



UNIVERSITE DE NANTES



J. Haure, J. Hussenot, F. Buzin,

IFREMER, AGSAE, LGP

Station expérimentale, Polder des champs, 85 230 Bouin

P. Lassus, C. Marcaillou-Le Baut, F. Mondeguer, V. Sechet, F. Royer,

Z. Amzil,

M. Cardinal, C. Belin

IFREMER, EMP PHYC et STBM

Rue de l'île d'Yeu, 44311 Nantes

L. Le Grel

Université de Nantes, LEMNA - Lab. d'écon. et de manag. de Nantes Atlantique, BP 52 231, 44322 Nantes Cedex 3

V. Le Bihan

Capacité SAS, LEMNA - Lab. d'écon. et de manag. de Nantes Atlantique, BP 52 231, 44322 Nantes Cedex 3

P. Jaouen, A. Massé, J.-B Castaing, N.E Sabiri, M. Pontié

GEPEA, UMR CNRS 6144, CRTT, 37 Bd de l'Université, 44 602 Saint Nazaire

COMSAUMOL

Rapport final

(maintien de la COMmercialisation par la SAUvegarde et la détoxification des MOLLusques) :

Etude 2008-2010

Coordinateur scientifique :

Joël HAURE

Numéro d'identification du rapport : DIR/SER/Typdoc/An/Num		date de publication Juin 2011
Diffusion : libre X <input type="checkbox"/> restreinte <input type="checkbox"/> interdite <input type="checkbox"/>		nombre de pages 92
Validé par : Joël HAURE		bibliographie Oui
Version du document : Définitive		illustration(s) Oui
langue du rapport : Français		
Titre et sous-titre du rapport :		
COMSAUMOL (maintien de la COMmercialisation par la SAUvegarde et la détoxification des MOLlusques) : Rapport final		
Auteur(s) principal(aux) : nom, prénom	Organisme / Direction / Service, laboratoire	
J. Haure, J. Hussenot, F. Buzin, B. Dupuy, H. Palvadeau, C. Penisson, M. Papin, M. Nourry	IFREMER, AGSAE, LGP Station expérimentale, Polder des champs, 85 230 Bouin	
P. Lassus, C. Marcaillou-Le Baut, F. Mondeguer, F. Royer, Z. Amzil, C. Belin M. Cardinal	IFREMER, EMP PHYC Rue de l'île d'Yeu, 44 311 Nantes IFREMER, STBM Rue de l'île d'Yeu, 44 311 Nantes	
L. Le Grel, V. Le Bihan	Université de Nantes, LEMNA-Lab. d'écon. et de manag. de Nantes Atlantique, BP 52 231, 44 322 Nantes Cedex 3	
P. Jaouen, A. Massé, JB. Castaing, NE. Sabiri, M. Pontié	GEPEA, UMR CNRS 6144, CRTT, 37 Bd de l'université, 44 602 Saint-Nazaire	
Collaborateur(s) : nom, prénom	Organisme / Direction / Service, laboratoire	
Travaux universitaires :	discipline :	
diplôme :	année de soutenance :	
établissement de soutenance :		
Titre du contrat de recherche : Projet COMSAUMOL Région des Pays de la Loire	n° de contrat IFREMER Convention n°2007-09812 Convention n°07/5 210 966/F Contrat n°08/1217146/NF Convention n°07/2.210 541/F Convention n°07/2.210 540/F Arrêté n°07/5 210 964/F Arrêté n°07/5 210 963/F	
Région Basse-Normandie Région Bretagne Région Languedoc-Roussillon		
Organisme commanditaire : <u>REGIONS</u> Pays de la Loire, Normandie, Languedoc-Roussillon, Bretagne, Poitou-Charentes		
Organisme(s) réalisateur(s) :		
<ul style="list-style-type: none"> • IFREMER, AGSAE, LGP Station expérimentale, Polder des champs, 85 230 Bouin • IFREMER, EMP PHYC Rue de l'île d'Yeu, 44 311 Nantes • IFREMER, STBM Rue de l'île d'Yeu, 44 311 Nantes • Université de Nantes, LEMNA- Lab. d'écon. et de manag. de Nantes Atlantique, BP 52 231, 44 322 Nantes Cedex 3 • GEPEA, UMR CNRS 6144, CRTT, 37 Bd de l'université, 44 602 Saint Nazaire IFREMER 		
Responsables scientifiques : Joël HAURE (Ifremer) et Pascal JAOUEN		
Cadre de la recherche :		
Programme : OCEAN ET SANTE	Convention :	
Projet : COMSAUMOL	Autres (préciser) :	
Campagne océanographique : (nom de campagne, année, nom du navire)		

SOMMAIRE

Introduction et objectifs du sujet	4
1. Etat de l'art	7
2. Résultats	14
<u>2.1 Atelier 1 : Qualité de l'eau</u>	14
2.1.1 Comment s'opère la contamination de la masse d'eau ?	
2.1.2 Quels procédés de traitement de l'eau permettraient de détruire ou éliminer les cellules toxiques ?	
<u>2.2 Atelier 2 : Procédé de sauvegarde, qualité du bivalve</u>	35
2.2.1 Etudes préalables	
2.2.2 Essais de sauvegarde	
2.2.3 Modélisation de la sauvegarde de l'huître creuse <i>Crassostrea gigas</i>	
<u>2.3 Atelier 3 : Procédé de détoxification</u>	52
2.3.1 Facteurs présumés déterminants in situ	
2.3.2 Historique de la contamination (testé sur PSP/Huîtres)	
2.3.3 Procédés physico-chimiques : traitement par l'ozone de mollusques contaminés DSP	
2.3.4 Procédés physico-chimiques : traitement par le peroxyde d'hydrogène de mollusques contaminés DSP	
2.3.5 Décontamination de moules contenant des dinophysistoxines par ajout de lécithine	
2.3.6 Procédés biologiques reposant sur l'ingestion de particules alimentaires	
<u>2.4 Atelier 4 : Aspects technico-économiques</u>	69
2.4.1 Méthodologie : typologie des entreprises conchyliques et analyse coûts bénéfiques	
A. La typologie des entreprises	
B. Enseignements à tirer pour COMSAUMOL	
C. Les scénarios étudiés	
2.4.2 Les résultats	
A. La sauvegarde en système semi-fermé	
B. La sauvegarde par stockage hors d'eau	
C. La filtration	
3. Conclusions et perspectives	83
Références citées	89

Introduction et objectifs du projet

La contamination des denrées d'origine marine par des toxines algales (phycotoxines) a pris depuis quelques années une importance considérable. Ce phénomène est largement lié à l'augmentation du nombre de zones géographiques touchées ainsi qu'à la diversification des espèces toxigènes et à l'identification de nouveaux composés toxiques. Les données épidémiologiques sont cependant encore peu nombreuses car elles sont liées à la mise en place de contrôles systématiques récents.

L'Union Européenne a établi un Laboratoire Communautaire de référence pour les phycotoxines, situé à Vigo (Espagne) qui coordonne les activités des laboratoires Nationaux de références correspondants (en France c'est le LNR Phycotoxines de l'AFSSA qui assure cette mission). C'est sur la base des travaux des LNR que des seuils sanitaires ont pu être établis en 2002 pour chaque composant du groupe des phycotoxines liposolubles (Acide okadaïque, DTXs, YTXs, PTXs et AZAs). Par ailleurs, alors que récemment encore cette hypothèse relevait de l'utopie, des méthodes de détection / quantification chimique multitoxines basées sur la spectrométrie de masse électrospray couplée avec de la chromatographie liquide permettent déjà de déterminer simultanément dans le plancton marin les toxines paralysantes (PSP) diarrhéiques (DSP) ou amnésiantes (ASP).

En ce qui concerne la réduction du risque consommateur vis à vis des coquillages contaminés, des développements technologiques sont nécessaires à moyen terme pour i) anticiper le risque de contamination des coquillages par exemple en cartographiant la répartition des kystes des dinoflagellés toxiques, ii) mieux connaître les schémas de contamination des chaînes alimentaires et leur variabilité spatio-temporelle.

La présence de phycotoxines dans les bivalves et autres produits marins consommables, est devenue un réel problème sanitaire à l'échelle mondiale. Ce problème a, en outre, été largement amplifié ces dernières décennies, par la dissémination des espèces productrices de toxines, les principales voies connues étant le transport des cellules toxiques enkystées dans les eaux de ballast des bateaux et le transfert des coquillages contaminés d'une zone à une autre (ou d'un pays à l'autre). L'élimination des espèces toxiques introduites dans le milieu marin n'étant pas possible, les solutions curatives n'existent pas réellement.

L'importance des réseaux de surveillance est cruciale, pour prévenir les risques d'intoxications des consommateurs, et maintenir une veille sur l'évolution de ces phénomènes. Lorsque des mollusques bivalves sont contaminés de façon durable on ne peut recourir, à ce jour, à aucun traitement pour les détoxifier à une échelle industrielle ou semi industrielle.

Voilà pourquoi le transfert préventif de coquillages non contaminés dans des zones ou des installations à terre 'protégées' des algues toxiques est actuellement un enjeu majeur de la gestion des zones conchylicoles. C'est le premier des objectifs du projet COMSAUMOL.

Pour satisfaire les besoins de sauvegarde de bivalves sains durant les périodes d'efflorescence toxique il est nécessaire de mettre au point des procédés peu gourmands en eau de mer et équipés de systèmes de filtration efficaces garantissant l'innocuité des approvisionnements en eau de mer.

Parallèlement à la sauvegarde, il est indispensable de définir des procédés de détoxification rapide qui autorisent l'approvisionnement des marchés. Ces procédés peuvent reposer sur une détoxification 'biologique', utilisant des cultures d'algues non toxiques pour favoriser l'élimination rapide des algues toxiques contenues dans le tractus digestif des bivalves, ou des procédés physico-chimiques qui restent encore à définir. Cet objectif représente une des orientations majeures du projet COMSAUMOL.

Pour mémoire, il est à rappeler que les événements toxiques entraînent des mesures préfectorales d'interdiction de vente et sont la cause de graves préjudices économiques pour la profession conchylicole. Les jours de fermeture de vente de coquillages, tous bassins producteurs confondus, peuvent s'étendre de 250 à plus de 2500 jours par an comme l'indique la figure 1.

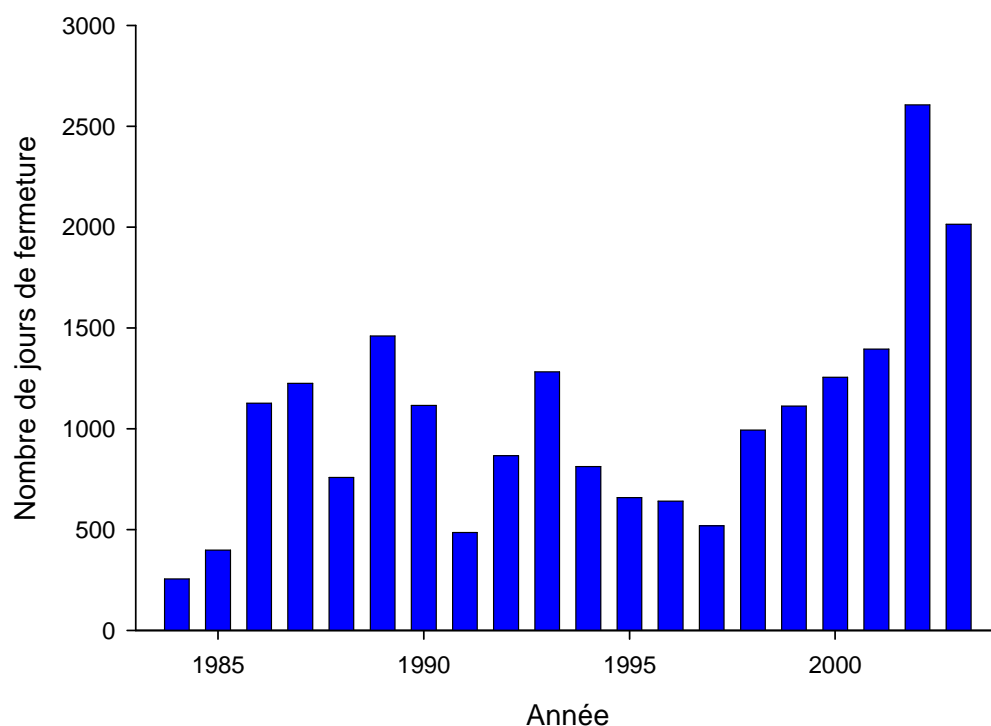


Figure 1 : Nombre de jours de fermeture totalisé à l'échelle nationale suite à la prolifération d'algues toxiques. (À partir des données de C. Belin).

L'étude COMSAUMOL a débuté en janvier 2008 après avoir reçu l'approbation du COSTE (Comité d'Orientation Scientifique et Technique) et le soutien des Régions Normandie, Bretagne, Pays de la Loire, Poitou-Charentes et Languedoc Roussillon. Elle s'est déroulée sur 3 années, jusqu'à la fin 2010. Ce travail est le fruit d'une collaboration entre l'Ifremer et l'Université de Nantes.

L'objectif principal de ce projet est la conceptualisation, l'optimisation et la réalisation de procédés à terre autorisant la poursuite de la commercialisation de bivalves (huîtres et moules) de taille marchande malgré les efflorescences de micro algues toxiques qui font l'objet d'arrêtés préfectoraux d'interdiction de ventes de mollusques bivalves. Les micro algues toxiques qui ont été ciblées, sont celles que l'on rencontre le plus souvent de manière récurrente, à savoir les espèces de type *Dinophysis* (productrices de toxines DSP), et *Alexandrium* (productrice de toxines PSP).

Cette étude s'articule autour de 4 parties distinctes et complémentaires :

- 1) **Qualité de l'eau** : Procédés de filtration pour garantir l'innocuité des eaux entrantes et sortantes, des systèmes « refuges » élaborés à terre, vis-à-vis des micro algues toxiques,
- 2) **Qualité du bivalve** : Conception de bassin re-circulés à terre, sauvegarde en eau et hors d'eau,

- 3) **Procédés de décontamination** : Etude de la cinétique de décontamination en fonction des modes d'alimentation (quantité et qualité),
- 4) **Etude technico-économique** : Evaluation de l'intérêt économique des procédés pour les conchyliculteurs.

1. Etat de l'art

Les microalgues toxiques

La contamination des coquillages par les biotoxines : risques et mesures de protection

La contamination des denrées d'origine marine par des toxines algales (phycotoxines) a pris depuis quelques années une importance considérable. Ce phénomène est largement lié à l'augmentation du nombre de zones géographiques touchées ainsi qu'à la diversification des espèces toxigènes et à l'identification de nouveaux composés toxiques. Les données épidémiologiques sont cependant encore peu nombreuses, car elles sont liées à la mise en place de contrôles systématiques récents.

L'Union Européenne a établi un Laboratoire Communautaire de référence pour les phycotoxines, situé à Vigo (Espagne) et coordonnant les activités des laboratoires Nationaux de références correspondants (en France c'est le LNR Phycotoxines de l'ANSES qui assure cette mission). C'est sur la base des travaux des LNR que des seuils sanitaires ont pu être établis dès 2002 pour chaque composant du groupe des phycotoxines liposolubles (Acide okadaïque, DTXs, YTXs, PTXs et AZAs). Par ailleurs, des méthodes de détection / quantification chimique multitoxines basées sur la spectrométrie de masse couplée avec de la chromatographie liquide ont été récemment développées et permettent de quantifier dans la chair des mollusques bivalves l'ensemble des toxines lipophiles.

