	4 000											

\* : Vibrions par litre d' eau ou par litre de chair et de liquide intervalvaire

## Aquaculture Rejet eau

Eau	Vib. totaux 37°C	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. anguillarum</i>	<i>V. cholerae</i> Nag	<i>V. damsela</i>	<i>V. fluvialis</i>	<i>V. harveyi</i>	<i>V. hollisae</i>	<i>V. metschnikovii</i>	<i>V. mimicus</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. spp.</i>
09/01/95	7 000	2 000		3 000							2 000		
02/02/95	31 000	12 000		18 000							1 000		
20/03/95	590 000	10 000		150 000							270 000	160 000	
03/04/95	10 160	10 000		160									
15/05/95	2 280 000	50 000		2 200 000							30 000		
01/06/95	670 000	100 000		410 000				60 000			100 000		
04/07/95	4 100 000	100 000		3 500 000							500 000		
01/08/95	3 800 000	400 000		3 200 000		100 000					100 000		
12/09/95	1 500 000	1 200 000		300 000									
10/10/95	2 440 000	40 000		2 400 000									
27/11/95	410 000	70 000		260 000						80 000			
11/12/95	62 000	1 000		40 000						20 000	1 000		

\* : Vibrions par litre d' eau ou par litre de chair et de liquide intervalvaire

## Aquaculture Rejet moules (TCBS)

coquillage (TCBS)	Vib. totaux 37°C	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. anguillarum</i>	<i>V. cholerae</i> Nag	<i>V. damsela</i>	<i>V. fluvialis</i>	<i>V. harveyi</i>	<i>V. hollisae</i>	<i>V. metschnikovii</i>	<i>V. mimicus</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. spp.</i>
09/01/95	820 000	320 000		380 000	120 000								
02/02/95	460 000	320 000		20 000							120 000		
20/03/95	3 970 000	910 000		450 000	40 000					1 100 000	1 200 000	270 000	
03/04/95	460 000	50 000		380 000							30 000		
15/05/95	2 020 000	1 780 000		60 000	180 000								
01/06/95	15 400 000	6 000 000		8 200 000							1 200 000		
04/07/95	35 400 000	400 000		32 000 000							3 000 000		
01/08/95	580 000	480 000		100 000									
12/09/95	21 100 000	300 000		18 800 000	2 000 000								
10/10/95	8 400 000	400 000		6 000 000							2 000 000		
27/11/95	3 600 000	200 000		2 000 000							1 400 000		
11/12/95	727 270	181 820		363 630						181 820			

\* : Vibrions par litre d' eau ou par litre de chair et de liquide intervalvaire

## Aquaculture Rejet moules (BTB)

coquillage ( BTB )	Vib. totaux 37°C	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. anguillarum</i>	<i>V. cholerae</i> Nag	<i>V. damsela</i>	<i>V. fluvialis</i>	<i>V. harveyi</i>	<i>V. hollisae</i>	<i>V. metschnikovii</i>	<i>V. mimicus</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. spp.</i>
09/01/95	49 380	860		48 000						60	460		
02/02/95	48 000	48 000											
20/03/95	515 800	480 000			30 000						5 800		
03/04/95	484 660	480 000		2 800							1 860		
15/05/95	92 000	92 000											
01/06/95	510 000	30 000		480 000									
04/07/95	969 200	489 200		480 000									
01/08/95	50 340	46 140		4 200									
12/09/95	268 000	220 000		48 000									
10/10/95	510 000	30 000		480 000									
27/11/95	189 840	97 720		92 000							120		
11/12/95	5 280 000	480 000		4 800 000									

\* : Vibrions par litre d' eau ou par litre de chair et de liquide intervalvaire

## Aquaculture Rejet moules (EPSA)

coquillage (EPSA)	Vib. 37°C	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. anguillarum</i>	<i>V. cholerae</i> Nag	<i>V. damsela</i>	<i>V. fluvialis</i>	<i>V. harveyi</i>	<i>V. hollisae</i>	<i>V. metschnikovii</i>	<i>V. mimicus</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. spp.</i>
09/01/95	48 200	32 000		15 000	180					160	860		
02/02/95	1 920			1 920									
20/03/95	935 000	920 000		15 000									
03/04/95	480 060	480 000									60		
15/05/95	522 580	480 000		42 000	580								
01/06/95	960 000	480 000		480 000									
04/07/95	1 440 000	1 440 000											
01/08/95	570 000	522 000		48 000									
12/09/95	920 000	700 000		220 000									
10/10/95	9 680 000	480 000		9 200 000									
27/11/95	5 765 720	485 720		4 800 000							480 000		
11/12/95	4 848 000	4 800 000		48 000									