En ce qui concerne la réduction du risque consommateur vis à vis des coquillages contaminés, des développements technologiques sont nécessaires à moyen terme pour i) anticiper le risque de contamination des coquillages par exemple en cartographiant la répartition des kystes des dinoflagellés toxiques, ii) mieux connaître les schémas de contamination des chaînes alimentaires et leur variabilité spatio-temporelle.

La présence de phycotoxines dans les mollusques bivalves et autres produits marins consommables, est devenue un réel problème sanitaire à l'échelle mondiale. Ce problème a, en outre, été largement amplifié ces dernières décennies, par la dissémination des espèces productrices de toxines. Les principales voies de dissémination connues des cellules

toxiques sont les eaux de ballast des navires de commerce et les transferts / importations de coquillages vivants. L'élimination des espèces toxiques introduites dans le milieu marin n'étant pas possible, les solutions curatives n'existent pas réellement. L'importance des réseaux de surveillance est donc cruciale, pour prévenir les risques d'intoxications des consommateurs, et pour maintenir une veille sur l'évolution de ces phénomènes. Lorsque des mollusques sont contaminés de façon durable on ne peut recourir, à ce jour, à aucun traitement pour les détoxifier à une échelle industrielle ou semi-industrielle. Parmi les nombreux procédés mis en œuvre pour réduire le taux de toxines accumulées, le plus simple consiste à transférer les coquillages en zone salubre pour qu'ils s'auto-épurent ou à déplacer verticalement les bivalves dans la colonne d'eau. Cependant ces méthodes ne sont pas exemptes de risque en matière de contamination d'une zone saine par des kystes ou des cellules végétatives provenant des excréments des bivalves transférés. Si certaines études ont conclu à une bonne efficacité de l'ozone comme inactivateur des toxines paralysantes contenues dans les coquillages contaminés, des résultats contradictoires ont été obtenus dans d'autres études et la procédure reste encore controversée aujourd'hui. Le transfert préventif de coquillages non contaminés dans des zones ou des installations à terre 'protégées' des algues toxiques est actuellement un enjeu majeur de la gestion des zones conchylicoles. Cet enjeu est le premier des objectifs du projet COMSAUMOL.

En dehors des traitements sur coquillage vivant il semblerait que dans le cas des toxines paralysantes (PSP) des procédés de cuisson industrielle dans une solution à pH alcalin, couplés avec le retrait des viscères, permettraient de réduire la toxicité en dessous du seuil sanitaire indépendamment du profil toxinique ou de la teneur initiale en toxines.

Dans le cas des toxines amnésiantes (ASP) des modificatifs de la directive 92/491 permettent de procéder, dans certaines conditions, à l'éviscération des pectinidés contenant de l'acide domoïque et de commercialiser les parties saines.

Toutes ces méthodes sont cependant à considérer avec précaution et nécessitent de rapporter à chaque fois les résultats obtenus au niveau initial de toxicité avant traitement. Il convient évidemment de prendre en compte le coût du procédé et le degré de modification des qualités gustatives du produit après traitement. Des procédés de détoxification 'biologiques' utilisant des cultures d'algues non toxiques pour favoriser l'élimination rapide des algues toxiques contenues dans le tractus digestif des bivalves doivent être considérés parallèlement à des procédés physico-chimiques qui restent encore à définir. Cet objectif représente la deuxième orientation majeure du projet COMSAUMOL.

L'état de la question des algues toxiques et de la contamination des mollusques bivalves en France

Le réseau de surveillance du phytoplancton et des phycotoxines (REPHY) a été créé par l'Ifremer en 1984, suite à l'observation sur les côtes bretonnes, en 1983 et 1984, de nombreuses intoxications de type diarrhéique chez les consommateurs de coquillages. Ces intoxications avaient pour origine le développement dans le milieu littoral de *Dinophysis*, phytoplancton ayant la propriété de produire des toxines diarrhéiques.

Le REPHY est un réseau national dont la couverture est assurée par huit laboratoires côtiers (sur douze implantations), qui se partagent le littoral français. Ses objectifs sont à la fois environnementaux et sanitaires :

- la connaissance de la biomasse, de l'abondance et de la composition du phytoplancton marin des eaux côtières et lagunaires, qui recouvre notamment celle de la distribution spatio-temporelle des différentes espèces phytoplanctoniques, le recensement des efflorescences exceptionnelles telles que les eaux colorées ou les développements d'espèces toxiques ou nuisibles susceptibles d'affecter l'écosystème, ainsi que du contexte hydrologique afférent ;
- la détection et le suivi des espèces phytoplanctoniques productrices de toxines susceptibles de s'accumuler dans les produits marins de consommation ou de contribuer à d'autres formes d'exposition dangereuse pour la santé humaine et la recherche de ces toxines dans les mollusques bivalves présents dans les zones de production ou dans les gisements naturels.

Dans le cadre de ses objectifs sanitaires, le REPHY a pour mission de surveiller les coquillages dans leur milieu naturel, c'est à dire dans les zones de production (parcs, bouchots, etc) ou dans les zones de pêche professionnelle (gisements). Pour les coquillages sortis du milieu marin (c'est à dire dans les établissements d'expédition conchylicoles, sur les marchés, avant l'exportation), le relais est pris par le Plan de Surveillance géré par la Direction Générale de l'Alimentation (DGAL) du ministère de l'Agriculture et mis en œuvre par les Services Vétérinaires.

Dans les deux cas, les analyses sont effectuées par des laboratoires agréés par le ministère de l'Agriculture : laboratoires Ifremer pour les échantillons REPHY, laboratoires vétérinaires pour les échantillons du Plan DGAL. Tous ces laboratoires sont encadrés par le Laboratoire National de Référence, de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (<http://www.afssa.fr>). Les méthodes utilisées sont les méthodes officielles d'analyse prévues

par le règlement (CE) n°2074/2005, recommandées au niveau communautaire et en accord avec les autorités françaises.

En France, les risques pour la santé humaine sont actuellement associés à trois familles de phycotoxines : toxines lipophiles incluant les toxines diarrhéiques (dites toxines DSP pour Diarrheic Shellfish Poison), toxines paralysantes (dites toxines PSP pour Paralytic Shellfish Poison), toxines amnésiantes (dites toxines ASP pour Amnesic Shellfish Poison), plus une famille de toxines émergentes, les palytoxines.

Ces familles de toxines sont majoritairement liées au développement des groupes d'espèces phytoplanctoniques suivants : *Dinophysis* pour les toxines lipophiles, *Alexandrium* pour les toxines paralysantes, *Pseudo-nitzschia* pour les toxines amnésiantes, *Ostreopsis* pour les palytoxines.

Les **toxines diarrhéiques** appartenant à la famille des toxines lipophiles peuvent provoquer chez le consommateur de coquillages contaminés, une intoxication dont les effets apparaissent moins de douze heures après ingestion. Les principaux symptômes sont des diarrhées, des douleurs abdominales et parfois des nausées et vomissements. Les toxines étant stables à la chaleur, la cuisson des coquillages ne diminue pas leur toxicité. Les moules sont le principal vecteur des toxines diarrhéiques, dans la mesure où elles se contaminent plus vite que les autres coquillages, mais tous les bivalves (tels que les huîtres, coques, palourdes, donaces, coquilles St Jacques, etc.) peuvent également devenir toxiques. Le décalage systématiquement observé entre la contamination des moules et des autres coquillages permet d'utiliser les moules comme espèces sentinelles.

Lors des épisodes de toxicité DSP avérée, les concentrations dans l'eau de *Dinophysis* sont généralement faibles : une centaine à quelques milliers de cellules par litre. Plus généralement, les épisodes de toxicité lipophile, incluant des événements non associés à la présence de *Dinophysis*, et conduisant à des interdictions de vente des coquillages, affectent régulièrement une partie importante du littoral français, en particulier dans les régions Normandie, Bretagne, Languedoc-Roussillon et Corse. Ils sont généralement observés en été en Manche, au printemps et en été en Atlantique, toute l'année en Méditerranée.

Les **toxines paralysantes** peuvent provoquer chez le consommateur de coquillages contaminés, une intoxication dont les effets apparaissent en moins de trente minutes. Les symptômes recouvrent (I) en cas d'intoxication faible, des fourmillements des extrémités, des picotements et un engourdissement autour des lèvres, des vertiges et nausées, (II) en cas d'intoxication modérée, une extension des picotements suivie d'une incoordination motrice et

d'un pouls rapide, (III) en cas d'intoxication forte, une paralysie accompagnée de troubles respiratoires. Les cas les plus graves peuvent être mortels. Les toxines étant stables à la chaleur, la cuisson des coquillages ne diminue pas leur toxicité. En France, diverses espèces de bivalves ont pu servir de vecteur pour les toxines PSP comme les moules, les huîtres, les coques et les palourdes.

L'espèce *Alexandrium minutum* a été identifiée pour la première fois en 1988 en Bretagne nord-ouest, dans les Abers. Elle a proliféré régulièrement jusqu'en 2003 sur la côte de Bretagne nord (Abers, baie de Morlaix et Rance), avec des concentrations généralement élevées, (quelques dizaines à quelques centaines de milliers de cellules par litre, formant parfois des eaux rouges) et conduisant à des épisodes de toxicité PSP en fin de printemps et en été. La toxicité maximale observée dans les moules en 1995 était de 10 000 µg/kg (le seuil de sécurité sanitaire est fixé à 800 µg par kg de chair). Depuis 2003, les concentrations d'*Alexandrium minutum* sont restées faibles et aucun épisode de toxicité PSP n'a été observé dans cette région.

Le groupe d'espèces *Alexandrium catenella* / *A. tamarense* a été observé pour la première fois en quantité importante en novembre et décembre 1998 dans l'étang de Thau, sur la côte ouest méditerranéenne. Des proliférations avec des épisodes de toxicité PSP sont observés de façon assez régulière dans cet étang en hiver (1999, 2001, 2003, 2004, 2007), avec une toxicité maximale observée de 6200 µg/kg dans les moules en 2004.

Les **toxines amnésiantes** peuvent provoquer chez le consommateur une intoxication dont les effets apparaissent dans les 24 à 48 heures, éventuellement en moins d'une heure. Les symptômes sont en premier lieu des troubles digestifs (nausées, vomissements, crampes abdominales), puis des troubles neurologiques (céphalées, troubles de la mémoire), et dans les cas graves, convulsions et coma. Les toxines étant stables à la chaleur, la cuisson des coquillages ne diminue pas leur toxicité. De nombreux coquillages sont vecteurs des toxines amnésiantes, mais en France les coquilles St Jacques sont particulièrement touchées.

Des proliférations importantes d'espèces non toxiques de *Pseudo-nitzschia* sont observées depuis longtemps sur l'ensemble du littoral français, en particulier au printemps. Cependant, des espèces potentiellement toxiques (telles que *P. pseudodelicatissima* et *P. multiseriis*) avaient été détectées dans différentes régions à des concentrations faibles, jusqu'en mai 2000 où le développement plus important de l'une des ces espèces a conduit à la présence de toxines amnésiantes (ASP) dans les coquillages de la mer d'Iroise et de la baie de Douarnenez (Bretagne ouest). Depuis cette date, des épisodes de toxicité ASP ont tout particulièrement affecté les coquilles St Jacques de la baie de Seine (2004 et 2005), et de la

rade de Brest (2004, 2005, 2007 et 2008), mais aussi des gisements de Bretagne sud, avec dans tous les cas une durée de contamination/décontamination extrêmement longue (pouvant aller jusqu'à plusieurs mois). D'autres coquillages (moules, donaces, palourdes) ont également été touchés, sur les côtes de Bretagne et du Languedoc Roussillon. La toxicité maximale a été relevée en 2007 dans des coquilles St Jacques de la rade de Brest : 183 mg/kg (sachant que le seuil de sécurité sanitaire est de 20 mg par kg de chair).

Les **palytoxines** ont été observées pour la première fois en 2008 dans des oursins de la côte de Méditerranée orientale, suite à des efflorescences d'une espèce de microalgue benthique appartenant au genre *Ostreopsis*. Ces toxines sont particulièrement connues pour avoir des effets nuisibles sous la forme d'aérosols : problèmes respiratoires et d'irritations cutanées pour les baigneurs ou promeneurs. Elles peuvent également s'accumuler dans les produits de consommation, bien que le nombre de cas recensés dans le monde soit très faible. Une surveillance expérimentale est donc assurée sur le littoral méditerranéen depuis 2006.

Vecteurs planctoniques	Concentrations cellulaires déclenchant une alerte	Mode d'action des toxines chez l'homme	Familles de toxines	Seuils internationaux de consommabilité
<i>Alexandrium spp</i> , <i>Gymnodinium catenatum</i> , <i>Pyrodinium bahamense</i>	5000 à 10000 cellules L ⁻¹	Paralysant (neurotoxique)	PSP	800 µg eq STX Kg ⁻¹ de chair
<i>Dinophysis spp</i> , <i>Prorocentrum spp</i> (seulement les épiphytes)	présence	Diarrhéique	DSP	160 µg eq AO Kg ⁻¹ de chair
<i>Karenia brevis</i>	?	Neurotoxique	NSP	800 µg Kg ⁻¹ de chair
<i>Pseudo-nitzschia spp</i>	100 000 L ⁻¹	Amnésiant (neurotoxique)	ASP	20000µg Kg ⁻¹ de chair

Tableau 1 : Résumé des caractéristiques des principales microalgues toxiques représentant un risque pour le consommateur de coquillages

Les systèmes en eau re-circulée pour le stockage des mollusques bivalves

Les circuits recyclés pour l'élevage des poissons ont fait l'objet de nombreuses recherches, en eau douce comme en eau de mer (Blancheton *et al.*, 2002; Chen *et al.*, 2006; Gutierrez-

Wing and Malone, 2006; Losordo *et al.*, 1999). Mais les travaux sur les systèmes recyclés appliqués à la culture des mollusques bivalves ont été très peu nombreux. Dans une étude préalable au démarrage du projet COMSAUMOL une synthèse bibliographique a été effectuée par Ifremer-Bouin (Hussenot, 2006), et seulement 13 références de publications internationales ont été retrouvées pour la période 1976-2006.

Les raisons en sont multiples : (i) les élevages de bivalves sont pratiqués en mer et non à terre, mis à part le pré-grossissement des juvéniles d'écloserie, (ii) la nourriture apportée au bivalve est généralement une microalgue vivante, de faible densité qui est transportée par le courant d'eau, et non une matière inerte comme les aliments composés utilisés dans les élevages de poissons ou crustacés.

Il s'en suit une certaine difficulté pour assurer en même temps (i) l'alimentation du bivalve, et (ii) le traitement de l'eau re-circulée. Il est en effet nécessaire de nourrir les bivalves avec, au moins, une ration de maintien (et non de croissance) et, dans le même temps, de traiter l'eau du système pour lui conserver une qualité permettant de garantir à la fois la qualité sanitaire et la qualité gustative du bivalve. De plus il faut produire en permanence les microalgues fourrages nécessaires à son alimentation.

Les raisons qui n'ont pas permis de mettre au point des systèmes recyclés adaptés aux cultures de bivalve ont probablement plusieurs origines. La complexité biotechnologique en est une mais la motivation économique en est probablement une autre. Les bivalves cultivés dans des sites naturels permettent dans beaucoup de cas des croissances rapides, avec des coûts de production raisonnables. Il a été montré que le grossissement intensif à terre en circuit ouvert n'est économiquement pas viable. Le serait-il en circuit recyclé ?

D'autre part, le consommateur d'huîtres, de moules, ou de palourdes, a une image de ce type de denrée correspondant davantage à un produit de pêche qu'à un produit d'élevage. Le producteur n'est donc pas tenté de développer outre mesure des procédés applicables à la culture des bivalves. Il s'est limité effectivement à ce jour au stade de la reproduction (écloserie) et à celui du pré-grossissement (nursérie), et toujours dans des systèmes non recyclés. Il pourrait en être autrement dans l'avenir, si le risque de consommer (ou plutôt de ne pas consommer) des coquillages provenant de zones de plus en plus souvent contaminées, grandissait encore. Un contrôle renforcé de l'élevage ou du stockage avec apport de nourriture saine avant la vente, pourrait alors être considéré comme rassurant pour le consommateur. En outre la pression foncière sur les zones littorales milite pour l'installation de lotissements conchylicoles modernes en retrait de la côte pour lesquels les systèmes en eau re-circulée pourraient constituer une solution intéressante.

Les premières recherches remontent à une trentaine d'années. L'objectif de Epifanio et Mootz (1976) était de cultiver des huîtres jusqu'à la taille marchande en circuit recyclé, mais

ce fut un échec, malgré des études sur la pathologie du coquillage en circuit recyclé (Epifanio *et al.*, 1975). Un peu plus tard, Thielker (1981) eut plus de succès dans un circuit très original, recyclé à 77%. Le volet « culture de microalgues » qui représentait 80% du volume total, faisait partie intégrante du circuit, et participait à l'épuration des métabolites. L'apport des algues dans les bacs d'élevage s'effectuait 2 fois par 24 heures avec une séquence de nourrissage (9h/12h) alternant avec une séquence de traitement de l'eau (3h/12h) utilisant un écumeur, un filtre à sable et un filtre à diatomées. Thielker eut cependant des difficultés dans la production des microalgues car celle-ci était tributaire des variations saisonnières de température et d'insolation. Aujourd'hui, les circuits re-circulés pour mollusques bivalves sont encore très peu développés, et se limitent le plus souvent à des systèmes de stockage ou d'épuration de coquillages (Zhu and Chen, 2001), où les animaux sont immergés sur des périodes courtes, ce qui ne nécessite donc pas d'apports de nourriture dans le système.

Les conclusions de l'étude sur la sauvegarde des bivalves (Hussenot, 2006) proposaient d'engager des recherches pour la mise en place d'un circuit re-circulé avec une ration alimentaire de maintien. Les principaux points évoqués étaient les suivants :

- ✓ développer un système recyclé simple, transférable à la profession, comportant un traitement par écumage comme base de traitement,
- ✓ adopter une température de régulation de l'eau de mer du circuit, limitant les mortalités et les risques de ponte des huîtres diploïdes (sauvegarde sur Arcachon),
- ✓ faire varier la charge en élevage (biomasse en huîtres), le volume total d'eau du système, la vitesse de re-circulation, le pourcentage d'eau neuve apportée, pour connaître les limites du système, et proposer des dimensionnements optimisés,
- ✓ ne traiter l'azote ammoniacal que si nécessaire par un filtre biologique approprié qui laisserait passer la nourriture distribuée (microalgues) ou par des cycles alternatifs de nourrissage et de traitement,
- ✓ choisir un système de production en masse de microalgues adapté aux besoins du système recyclé développé.

2. Résultats

2.1 Atelier 1 : Qualité de l'eau

2.1.1 Comment s'opère la contamination de la masse d'eau ?

Les modalités de contamination des bivalves commerciaux par des phycotoxines dépendent de nombreux facteurs, principalement liés aux conditions environnementales mais aussi à la physiologie du coquillage. En amont de ce processus il est important de connaître la biodisponibilité respective des toxines d'algues à l'état particulaire (dans la cellule algale ou adsorbées sur des débris cellulaires) ou à l'état dissous (après rupture des parois cellulaires de l'algue toxique). Dans un premier temps il est donc utile de s'intéresser à la capacité de survie d'une algue toxique selon les conditions environnementales. Deux cas de figure vont être pertinents par rapport aux objectifs de COMSAUMOL : i) la survie des cellules pendant et après transit intestinal du coquillage (capacité de contaminer une zone saine après transfert) et ii) la survie des cellules après passage sur un filtre d'installation aquacole, type filtre à sable.

La survie cellulaire au transit intestinal a été largement étudiée pour les *Alexandrium* producteurs de PSP dans le cadre du Programme National d'Environnement Côtier (PNEC) au travers d'une action thématique de recherche coordonnée par l'Université de Montpellier et à laquelle ont participé des membres Ifremer du programme COMSAUMOL. De ces travaux il apparaît clairement : i) la survie élevée (entre 74 et 94 %) des kystes et des cellules végétatives d'*Alexandrium minutum* et *A. catenella* après transit intestinal dans des huîtres et des moules. Ces cellules sont capables de se multiplier à nouveau et donc de contaminer une zone initialement saine après transfert de coquillages (Laabir *et al*, 2007), ii) des temps de transit très variables dans les tractus digestifs d'huîtres et moules, selon les espèces considérées. Ainsi, pour *A. minutum* et *A. catenella* il faut plus de 6 heures de nutrition forcée avec une microalgue non toxique (fourrage) pour éliminer totalement les cellules toxiques du tractus digestif. En revanche des cellules toxiques de *Pseudo-nitzschia calliantha* (producteur de toxines ASP) sont détruites rapidement par les enzymes digestives du coquillage et ne se retrouvent plus dans les excréments (fèces) au bout de 2 heures (Gueguen *et al*, 2008). Dans ce cas la possibilité de contamination du milieu extérieur par les fèces des toxines ASP est faible à nulle (pas de kystes, lyse rapide des cellules).

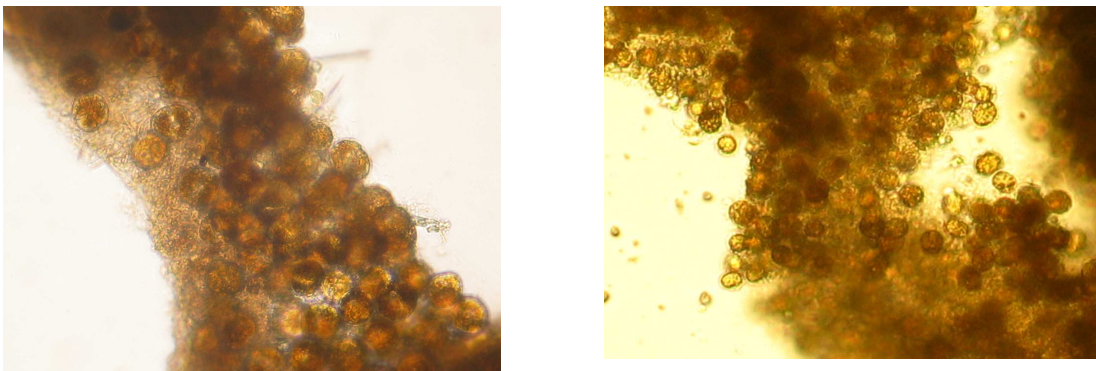


Fig. 2 : Fèces de *Crassostrea gigas* nourrie avec *A. minutum* (à gauche) ou *A. catenella* (à droite) et contenant des kystes pelliculaires entiers (Laabir *et al*, 2007)

D'autres travaux ont été réalisés sur la survie des cellules de *Dinophysis*, producteur de toxines DSP, au transit stomacal et intestinal, principalement dans les moules. Des observations microscopiques réalisées sur des glandes digestives de moules de Normandie et de Bretagne Sud dès les contaminations de 1983 avaient déjà révélé une rapide et forte dégradation des parois cellulaires des *Dinophysis* (Paulmier et Joly, 1985). Des observations du même type ont été récemment réalisées sur des moules norvégiennes dans le cadre d'un projet de coopération 'Aurora'. Les estomacs de moules placés dans une eau très concentrée en *Dinophysis acuta* et *D. acuminata* ne révèlent aucune cellule entière, et seules des 'demi-thèques' sont observables. L'incubation d'un concentré de cellules de *Dinophysis* avec un contenu stomacal de moules confirme « in vitro » ces observations : en une heure les cellules des *Dinophysis* sont dégradées sous l'effet des enzymes digestives (Gueguen *et al*, 2008, données non publiées). Des équipes italiennes (Sidari *et al*, 1998) avaient par ailleurs noté, en ce qui concerne les moules d'Adriatique ayant ingéré des *Dinophysis sacculus*, que les valves cellulaires s'ouvraient rapidement avec une extrusion du contenu cellulaire. Ces auteurs observaient, par ailleurs, une préférence alimentaire des moules pour les cellules de *Dinophysis*. En conclusion on peut déduire de ces résultats que le risque de contaminer une zone aquacole indemne par transplantation de moules contaminées DSP est hautement improbable (pas de kyste, digestion rapide des cellules).

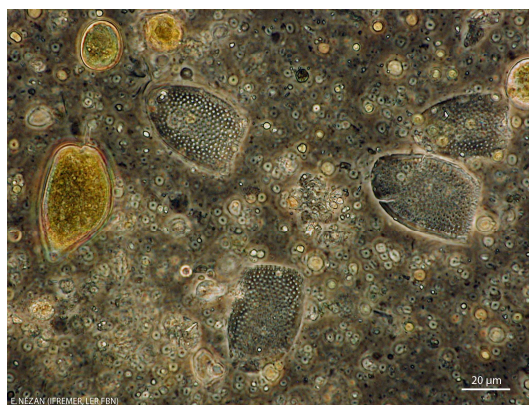


Fig. 3 : contenu stomacal de moules contenant des cellules entières de *Prorocentrum micans* et des valves vides de *Dinophysis acuminata*. Microphotographie en contraste de phase aimablement fournie par Elisabeth Nezan (Ifremer Concarneau)

La stabilité des toxines dans l'eau après rupture des parois cellulaires des algues : il y a peu de données disponibles dans la littérature sur la stabilité des toxines extra-cellulaires au cours d'une prolifération microalgale. Les observations comparent plus volontiers les différences de toxicité globale et de profils toxiques entre plusieurs efflorescences. De même, il y a peu de travaux sur les proportions respectives de toxines intra- et extracellulaires produites lors des proliférations microalgales. Dans un travail très récent (Lefebvre *et al*, 2008) et pour des toxines paralysantes (PSP) il est montré que ces deux sources de toxines co-existent dans des proportions appréciables à la fois lors d'un bloom

d'*Alexandrium* spp et dans les cultures réalisées à partir de cette prolifération. Des travaux identiques avaient été commencés par Ifremer en 2004, lors d'un bloom d'*A.minutum* en Penzé.

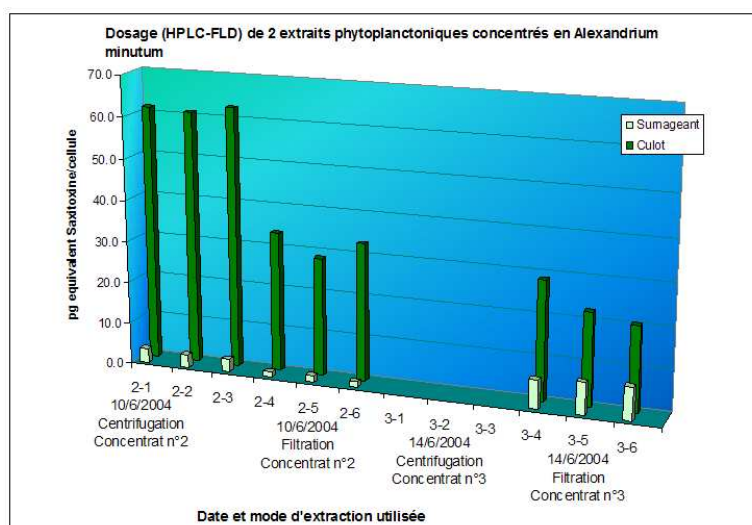


Fig 4 : Dosage des toxines PSP présentes dans le surnageant et dans le culot de centrifugation de prélèvements d'eau en Penzé lors d'un bloom d'*A.minutum* en juin 2004.

Des analyses réalisées lors d'une prolifération d'*A.minutum* en estuaire de Penzé (Mondeguer, 2004, données non publiées) montrent la présence de toxines dans la phase soluble (surnageant) dans des proportions croissantes en fin de prolifération. Les effets biologiques des toxines paralysantes sous forme dissoute sont encore mal connus. D'après la littérature internationale il y a clairement des effets sur les stades larvaires de poissons (Lefebvre *et al*, 2004 ; 2008) mais on ne connaît pas la biodisponibilité de ces toxines pour les mollusques bivalves.

Selon les toxines considérées deux types d'approche expérimentale ont donc été utilisées : i) pour les toxines PSP la quantification par analyse chimique en CL/SM-SM a été réalisée pendant 10 à 15 jours sur des composés toxiques introduits en eau de mer soit sous forme de standards purifiés, soit à partir de lysats de cellules en culture, ii) pour les toxines DSP des capteurs passifs en résine de type SPAT ont été introduits dans des bacs contenant des moules contaminées DSP (travaux réalisés dans le cadre du projet européen BIOTOX).

Résultats sur la stabilité des toxines PSP :

Afin de vérifier la stabilité des toxines paralysantes à l'état libre, trois milieux différents (50 ml) ont été dopés par des étalons de toxines représentatifs de cette famille de toxines :

- milieu 1 : eau de mer non filtrée provenant de St Malo à un pH déterminé pour suivre la stabilité des toxines dans des conditions proches du milieu naturel ;

- milieu 2 : eau de mer synthétique (« Instant Ocean » d' Aquarium system) afin d'évaluer indirectement d'éventuels effets de certains constituants de l'eau de mer naturelle (par exemple les micro-organismes)
 - milieu 3 : solution aqueuse constituée d'un tampon d'acide acétique/acétate de sodium 0,1 M (pH = 8,1, valeur de pH d'eau de mer) pour évaluer l'influence uniquement du pH.
- En dehors d'une légère diminution des isomères GTX-2/3, on constate pour les autres toxines paralysantes testées un forte stabilité au cours des quinze jours d'observation (100 % de STX et plus de 80.% des GTX2/3). Les toxines introduites à l'état de standard purifié restent donc stables en solution).

Dans une autre expérience des cultures d'*Alexandrium minutum* ont subi différents traitements afin de casser les parois cellulaires (centrifugation, ultra-sons) et de libérer dans l'eau des toxines dissoutes que ce soit sous forme libre ou attachée aux débris cellulaires... trois milieux différents ont été testés :

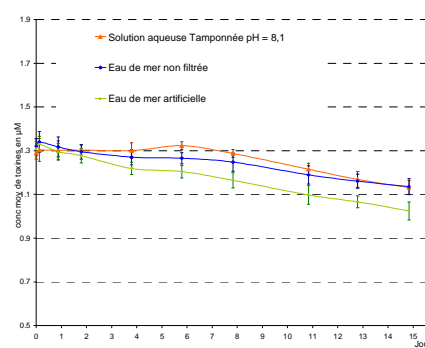
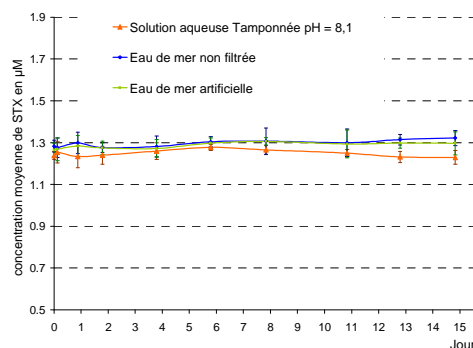
milieu 1 : cultures sur milieu nutritif L1

milieu 2 : eau de mer seule et dopage avec STX

milieu 3 : filtration sur 10 KD pour enlever les grosses protéines

On ne note pas de différences entre ces différents milieux à part un développement bactérien et une modification du pH pour le milieu filtré sur 10 KD. On note par ailleurs une forte stabilité des toxines GTX2/3 en eau de mer brute sur 15 jours.