\* : Vibrions par litre d' eau ou par litre de chair et de liquide intervalvaire

## Loon Plage "Le Clipon" eau

Eau	Vib. totaux 37°C	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. anguillarum</i>	<i>V. cholerae</i> Nag	<i>V. damsela</i>	<i>V. fluvialis</i>	<i>V. harveyi</i>	<i>V. hollisae</i>	<i>V. metschnikovii</i>	<i>V. mimicus</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. spp.</i>
09/01/95	18	6		8						4			
02/02/95	26	10		10							6		
20/03/95	30	10		20									
03/04/95	310	10		300									
15/05/95	560	180		380									
01/06/95	50 000	30 000		20 000									
04/07/95	1 200	480				720							
01/08/95	220 000	220 000											
12/09/95	50 000	40 000								10 000			
10/10/95	5 000	700		2 500						1 800			
27/11/95	350	70		280									
11/12/95	115	40		25		25				25			

\* : Vibrions par litre d' eau ou par litre de chair et de liquide intervalvaire

## Loon Plage "Le Clipon" moules

coquillage	Vib. totaux 37°C	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. anguillarum</i>	<i>V. cholerae</i> Nag	<i>V. damsela</i>	<i>V. fluvialis</i>	<i>V. harveyi</i>	<i>V. hollisae</i>	<i>V. metschnikovii</i>	<i>V. mimicus</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. spp.</i>
09/01/95	530	460		70									
02/02/95	8 000									8 000			
20/03/95	36 000	3 000		2 000							31 000		
03/04/95	1 000	500		500									
15/05/95	10 000	10 000											
01/06/95	54 000	8 000		46 000									
04/07/95	68 000	36 000								32 000			
01/08/95	780 000	720 000		60 000									
12/09/95	62 000	34 000		28 000									
10/10/95	84 000	74 000									10 000		
27/11/95	6 000	2 000		2 000		2 000							
11/12/95	4 000	4 000											

\* : Vibrions par litre d' eau ou par litre de chair et de liquide intervalvaire

	Vib totaux	V. alginolyticus	V. anguillarum	V. cholerae Nag	V. damsela	V. fluvialis	V. harveyi	V. hollisae	V. metschnikovii	V. mimicus	V. parahaemolyticus	V. vulnificus	V. spp.
<b>Aquaculture Rejet Eau</b>													
Avr-95	10 160	10 000	0	160	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Aoû-95	3 800 000	400 000	0	3 200 000	0	100 000	0	0	0	0	100 000	0	0
Sep-95	1 500 000	1 200 000	0	300 000	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nov-95	410 000	70 000	0	260 000	0	0	0	0	0	80 000	0	0	0
Déc-95	62 000	1 000	0	40 000	0	0	0	0	0	20 000	1 000	0	0
<b>AR Huîtres TCBS</b>													
Avr-95	90 000	70 000		20 000									
Aoû-95	21 400 000	2 000 000		20 000 000									
Sep-95	8 800 000	600 000		7 000 000	2 000 000								
Nov-95	1 020 000	20 000		600 000						40 000	320 000		
Déc-95	220 000	14 000		100 000						66 000			
<b>AR Huîtres BTB</b>													
Avr-95	26 800	22 000		4 800									
Aoû-95	5 000 000	100 000		5 000 000									
Sep-95	1 000 000	1 000 000											
Nov-95	118 460	70 460		48 000									
Déc-95	48 920	48 000		460							460		
<b>AR Huîtres EPSA</b>													
Avr-95	52 800	4 800		48 000									
Aoû-95	28 800 000	5 000 000		20 000 000									
Sep-95	1 180 000	700 000		500 000									
Nov-95	5 280 000	5 000 000		500 000									
Déc-95	4 800 000	5 000 000											

\* : Vibrions par litre d' eau ou par litre de chair et de liquide intervalvaire

Date	Marck "Palominos" moules	Gravelines Prise d' eau moules	Gravelines Prise d' eau coques	Rejet Aquaculture moules	Loon Plage "Le clipon" moules
Jan-95	1 540	<30	<30	122	341
Fév-95	2 030	64	<30	<30	34
Mar-95	<30	43	108	<30	<30
Avr-95	300	<30	37	74	<30
Mai-95	<30	<30	<30	<30	<30
Jun-95	64	<30	<30	<30	-
Jul-95	<30	441	<30	<30	-
Août-95	159	<30	233	<30	-
Sep-95	441	<30	264	<30	<30
Oct-95	<30	<30	57	<30	<30
Nov-95	<30	<30	<30	710	<30
Déc-95	<30	74	264	74	-

\* : *Escherichia coli* pour 100 ml de chair et de liquide intervalvaire

- : non mesuré

#### Concentration en *E. coli* dans les coquillages (données Ifremer Boulogne)

Température naturelle Gravelines avant-port	Température rejet aquaculture
8,0	18,4
8,7	19,3
8,7	18,8
9,4	19,5
12,4	23,0
14,8	24,1
16,6	24,9
21,5	25,9
18,3	23,5
16,6	25,5
11,1	21,5
7,1	17,6

#### Températures eau de mer

(la température à Gravelines (Avant-port a été utilisée pour les sites de Marck et Loon Plage)