Les toxines dissoutes représenteraient ainsi une source potentielle de contamination pour les mollusques bivalves si une rétention ou une fixation par les branchies était confirmée. Il faut pour cela évaluer la biodisponibilité de ces toxines à l'état dissous pour des bivalves filtreurs.



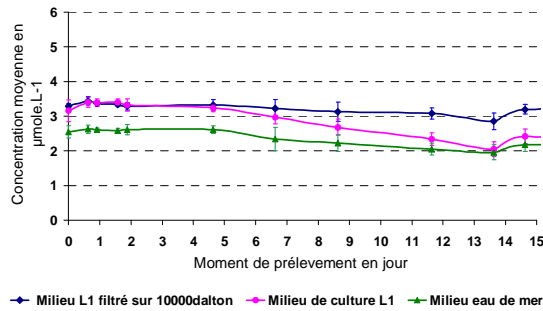


Fig. 5 : Stabilité comparée des STX et des gonyautoxines en eau de mer, à partir d'étalons purifiés des toxines (graphiques supérieurs) et à partir de cellules toxiques lysées (graphique inférieur)

Résultats sur la stabilité des toxines DSP

L'analyse par voie chimique (CL/SMn) des excréments (fèces) de moules contaminées DSP au cours d'une détoxification expérimentale en conditions 'nourries' et 'non nourries' montre que les toxines DSP sont éliminées continuellement dans les fèces au cours des 15 premiers jours et que cette élimination est plus rapide dans les bacs sans nourriture. Pour les DSP qui auraient pu être éliminées à l'état soluble, un capteur passif de type 'SPAT' a été mis au point, en s'appuyant sur une publication néo-zélandaise, et en utilisant des cultures de *Prorocentrum lima* (à défaut de *Dinophysis* non cultivable), comme source potentielle de toxines diarrhéiques (AO et dérivés). Le principe s'appuie sur celui des capteurs passifs largement utilisés pour les contaminants chimiques, la partie active étant constituée d'une résine polymère sur laquelle viennent s'adsorber les toxines en suspension dans l'eau. Après une étape d'extraction de la résine, les toxines récupérées sont analysées. L'étude de faisabilité a montré la linéarité de l'adsorption et la reproductibilité de la technique.

Les SPAT ont été testés lors de deux expériences de décontamination DSP de moules provenant de Kervoyal (Baie de Vilaine) en 2006 et 2007, dans le cadre du projet européen BIOTOX. Les résultats diffèrent sensiblement d'une expérience à l'autre :

- en 2006 aucune toxine DSP, même à l'état de trace, n'avait pu être détectée dans les sacs de résine
- en 2007, malgré une forte variabilité entre replicats, on ne constatait pas sur les 21 jours de détoxification DSP d'augmentation de la quantité d'acide okadaïque (en ng par sachet SPAT). Cette observation pourrait signifier : i) soit que le débit du circuit interférait avec l'adsorption des toxines dissoutes, ii) soit que la majorité des toxines dissoutes aient été émises dans l'eau les premiers jours de la détoxification.

Quoi qu'il en soit, des toxines DSP sous forme dissoute ont bien été détectées, dans ce deuxième essai, à partir de moules naturellement contaminées.

Résultats sur la biodisponibilité des toxines PSP

Des moules de taille commerciale ont été placées en circuit fermé dans des bacs cylindro-coniques aérés par un système d'air-lift. Plusieurs traitements ont été réalisés : i) mise en contact avec une culture du dinoflagellé toxique *Alexandrium minutum* (témoin toxique), ii) à concentration cellulaire équivalente d'*A.minutum*, mise en contact soit avec les fragments cellulaires après lyse (Lysat) , soit avec les toxines dissoutes après lyse. Dans ce dernier cas deux possibilités ont été évaluées : uniquement les toxines PSP à l'état dissous (surnageant 1) ou la phase dissoute en présence d'un ajout de cellules phytoplanctoniques non toxiques (*Skeletonema costatum*) afin de vérifier la possibilité d'une adsorption des PSP sur des particules alimentaires (surnageant 2). Enfin, iii) : mise en contact des moules avec un témoin non toxique (*S.costatum*).

La toxicité des cellules d'*A.minutum* produites en photobioréacteur de 100 L était de 1 pg eq STX cellule⁻¹. Le profil toxinique des cultures était dominé par : GTX2, GTX3, dc-GTX2, et dc-GTX3. Afin d'obtenir des concentrations suffisantes de toxines paralysantes en phase de contamination et d'élimination le choix a été fait de réaliser les analyses sur la glande digestive des mollusques, organe qui totalise plus de 80 % de la toxicité globale de la chair des mollusques contaminés par des PSP. Le profil toxinique des glandes digestives contaminées pendant 15 jours était le suivant : GTX1, GTX2, GTX3, dc-GTX2, et dc-GTX3

En ce qui concerne l'accumulation de toxines dans les GD des moules exposées au témoin toxique, on constate (Figure 6) un maximum de 298 µg eq STX 100g⁻¹ en 8 jours. En revanche on n'observe pas d'accumulation décelable pour Surnageant 2 et Lysat tandis qu'une très faible bioaccumulation (6 µg eq STX 100g⁻¹) est détectée dans les GD des moules exposées au Surnageant 1.

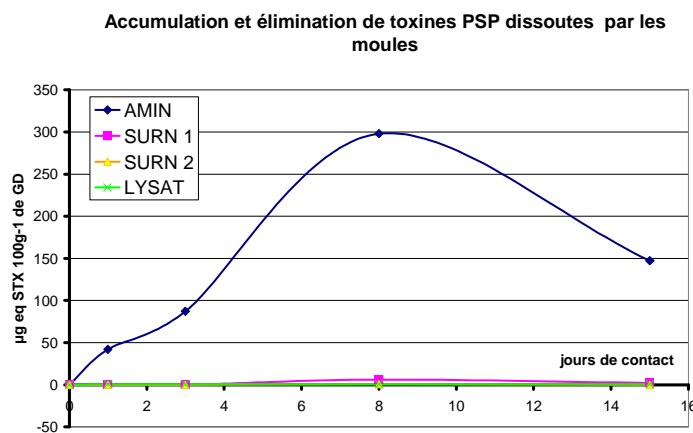


Figure 6 : Evolution des concentrations toxiques dans les glandes digestives des moules, selon le traitement. AMIN : témoin toxique avec cultures d'*A.minutum*, SURN 1 : surnageant parés filtration de scultures, auquel on rajoute le surnageant de centrifugation des culots, après passage aux ultra-sons,

SURN 2 : surnageant de filtration des cultures et ajout de *Skeletonema costatum*, LYSAT : débris cellulaires d'*A.minutum* après passage des cellules aux ultra-sons et récupération du surnageant de centrifugation

Pour ce qui est de l'évolution des toxines dissoutes il semble (figure 7) qu'il y ait une majorité de dcGTX3, surtout en fin d'expérience (3 décembre). Les concentrations en GTX3 sont du même ordre de grandeur en début et en fin d'expérience tandis que la dcGTX3 augmente dans les deux surnageants en fin d'essai, au bout de 15 jours. Ces observations ne vont pas dans le sens d'une « consommation » des toxines dissoutes par les mollusques.

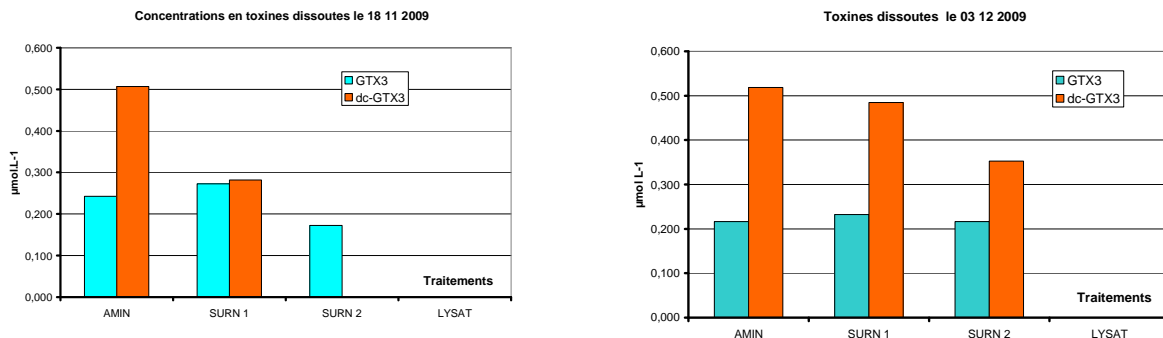


Figure 7 : profils toxiques des toxines dissoutes à J0 et à J15

Si l'on considère l'évolution de la toxicité des toxines dissoutes exprimée en $\mu\text{g eq STX L}^{-1}$ on a une concentration identique à J0 et à J15 pour le témoin toxique (respectivement 195.1 et 191.5 $\mu\text{g eq STX L}^{-1}$), une légère augmentation pour le surnageant 1 (143.4 à J0 et 186.8 à J15) tandis que l'on a une augmentation plus élevée et difficile à expliquer pour le surnageant 2 (passage de 43.3 à 147.8 $\mu\text{g eq STX L}^{-1}$). Au cours des 15 jours de mise en contact le poids sec moyen des moules, quels que soient les traitements subis, était compris entre 0.29 ± 0.08 g et 0.32 ± 0.09 g soit des indices de condition compris entre 10.6 et 11.5. Par ailleurs, en 15 jours la mortalité des moules n'a pas dépassé 4 % du poids total par bac, quel que soit le traitement ce qui atteste d'une absence de modification significative de l'état de la population sur la durée de l'expérience.

La culture d'*A.minutum* en bioréacteur atteignait 153 120 cellules ml^{-1} au moment de son utilisation. Le bac témoin 'toxique' d'*A.minutum* contenait 91 520 cellules mL^{-1} en début d'expérience mais au bout de 24 H la concentration cellulaire était descendue à 3 260 cellules mL^{-1} du fait de la filtration par les moules et de la sédimentation.

Une extraction des protéines puis analyse SDS-PAGE par migration sur gel d'acrylamide à 12.5 % a été réalisée sur les glandes digestives des moules, selon le traitement et la durée de l'expérience et par rapport au profil protéique du témoin non toxique. Des différences significatives sont observées mais doivent être analysées en fonction des résultats

toxicologiques et avec une identification des protéines impliquées (enzymes, protéines de stress, etc...)

Résultats sur la biodisponibilité des toxines DSP

Les toxines diarrhéiques ayant été détectées directement dans la colonne d'eau, la question de leur rôle dans la contamination des bivalves a été posée. Cette question est d'autant plus pertinente que l'hypothèse d'une utilisation de l'eau de mer naturelle filtrée pour maintenir des coquillages sains à terre est à l'étude.

Une expérience préliminaire a été conduite en février 2009 pour mettre en évidence l'état de la contamination de moules exposées à trois phases toxiques différentes réalisées à partir d'une culture de *Prorocentrum lima* (dinoflagellé producteur de toxines de la famille de l'acide okadaïque ou AO). Les trois modalités ont été l'exposition dans la culture vivante, dans le lysat et dans le filtrat de cette même culture. Les résultats ont montré que la contamination par les toxines en suspension ou dissoutes dans l'eau est bien plus faible que celle mesurée dans le cas où les moules sont en contact avec les cellules vivantes (Figure 8)

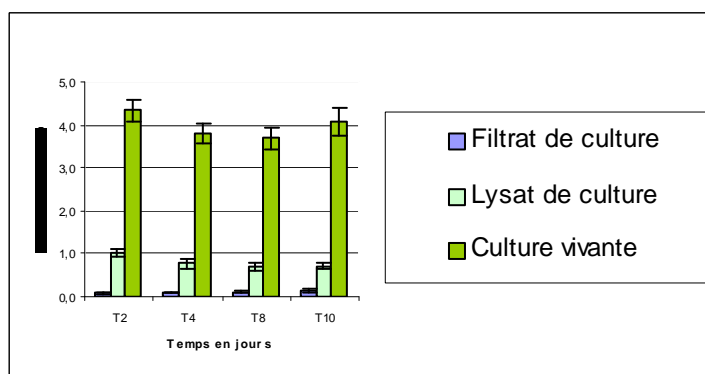


Fig.8 : Contamination sur 10 jours de moules exposées à 3 phases contenant des toxines diarrhéiques.

Conclusions

Il peut être déduit des observations concernant l'excrétion de moules ayant consommé différentes espèces toxiques que le risque de contaminer une zone aquacole indemne par transplantation de ces mollusques bivalves est i) hautement improbable (pas de kyste, digestion rapide des cellules) en cas de contamination DSP par des *Dinophysis spp.*, ii) très peu probable en cas de contamination par des *Pseudo-nitzschia* productrices d'ASP s'il s'agit de cellules 'fines', iii) tout à fait probable en cas de consommation d'*Alexandrium spp* producteurs de toxines PSP.

Par ailleurs, en ce qui concerne le risque lié aux toxines relarguées sous forme soluble à partir de cellules toxiques détruites par les systèmes de filtration des bassins de stockage il apparaît qu'aussi bien les PSP que les DSP sont stables en eau de mer pendant plus d'une

semaine. En revanche ces toxines ne sont que très peu ou pas du tout accumulables sous cette forme par des mollusques bivalves comme les moules.

2.1.2 Quels procédés de traitement de l'eau permettraient de détruire ou éliminer les cellules toxiques ?

Rappel des objectifs :

Les études expérimentales, menées dans le cadre du programme COMSAUMOL, devaient permettre d'évaluer la faisabilité d'une mise en place de procédés de filtration d'eau de mer afin d'alimenter les systèmes fermés d'élevage de coquillages en eau de mer exempte de micro-algues toxiques.

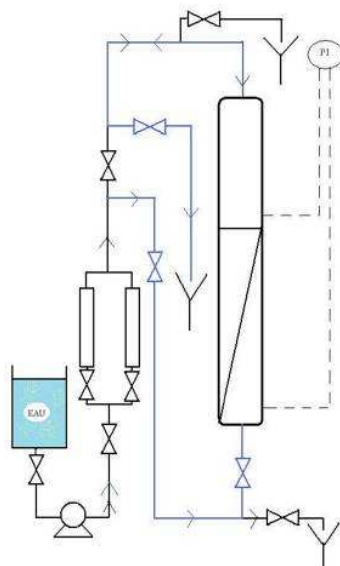
Matériel et méthodes :

Les procédés de filtration :

Filtration à l'échelle du laboratoire :

Deux procédés de filtration ont été étudiés : (i) le filtre à sable, procédé de filtration en profondeur, et (ii) les membranes immergées fibres creuses, procédé de filtration en surface (figure 9).

(a)



(b)

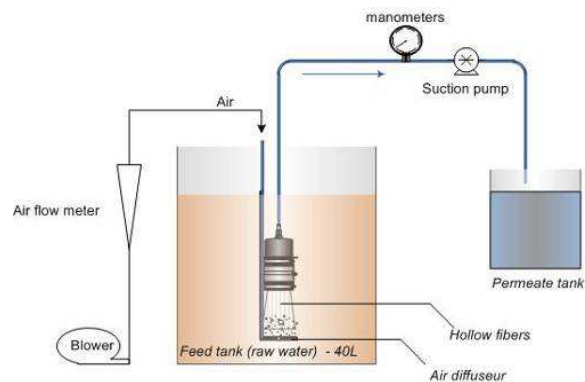


Figure 9 : Unité pilote de filtration : le filtre à sable (a) et le procédé de filtration par membranes immergées (b).

Au cours des essais réalisés sur le filtre à sable, le débit d'alimentation du filtre a été fixé à 10 L/h pendant une durée de filtration de 6 à 8h. Ce débit correspond à une vitesse de filtration proche de celle rencontrée à l'échelle industrielle (Mouchet P., 2000; Zheng *et al.*, 2009).

L'ensemble des essais de filtration par membranes a été réalisé avec un débit d'air sous les membranes de 250 L/h et une pression transmembranaire de 0,30 bar durant 180 minutes (condition opératoires proches des optima rencontrés pour ce type de procédé : Pulefou *et al.*, 2008; Visvanathan *et al.*, 2003; Visvanathan *et al.*, 2008).

Filtration à l'échelle pré-industrielle :

Plusieurs technologies de filtration ont été évaluées seuls ou couplées: les filtres à poche, à cartouche, double couche, à membranes. La méthodologie utilisée pour tester les unités a été la même dans tous les cas : débit d'alimentation des filtres égal à 2 m³/h, turbidité et concentration en *H. triquetra* égaux respectivement à 5 NTU et 1000 cellules/mL.

Les eaux d'alimentation :

Deux principaux dinoflagellés sont à l'origine des événements toxiques, *Dinophysis sp.* et *Alexandrium sp.*. Leur caractère toxique rend leur manipulation expérimentale délicate. Sur un plan méthodologique, afin de permettre la reproduction artificielle de blooms en laboratoire tout en s'affranchissant des contraintes liées aux toxines, une microalgue « leurre » a été utilisée pour simuler le comportement des microalgues toxiques. L'espèce leurre *Heterocapsa triquetra* a été choisie en raison de ses similarités morphologiques et dimensionnelles avec la microalgue toxique *Alexandrium sp* (figure 10). Ce dinoflagellé faisant parti des plus petites espèces toxiques, sa rétention par le procédé de filtration engendrera de facto la rétention des autres espèces.

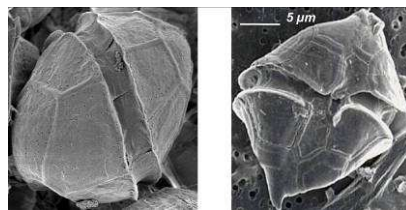


Figure 10: Observation MEB de *A. minutum* (à gauche) et de *H.triquetra* (à droite):

Les cultures ont été réalisées sur le site d'IFREMER Nantes et Bouin. A partir des cultures mères, des suspensions de 30 000 Cell/mL sont préparées ; les dilutions sont effectuées avec une eau contenant 35 g/L de NaCl. Cette concentration correspond à une marée rouge

naturelle importante d' *H. triquetra* (Lindholm and Nummelin, 1999) et d'*A. minutum* (REPHY : donnée du réseau de surveillance du phytoplancton, 1992)].

A l'instar de *Dinophysis*, *Prorocentrum lima* est un dinoflagellé toxique connu pour produire des DSP. De forme et de taille supérieure à *Alexandrium*, *P. lima* a été choisie pour évaluer les performances des membranes immergées fibres creuses pour la microfiltration des dinoflagellés présentant les caractéristiques biologiques suivantes : forme allongée, ovoïdale, taille comprise entre 20 et 50 µm et produisant de fortes quantités de mucilage. Les cultures d'*Alexandrium minutum* et de *Prorocentrum lima* ont été réalisées à IFREMER Nantes puis utilisées pour les essais de microfiltration.

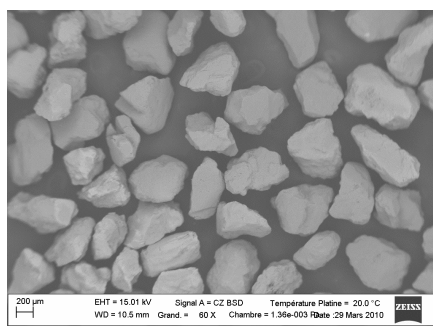
Résultats :

Filtration à l'échelle du laboratoire :

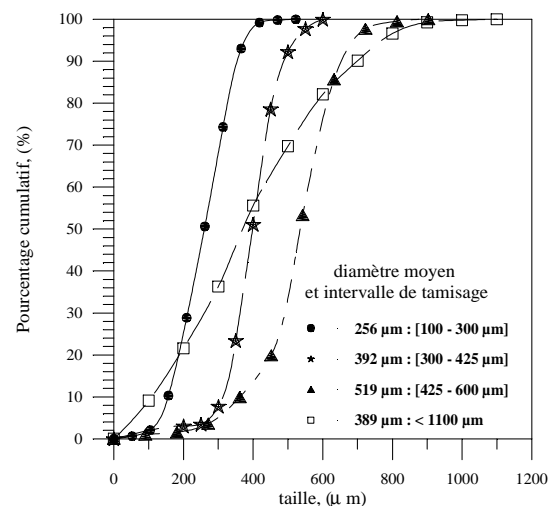
Filtration sur sable :

Analyse d'images et caractéristiques géométriques du sable

La distribution de taille de 4 sables, ainsi que le facteur de circularité ont été étudiés par analyse d'images en 2D. La circularité est définie comme le rapport de la longueur du périmètre (P) de la projection du grain au carré, divisée par la surface (A) (ie, $C = P^2 / A$). Il s'agit d'un nombre sans dimension avec une valeur minimale de 4π (12.57) pour une forme circulaire (la valeur de 16 correspond à une forme carrée et la valeur 20,78 à un triangle équilatéral). Le sable utilisé a une circularité comprise entre 14 et 21 avec une valeur moyenne voisine de 16. Ainsi, les grains de sable sont comme le montre l'image au MEB (Figure 11), non-sphériques avec une forme pseudo-cubique.



A



B

Figure 11: (A) Images de grains de sable au MEB - (B) Distribution de taille représentative du sable.

Le tableau 2 regroupe les résultats obtenus avec l'analyse d'images des différents sables.

Sable	$d_{g \text{ min}} (\mu\text{m})$	$d_{g \text{ max}} (\mu\text{m})$	$d_{g \text{ mean}} (\mu\text{m})$
1	38	599	392
2	36	849	519
3	21	1018	389
4	26		256

Tableau 2 : Caractéristiques géométriques du sable obtenues par analyse d'images.

Caractérisation hydrodynamique du filtre propre :

Quel que soit le mécanisme de filtration, la détermination de ses performances exige une connaissance du média filtrant et de ses propriétés. L'objectif principal de cette partie du travail consiste à obtenir les caractéristiques du milieu poreux tels que la surface spécifique, la perméabilité, le facteur de tortuosité, et le diamètre moyen des pores.

Ces paramètres structuraux du milieu filtrant ont été obtenus à partir des mesures de chute de pression en fonction du débit lors de l'écoulement de l'eau à travers des lits fixes constitués par les différents sables, et l'utilisation d'un modèle prédictif existant dans la littérature [F11]. La figure 12 présente les mesures de gradient de pression effectuées pour l'obtention des paramètres de structure après application du modèle.

Pour chaque sable, on a effectué 3 séries de mesures de chutes de pression dans des lits de même porosité ($\epsilon=0.43$) fabriqués indépendamment. Pour l'ensemble des points correspondant à un même type de lit fixe, on adopte la représentation :

$$\frac{\Delta P}{H} = N' u_0 + M' u_0^2$$

u_0 étant la vitesse superficielle (m/s) et H la hauteur du garnissage (m).

On détermine par régression linéaire les paramètres N' et M', et par identification avec le modèle, on obtient les valeurs du facteur de tortuosité et de la surface spécifique.

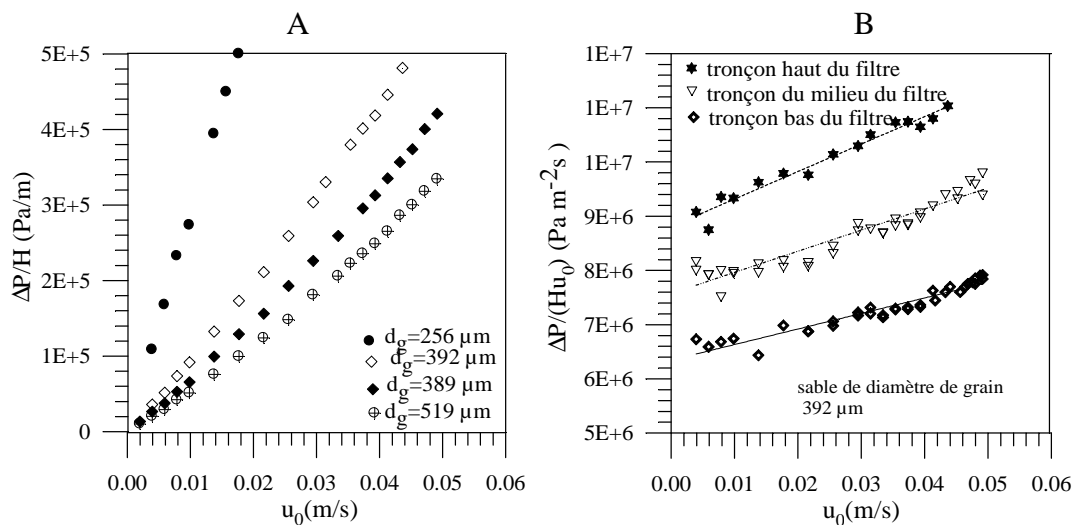


Figure 12 : (A) Gradient de pression en fonction de la vitesse superficielle pour l'ensemble des sables utilisés - (B) Gradient de pression par unité de vitesse pour les trois tronçons du lit d'un même sable.

Les principaux résultats de cette caractérisation sont présentés dans le tableau 3 :

Tronçon	d_g (μm) et classe	Tortuosité (τ)	Surface spécifique a_{vd} (m^{-1})	Diamètre moyen du pore (μm)	Perméabilité K (m^2)
Bas du filtre	392	1.26	26149	130	9,1 x 10 ⁻¹¹
Milieu du filtre	38 - 599	1.42	25365	134	
Haut du filtre		1.56	24893	137	
Bas du filtre	518	1.54	15365	221	12,4 x 10 ⁻¹¹
Milieu du filtre	36 - 849	1.58	17041	200	
Haut du filtre		1.53	18942	180	
Bas du filtre	389	1.56	15085	225	15,5 x 10 ⁻¹¹
Milieu du filtre	21 - 1018	1.51	18740	182	
Haut du filtre		1.52	21905	155	
Bas du filtre	256	1.50	36742	93	5,50 x 10 ⁻¹¹
Milieu du filtre	26 - 496	1.50	40041	85	4,63 x 10 ⁻¹¹
Haut du filtre		1.50	50419	68	3,51 x 10 ⁻¹¹

Tableau 3 : Paramètres de structures des différents garnissages étudiés.

Les valeurs du facteur de tortuosité obtenues ne varient pas beaucoup en fonction de la distribution de taille du sable. La valeur moyenne expérimentale de la tortuosité est $\tau = 1,52$. On constate que le sable de diamètre moyen 389 μm a la même surface spécifique dynamique que le sable 518 μm alors que la taille moyenne des grains est plus petite. Cela est probablement lié à la distribution de taille assez étendue de ce sable (389 μm). Pour le reste, la valeur de la surface spécifique dynamique augmente lorsque le diamètre moyen des grains diminue, ce qui est cohérent si l'on applique la définition classique de la surface spécifique de grain pour des particules sphériques $a_g = 6/d_g$. Pour l'ensemble des sables étudiés, les pores présentent un diamètre moyen compris entre 68 et 225 μm . La valeur moyenne du diamètre de pores obtenue pour chacun des sables est supérieure à 68 μm donc assez élevée par rapport à la taille des micro-algues à retenir (10-25 μm).

Filtration et évaluation des performances

La performance du filtre au cours du temps pour tous les sables étudiés est présentée sur figure 13. La concentration de micro-algues et la turbidité dans le filtrat sont présentés dans le tableau 3. Pour une filtration réalisée avec les sables de diamètre moyen supérieur à 350 μm sur un lit d'épaisseur $H=1$ m, et un débit d'alimentation correspondant à une vitesse

superficielle d'environ 3,5 (m³/m²/h), c'est-à-dire une vitesse proche de celle classiquement fixée sur des installations industrielles, l'efficacité d'élimination après deux heures est comprise entre 70 et 99% selon la granulométrie du sable (diamètre moyen et distribution). Après six heures de filtration, la rétention des micro-algues est égale à 52%, 45% et 40% pour les sables de diamètre moyen égal respectivement à 392 µm, 519 µm et 389 µm. Les résultats obtenus avec les sables de diamètre moyen supérieur à 350 µm mettent en évidence un entraînement des micro-algues (Figure 13) dans le filtrat avec une augmentation de la concentration de particules à la sortie du filtre durant le temps de filtration. Nous remarquons d'une part que, pour le sable avec un diamètre moyen égal à 389 µm, l'efficacité est plus faible que le sable avec un diamètre moyen égal à 392 µm. Pour ces deux sables de même diamètre moyen, le ratio (dmax / dmin) est égal à 48 pour dg = 389 µm et 15 pour dg = 392µm. Cela est dû à la différence existant dans la distribution de taille, le premier étant simplement tamisé en dessous de 1100 µm alors que le second est tamisée entre 300 à 425 µm. D'autre part, pour le sable de diamètre moyen égal à 389 µm, l'évolution de l'efficacité est presque similaire à celle du sable (519 µm). Cela est cohérent avec les résultats de la caractérisation (Tableau 3) du média filtrant qui ont montré pour ces deux sables des ouvertures de pore de même diamètre. Ces résultats montrent l'influence de la distribution de taille des grains sur la distribution des pores.

Afin de vérifier l'amélioration de la rétention avec un sable plus fin, nous avons choisi d'employer un sable préalablement tamisé entre 100 µm à 300 µm. Les résultats obtenus montrent que près de 90% des micro-algues sont éliminés au bout de six heures de filtration. La distribution de la taille de ce sable correspond à des pores de diamètre moyen inférieur à 100 µm.

Taille moyenne (µm) et classe	392 (38-599) (H=1 m)		392 (38-599) (H=30 cm)		519 (36-849) (H=1 m)		256 (26-496) (H=40 cm)		389 (20-1018) (H=1 m)	
	E	NTU	E	NTU	E	NTU	E	NTU	E	NTU
0	1.00	8.73	1.00	11.77	1.00	8.73	1.00	14.07	1.00	\
60	1.00	0.69	0.87	2.81	0.97	0.95	1.00	0.37	0.95	0.91
120	0.99	0.85	0.58	4.92	0.71	2.39	0.99	0.26	0.86	1.35
180	0.94	1.00	0.46	5.81	0.68	1.82	1.00	0.45	0.70	2.36
240	0.76	2.10	0.41	6.14	0.58	2.90	1.00	0.87	0.52	3.31
300	\	\	\	\	0.49	3.55	0.99	1.25	0.45	3.68
360	0.52	3.58	0.41	6.10	0.45	3.92	0.96	1.25	0.40	4.40
420	0.41	4.49	\	\	\	\	0.89	1.83	\	\

Tableau 4 : Valeurs de l'efficacité du filtre et de la turbidité (NTU) du filtrat au cours du cycle de filtration.

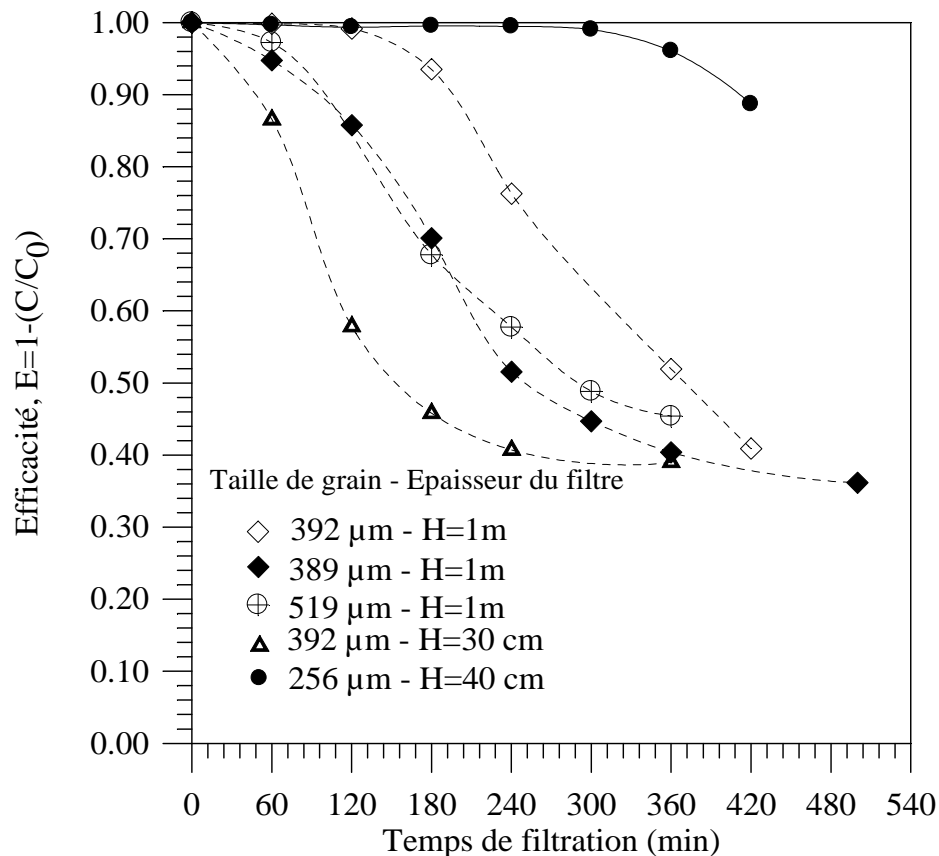


Figure 13 : Evolution de l'efficacité en fonction du temps de filtration pour les différents sables étudiés.

Conclusion

Ces résultats permettent d'envisager le filtre à sable comme un moyen de réduire à 90% - voire à éliminer- la présence de micro algues dans l'eau de mer avant d'alimenter les bassins d'aquaculture. Pour cette application, on peut prévoir des lignes directrices de conception suivantes :

Pour renouveler l'eau d'un bassin de 50 m³ pendant 5 heures, le débit minimum nécessaire est de 10 m³/h dans le pire des cas (c'est à dire lorsque le filtre est saturé). Si la vitesse de l'eau dans le filtre est fixé à 3.5 m/h, la section minimale du filtre est de 2,86 m² et son diamètre est de 1.9 m. Le sable doit avoir une distribution granulométrique comprise entre 100 et 300 µm et la pression limite dans le filtre doit être estimée à 1 bar pour un garnissage d'épaisseur 90 cm. La consommation d'énergie dépend de la durée de fonctionnement. Si la perte de pression totale dans les tuyaux est estimée à 2 bars, la pompe devrait assurer une pression minimale de 3 bars pour un débit de 10 m³/h lorsque le filtre est saturé. Pour une

efficacité de la pompe de 54% (scénario le pire), la puissance utile absorbée par l'arbre du moteur est de 1,55 kW. La puissance nominale du moteur doit être supérieur ou égal à cette valeur. Si le moteur fonctionne à 83% de sa puissance nominale, la consommation d'électricité sera de 1,94 kWh. Cela correspond à 0,2 kWh par m³ d'eau filtrée. Ces valeurs pourraient être utilisées pour évaluer la consommation annuelle d'électricité.

Cette étude sur le filtre à sable a fait l'objet d'un article « Performance of a sand filter in removal of micro-algae from seawater in aquaculture production systems », N. E. Sabiri *et al.* sous presse dans « Environmental Technology ».

[F11] J. Comiti, and M. Renaud, A new model for determining mean structure parameters of fixed beds from pressure drop measurements: application to beds packed with parallelepipedal particles, Chemical Engineering Science 44 (1989), pp. 1539-1545.

Filtration membranaire :

-Les premières expériences ont permis de sélectionner la membrane la plus adaptée à la filtration d'eau de mer, parmi trois membranes de seuil de coupure égal à 10kDa, 300kDa et 0,2µm. Des filtrations (PTM=0,3 bar et un débit d'air de 250 L/h) d'une culture d'*H. triquetra* de 30 000 cellules par millilitre ont été réalisées sur ces trois membranes, en l'absence de rétrolavage. **La membrane de seuil de coupure égal à 0,2 µm était la plus adaptée: abattements de plus de 99 % en microalgues, 90% en Matière En Suspension (MES), 97 % en turbidité et de près de 75 % en Carbone Organique Total (COT) pour une consommation énergétique spécifique inférieure à 1 kWh.m⁻³.**

Ces Résultats ont fait l'objet d'une publication (Castaing *et al.*, 2010 - Desalination, Vol. 253 pp 71-77).

- Afin de valider la faisabilité d'extrapolation des résultats obtenus à partir d'une suspension d'*H. triquetra* (microalgue leurre), à une suspension d'*A. minutum* (microalgue toxique), cette dernière a également été microfiltrée à 0,2 µm sur des membranes immergées de configuration fibres creuses. La comparaison des expériences a été effectuée dans les mêmes conditions opératoires : microfiltration à 0,3 bar d'une suspension dont la concentration en microalgues est égale à 30 000 cellules par millilitre. Le flux de perméat stabilisé a été de 15 à 16 L.h⁻¹.m⁻² pour la suspension d'*A. minutum* contre 26 à 29 L.h⁻¹.m⁻² pour la suspension d'*H. triquetra* (Figure 3). La suspension d'*H. triquetra* ne permet donc pas de décrire parfaitement le comportement de la microfiltration d'*A. minutum* : les propriétés de surface des deux microalgues peuvent être différentes de même que les caractéristiques du milieu dissous. La différence de flux observée entre les deux microfiltrations (*H. triquetra* et

A. minutum) peut notamment être expliquée par les différences de concentration en Carbone Organique Dissous (COD) dans la suspension à filtrer (6,3 mgC/L pour *A. minutum* et 3,3 mgC/L pour *H.triquetra*). **Les flux de perméat obtenus restent toutefois dans la gamme des flux de perméat classiquement trouvés pour de l'Ultrafiltration / Microfiltration. Au travers de ces expériences, il a été également démontré que 99% des microalgues d'*A. minutum* ont été retenus ; 99%, 94%, 66% pour respectivement la turbidité, les MES et le COT.**

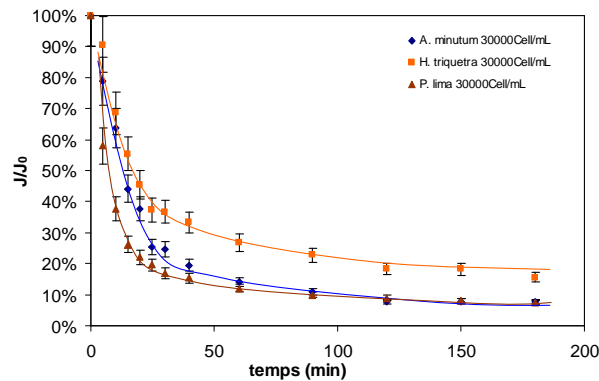


Figure 14 : Flux de perméat relatifs pour les filtrations des trois espèces de dinoflagellés (*H.triquetra*, *A. minutum* et *P. lima*)

- Afin d'évaluer l'influence de la forme, de la taille et du type de cellules microalgales sur la filtration, des suspensions à 30 000 cell/mL de *Prorocentrum lima*, dinoflagellé benthique de grande taille (25 à 45 μm), ont également été microfiltrées. **Les rétentions en *Prorocentrum lima* étaient de plus de 99%**, de plus de 75 % en COT et de plus de 46% en COD. **Le flux de perméat stabilisé était de 15-16 $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$** (Figure 14).

- Les analyses MEB et EDX des membranes colmatées ont montré la présence d'un colmatage irréversible d'origine organique dans chaque filtration effectuée (*H.triquetra*, *A. minutum* et *P. lima* à 30 000 Cellules/mL) (figure 15).

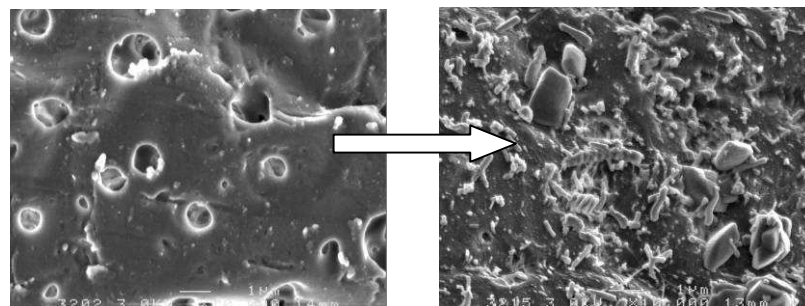


Figure 15 : Observation MEB de la surface de la membrane de microfiltration (0,2 μm) avant (à gauche) et après (à droite) microfiltration de *P. lima*.

L'évaluation des indices de colmatage (Hermia, 1982; Schippers and Verdouw, 1980) MFI (Modified Fouling Index) et PRI (Pore Reduction Index) semble indiquer **deux mécanismes de colmatage distincts intervenant au cours des filtrations.**

1- Un **colmatage de type « blocage des pores »** prépondérant dans les premiers moments de la filtration (t=0 à t=20'). Provoquant un colmatage généralement irréversible (Kennedy et al., 1998), ce colmatage correspond à une réduction de la taille des pores réduisant ainsi la perméabilité des membranes. Ce type de colmatage est dû aux particules de petites tailles (particules < taille des pores) et aux composés dissous de l'eau d'alimentation ayant une affinité chimique avec le matériau membranaire (phénomène d'adsorption des colloïdes et autres molécules organiques,...) (Hermia, 1982). Les observations MEB/EDX ont confirmé une obstruction partielle des pores des membranes par de petites particules et d'un « gel organique ». Calculé dans les premières 20 minutes de la filtration ce colmatage serait responsable de 55 à 78% de la perte de flux. La microfiltration de *P.lima* à 30 000 Cell/mL, espèce riche en mucilage, a présenté le colmatage de type blocage des pores le plus important. Les microfiltrations réalisées avec *A. minutum* et *H. triquetra* ont provoqué un colmatage de type blocage des pores équivalent.

2- Un **colmatage de type « gâteau »** prépondérant entre t=20' et t=180'.

Ce colmatage est principalement lié aux particules de taille supérieure à 0,2 µm. Dans le cas des microfiltrations d'*A. minutum* et de *P. lima* à 30 000 cell/mL, les gâteaux formés ont été les plus importants avec des indices de colmatage de type gâteau (MFI-MF) respectivement égaux à 10,5 et 11,7 s/L² contre 3,5 s/L² dans le cas de la microfiltration à 30 000 cell/mL d'*H.triquetra*.

La diminution des performances hydrauliques lors de la filtration de dinoflagellés n'est donc pas uniquement due aux seuls caractères morphologiques et dimensionnels des microalgues. La condition physiologique de ces dernières (mucilage, substances exsudées) et le type de composés présents dans le surnageant serait la cause principale du colmatage dans ce type de filtration. Ces résultats sont cohérents avec ceux de la littérature (Bhattacharjee S. et Seungkwan H., 2005).

-Afin d'étudier l'influence de la concentration en microalgues toxiques et de l'ajout de diatomées comme *Skeletonema costatum* (co-occurentes des dinoflagellés pendant les efflorescences naturelles) sur les performances de la microfiltration, différentes suspensions ont été microfiltrées : 30 000 et 1 000 cellules/mL d'*A. minutum* avec ajout ou non de 10 000 cellules/mL de *S. costatum* (figure 5). **Les résultats ont montré que quelle que soit la**

concentration en *A. minutum* et *S. costatum*, plus de 99% des microalgues ont été retenues. Les flux de perméat obtenus avec les concentrations élevées en *A. minutum* sont nettement inférieurs à ceux obtenus avec les plus faibles concentrations (1000 cellules/mL). La présence de diatomées provoque une baisse du flux de perméat stabilisé. Ainsi il passe de 101 à 85 L.h⁻¹.m⁻². Les analyses granulométriques ont montré que l'intégrité des cellules est préservée lors de la microfiltration : le relargage de toxines dissoutes ne sera donc, a priori, pas augmenté du fait de la microfiltration.

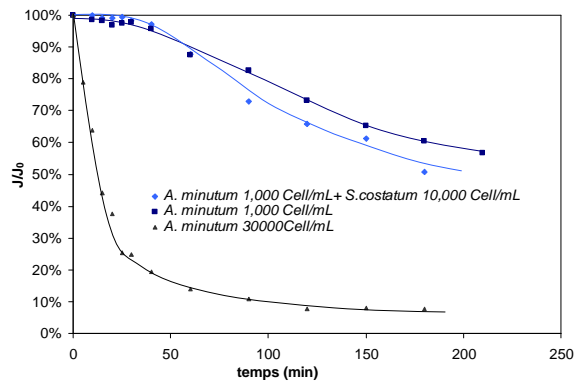


Figure 16 : Flux de perméat relatifs pour les filtrations avec *A. minutum* avec ou sans ajout de *S. costatum*.

Les Résultats présentés dans ce paragraphe ont fait l'objet d'une publication (Castaing *et al.*, 2011 – Desalination, doi :10.1016/j.desal.2011.03.081).

Filtration à l'échelle pré-industrielle :

Etude expérimentale :

Suite à une enquête que nous avons réalisée en juin 2008 (environ 50 industriels consultés), trois industriels se sont montrés intéressés pour que leur technologie soit testée (filtre à poche et/ou cartouche et/ou filtre double couche et/ou procédé membranaire). Deux des trois entreprises ont obtenu des résultats encourageants : Le premier système proposé (filtre à cartouche + filtre à poche) a permis d'obtenir une rétention en microalgues de 99%. Les MES ne sont toutefois pas totalement retenues (75% de rétention). Un deuxième procédé (membrane fibres creuses) a présenté des résultats proches de ceux obtenus avec les membranes immergées étudiées au laboratoire GEPEA : rétention de plus de 99% des microalgues et eau parfaitement clarifiée.

Cette étude nous a permis d'obtenir des premiers ordres de grandeur en matière de sélectivité et de coût pour des installations d'échelle industrielle.

Evaluation technico-économique :

Une première évaluation de la viabilité économique des procédés de traitement de l'eau de mer (filtre à sable et filtration par membranes) a été réalisée (investissement, maintenance, consommation d'énergie, nettoyage). Ces coûts sont à rajouter à ceux dus au système fermé lui-même afin d'obtenir le coût total d'un système semi-fermé d'élevage.

L'évaluation économique a été basée sur les résultats obtenus à l'échelle laboratoire et à partir des données recueillies auprès des fournisseurs de filtre à sable et procédés à membranes. **A l'issue du programme COMSAUMOL, il restera donc à confirmer les hypothèses émises pour l'analyse économique, en réalisant des filtrations sur de longues durées d'expérience avec des procédés de taille industrielle.**

A titre d'exemple, pour un procédé de filtration dimensionné pour produire $2 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ d'eau de mer, il a été trouvé un coût annuel total de $6\,100 \text{ €} \cdot \text{an}^{-1}$ pour la filtration sur membranes contre $1\,470 \text{ €} \cdot \text{an}^{-1}$ pour la filtration sur sable (Figure 17).

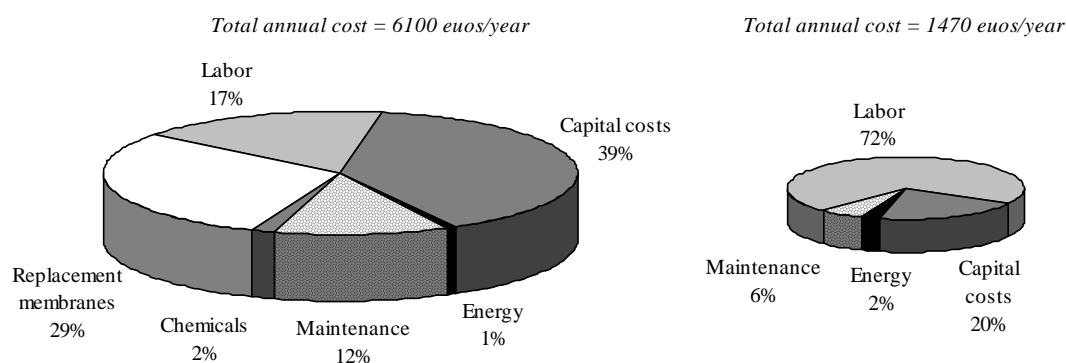


Figure 17 : Distribution des coûts et coût annuel pour un système de filtration produisant $2 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ d'eau de mer. (à gauche : filtration par membranes – à droite : filtration sur sable).

Ces coûts semblent élevés pour la profession conchylicole et notamment la filtration par membranes ; c'est toutefois la seule unité de filtration testée qui garantissait la quasi suppression des microalgues de l'eau de mer. Par ailleurs, l'investissement initial des unités de filtration par membranes pourrait probablement être diminué de 30 % dans le cas d'une production en série de telles unités. Il serait toutefois peut-être nécessaire de mutualiser, entre plusieurs professionnels, l'achat d'une unité.

2.2 Atelier 2 : Procédés de sauvegarde, qualité du bivalve

2.2.1 Etudes préalables

Influence des flux entrants sur les taux de consommation individuels de *Crassostrea gigas* en circuit fermé

L'objectif de ces essais était de chercher à modifier les taux de consommation des bivalves (ici des huîtres) pour une prise de nourriture algale plus efficace par unité de temps. Autrement dit rechercher un procédé permettant de mieux rentabiliser – pour diminuer les coûts de traitement - la production et l'utilisation d'algues fourrages au cours d'une procédure de sauvegarde ou de détoxification. Une première étape consistait à vérifier la relation entre taux de consommation et flux (vitesses linéaires) dans un circuit fermé.

Les huîtres ont été placées individuellement dans 20 boîtes d'une contenance de 850 mL environ et disposées en deux stands. Chaque stand se compose de 10 boîtes contenant chacune une huître vivante, et d'une boîte "témoin" contenant une coquille d'huître vide. Un flux circulant d'eau de mer à 16°C avec une salinité de 35 psu est maintenu de manière constante à l'intérieur d'un circuit fermé. Une concentration de *Skeletonema costatum* est maintenue à 5000 cellules par millilitre grâce à un programme de régulation développé sur LabView. Pendant l'expérience, les débits moyens variaient chaque jour dans chaque stand selon des valeurs croissantes ou décroissantes.

Pour une meilleure lecture des résultats, on convertit les débits (mL/min) en vitesse linéaire (cm/min), selon la relation :

$$\text{Débit} = \text{vitesse linéaire} \times (\text{section}_{\text{boîte}} - \text{section}_{\text{huître}})$$

	STAND 1 en mL/min	STAND 2 en mL/min		STAND 1 en cm/min	STAND 2 en cm/min
Jour 1	315	47,5	➔	8,62	1,30
Jour 2	197	103		5,40	2,83
Jour 3	101	200		2,76	5,47
Jour 4	55	295		1,50	8,07

Deux fluorimètres Turner Design permettent, pour chaque stand, de mesurer la fluorescence en sortie de boîte pendant 1 minute toutes les 11 minutes.

Au cours de l'expérience, les paramètres suivis sont : la fluorescence, les concentrations cellulaires, les quantités et compositions en matières organiques et inorganiques du seston,

des fèces et des pseudo-fèces et enfin l'activité valvaire évaluée de jour et à toutes les heures.

A partir des différences de fluorescence mesurées en continu et de la corrélation entre fluorescence et nombre de cellules il a été possible d'exprimer la quantité théorique de cellules consommées (prélevées dans le milieu). L'eau de mer ne contenant que du *S.costatum* les valeurs de POM du seston ont permis ensuite, comparées aux concentrations mesurées sur la boîte témoin, de transformer les nombres de cellules en mg par g de poids sec d'huître

Globalement, (Fig 18) lorsque le débit diminue, le taux de consommation diminue et à l'inverse, quand le débit augmente, le taux de consommation augmente également. Cependant, on observe une augmentation progressive pour des débits allant de 50 mL/min à 200 mL/min et l'augmentation est moins nette entre 200 et 300 mL/min

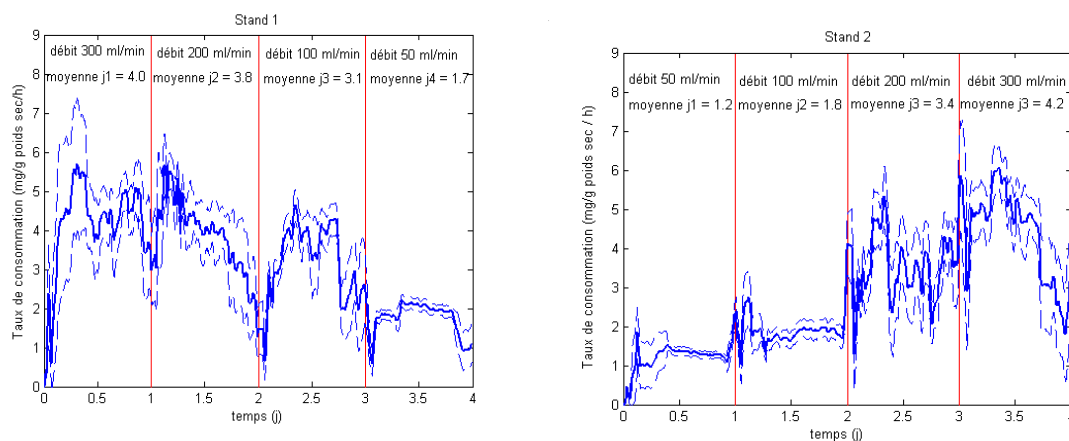


Fig 18 : Taux de consommation en fonction du temps pour le stand 1 (à gauche) et pour le stand 2 (à droite). En pointillé, enveloppe de la courbe incluant l'intervalle de confiance.

Cependant, si on analyse le pourcentage de cellules prélevées par jour par rapport au nombre de cellules disponibles au niveau de la boîte témoin, on observe :

- pour le stand 1 (débits décroissants) :

Au jour 1, en moyenne 30 % des microalgues présentes dans « l'entrée » sont prélevées par les huîtres. Au jour 2, ce chiffre passe à 44 %. Au jour 3, il est de 76 % et au jour 4, il passe à 81 %. Dans ce dernier cas, certaines huîtres prélèvent jusqu'à 97 % de la nourriture.

- pour le stand 2 (débits croissants) :

Au jour 1, en moyenne 57 % des microalgues disponibles sont prélevées par les huîtres Au jour 2, ce chiffre passe à 55 %. Au jour 3, il est de 48 % et au jour 4, il passe à 41%.

Les résultats observés au plus faible débit (jour 4) du stand 1 amènent à s'interroger sur le comportement qu'auraient eu les huîtres en présence d'une plus grande quantité de nourriture.

D'autres essais ont été ensuite réalisés sur des quantités plus importantes d'huîtres avec un débit constant, un apport de nourriture constant mais un taux de renouvellement variable dans des bacs en circuit fermé. L'objectif de ces différents essais reste prioritairement la définition de valeurs optimales en terme de flux entrant et de concentration en algue fourrage pour réduire les coûts de maintenance des bivalves dans un circuit fermé.

Influence de la température de l'eau d'un bassin en stabulation d'huîtres

- ✓ Pour répondre à la question : « **au dessus de quelle température faut-il apporter un complément alimentaire pour maintenir la survie de l'animal et sa qualité de chair initiale ? influence de l'indice physiologique de l'animal** »

Pendant 35 jours des lots d'huîtres de taille marchande et d'indices physiologiques (Afnor) différents ont été soumis à quatre températures distinctes (10, 14, 18 et 22°C). Chaque bassin était alimenté en circuit ouvert avec de l'eau de mer filtrée pauvre en nourriture (chlorophylle a < 0,2 µg l⁻¹). L'interprétation des résultats montre (fig. 19):

- Un effet sensible de l'état physiologique sur la survie des huîtres et l'amaigrissement aux températures de 18 et 22°C. On constate peu d'effet à 14 et 10°C pour les indices supérieurs à 6,
- Une corrélation entre les températures élevées (> 14°C) et les taux de mortalité et d'amaigrissement des huîtres, quelque soit leur indice physiologique,
- Une meilleure survie et un maintien du poids sec de chair aux températures de 10 et 14°C.

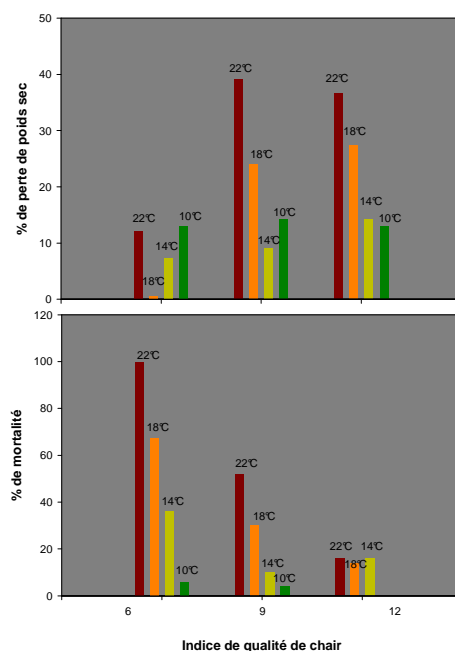


Fig. 19 : Comparaison de la survie et de l'amaigrissement de l'huître *Crassostrea gigas* en fonction de la température et de l'indice physiologique (Afnor).

Le maintien de l'eau des bassins à basse température (inférieure à 18°C) permet d'optimiser la survie des bivalves et de minimiser l'apport de nourriture pour maintenir leur masse de chair. En période d'alerte (tests biologiques négatifs malgré la présence importante de microalgues toxiques) la sauvegarde d'animaux sains pourrait se réaliser à basse température (< 14°C) sans apport de nourriture sur une trentaine de jours. En revanche, lorsque les animaux seront toxiques en période de crise, il conviendra d'élever la température des bassins pour détoxiquer les bivalves avec un apport nutritif. Différentes études montrent que le seuil de température critique se situe au dessus de 18°C pour deux raisons essentielles :

- Déclenchement des mortalités autour de 19°C (Samain et McCombie, 2008),
- Risque de ponte à partir de 18°C (Haure *et al*, 2008).

Il est ainsi souhaitable de maintenir la température des bassins à des températures inférieures à 18°C. Par ailleurs, il est également important de privilégier une activité physiologique notable de manière à favoriser la détoxification des bivalves. Pour ces raisons, il a été décidé d'observer une régulation thermique des bassins à 16°C.

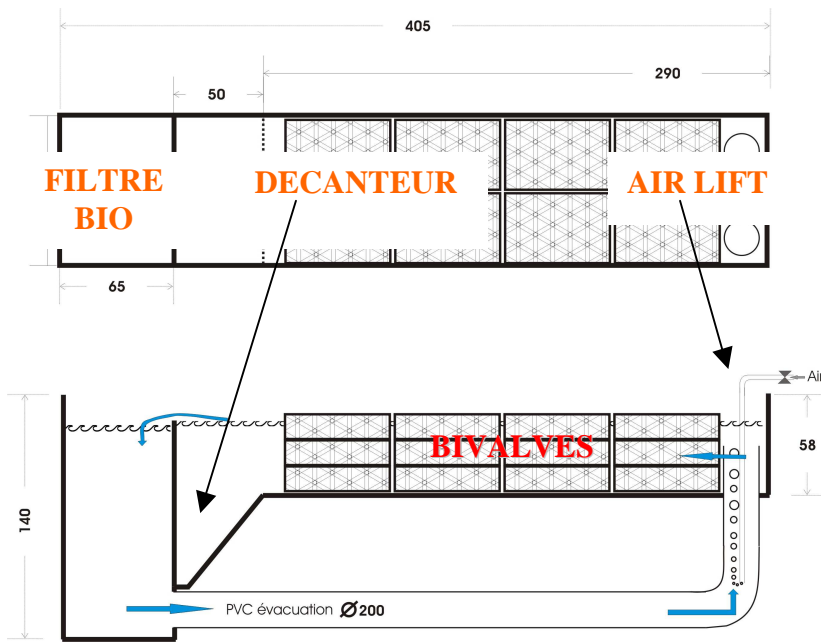
Mise au point d'un bassin pour bivalves de sauvegarde / détoxification en eau recirculée.

- ✓ Pour répondre à la question : « **comment apporter, à faible coût, l'oxygène et la nourriture nécessaire à toute la biomasse de bivalves dans un bassin confiné à faible renouvellement ?** ».

La synthèse bibliographique a montré que les circuits fermés étaient couramment utilisés pour les élevages de poissons. Pourtant, l'application et la transposition stricte des procédés ne peuvent être envisagées pour les besoins des bivalves pour deux raisons à priori majeures :

- Absence de mobilité chez les bivalves,
- Distribution d'une nourriture dissoute dans l'eau (phytoplancton).

Le challenge est de pouvoir amener à l'animal l'oxygène et la nourriture, indispensable à sa survie, avec un renouvellement en eau le plus faible possible.



Pour répondre à ces exigences, il a été choisi un bassin de type raceway équipé d'un air lift pour assurer l'hydrodynamique de l'eau et son oxygénation. Ces bassins peuvent être équipés de décanteur et de filtre biologique en fonction des besoins.

2.2.2 Essais de sauvegarde

Trois essais ont été réalisés pour tenter de prolonger les durées de sauvegarde des bivalves en privilégiant la survie et le maintien de la qualité :

1. Essai comparé de sauvegarde à sec sur la moule et sur l'huître creuse dans une chambre froide à température et humidité contrôlées (3°C, 100% d'humidité).

- Pour répondre à la question : «**peut-on sauvegarder à sec, pendant plusieurs semaines, des moules et des huîtres creuses et leur conserver leur qualité initiale ?** »



Fig. 20 : Chambre froide (3°C) équipée d'un hygroat (100%) pour la conservation de bivalves (huîtres et moules) pendant plusieurs semaines.

Des huîtres et des moules ont été alternativement suivies sur plusieurs semaines dans une chambre froide (3°C) munie d'un hygostat pour maintenir une humidité de 100%. Des lots témoins ont été maintenus dans une claire pour comparer l'évolution des animaux. Différents critères ont été définis pour définir, au cours du temps, la qualité commerciale des produits :

Salinité intra valvaire :

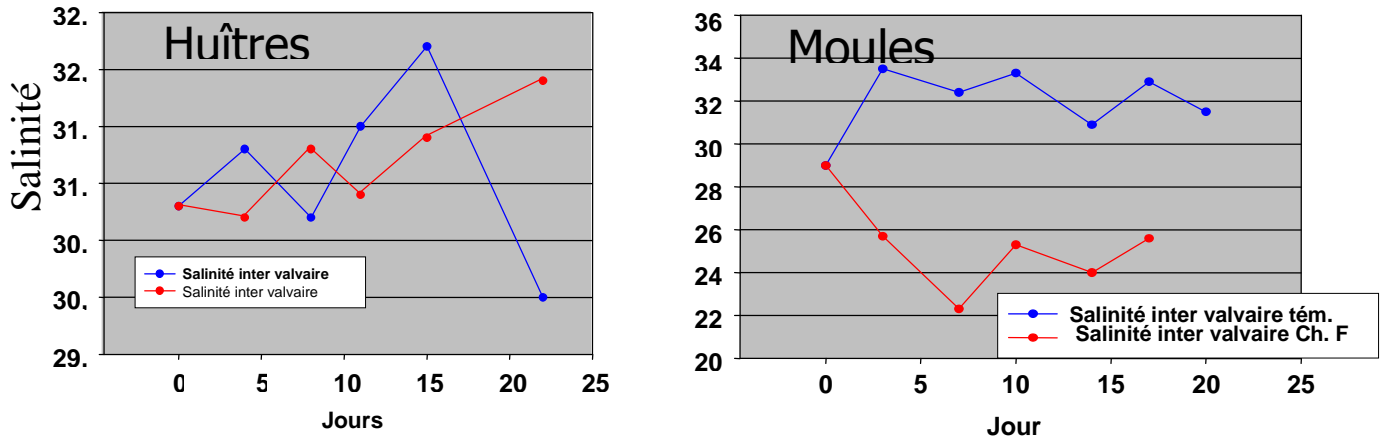
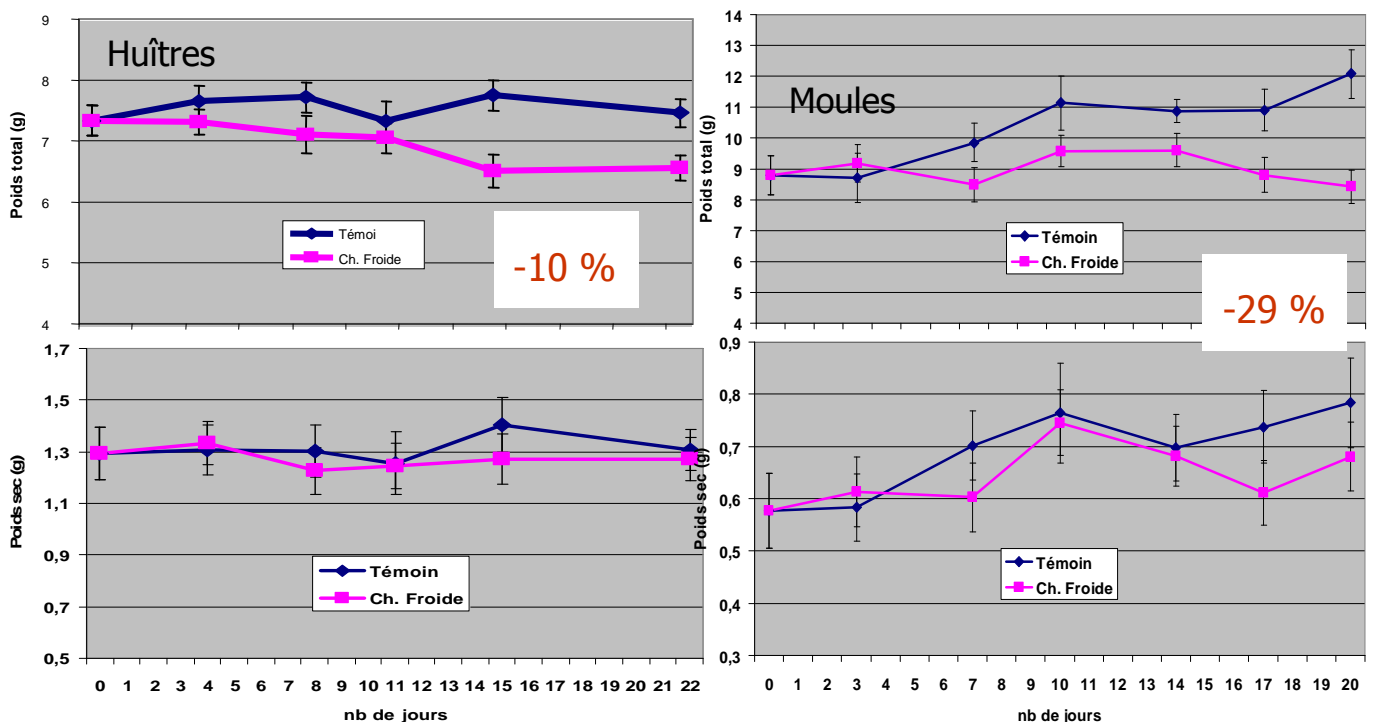


Fig. 21 : Evolution de la salinité intra valvaire des bivalves à sec comparés aux témoins en eau.

Le stockage en chambre froide ne semble pas affecter la salinité intra valvaire de l'huître contrairement à la moule qui perd du sel au cours de la sauvegarde.

Evolution pondérale des animaux:

Fig. 22 : Evolution du poids total et de la chair sèche des huîtres et des moules conservées hors d'eau



Les huîtres ne perdent que 10% de poids sur la masse totale durant la sauvegarde à sec. Les moules, en revanche, montrent une chute de poids, due à une perte en eau, de l'ordre de 29%. Par ailleurs, on peut observer une conservation de la masse de chair chez les huîtres et les moules qui renseigne sur l'absence d'amaigrissement des animaux.

Evolution de la survie des animaux (fig.23)

L'évolution des mortalités est décrite dans le graphe de la figure 23. Les résultats montrent que les huîtres présentaient peu de mortalités à l'issue de la sauvegarde avec seulement 3,8% en 22 jours. Les mortalités de moules, en revanche, s'élevaient à 15% et la qualité des survivantes était impropre à la commercialisation.

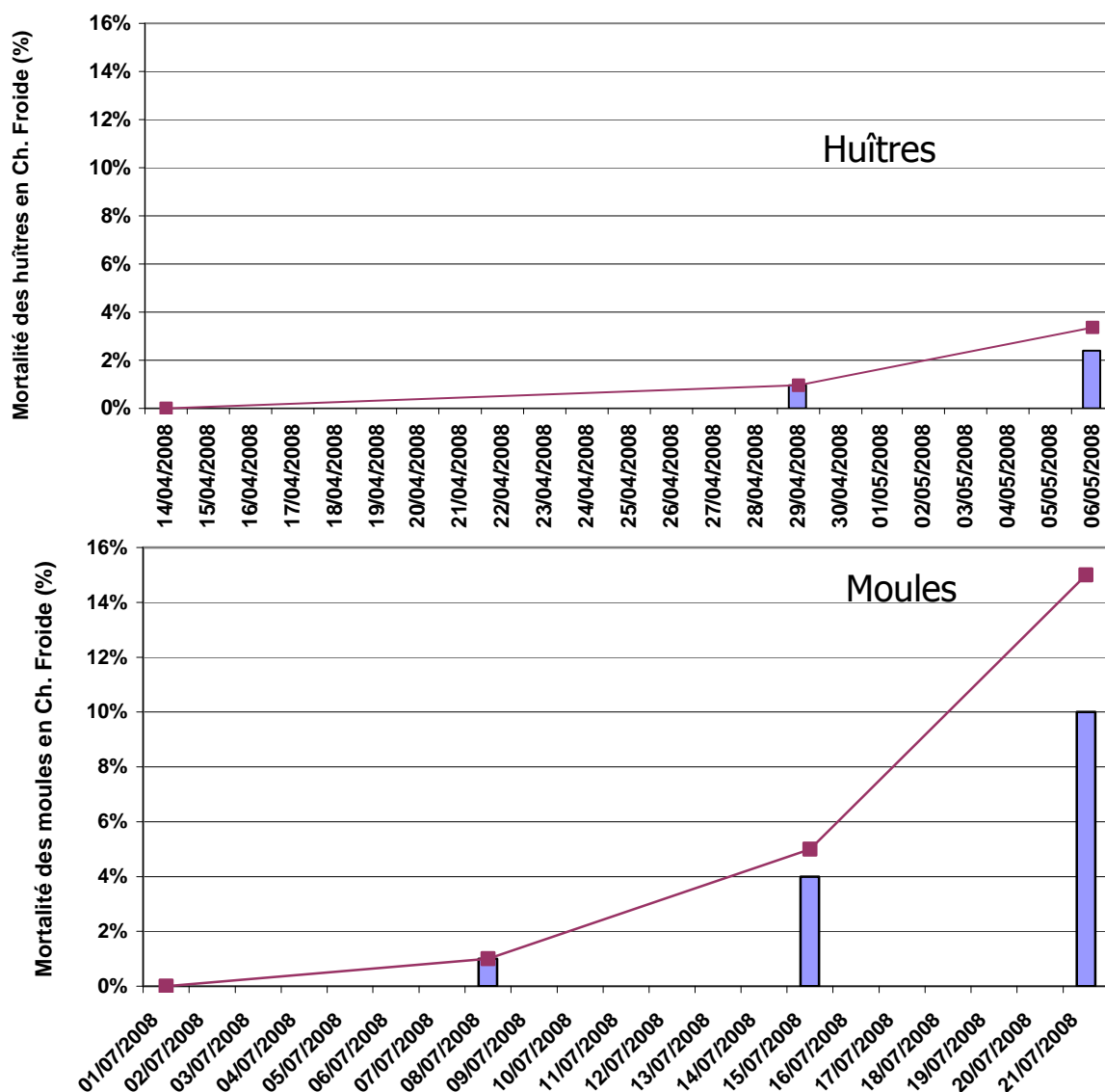


Fig. 23 : Mortalités ponctuelles et cumulées des bivalves sauvegardés en chambre froide (3°C) et saturée à 100% d'humidité.

Etude de la qualité sensorielle des huîtres (fig. 24)

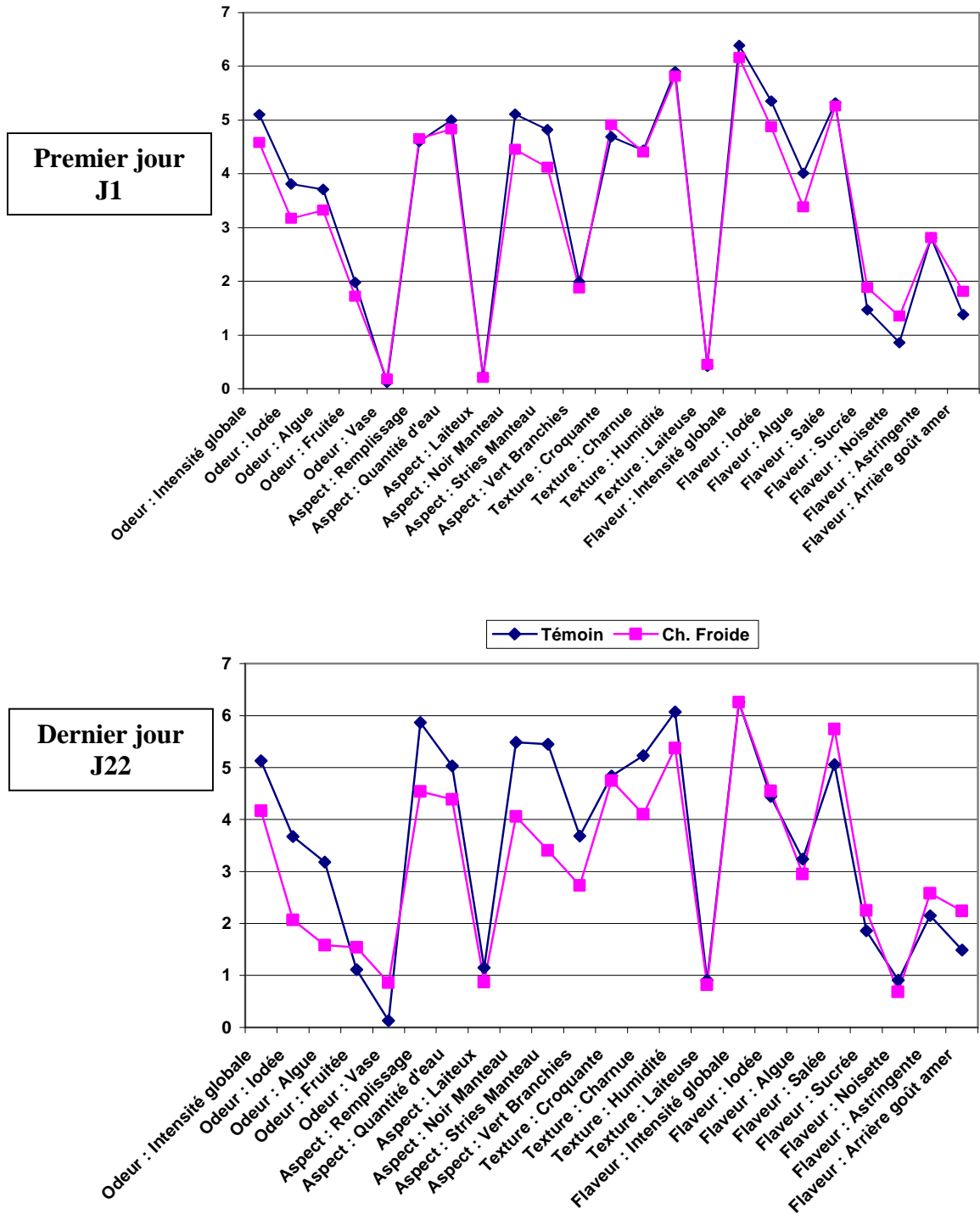


Fig. 24 : Comparaison des profils sensoriels entre les huîtres témoins (en claire) et hors d'eau aux premier et dernier jour de l'étude.

23 critères ont été appréciés sur une échelle de 0 à 10 et ont été regroupés en quatre ensembles :

- Odeur (iodée, algues, fruitée, vase)
- Aspect (remplissage, quantité d'eau, laiteux, noir du manteau, vert branchies)
- Texture (croquante, charnue, humidité, laiteuse)
- Flaveur (iodée, algue, salée, sucrée, noisette, astringente, arrière goût amer)

Les tests sensoriels ont montré que la qualité des huîtres variait peu entre la sauvegarde hors d'eau et le lot témoin en claire. Les profils sensoriels ont peu varié entre le 1er et 22ème jour.

2.Essai de sauvegarde en eau de l'huître creuse avec apport de microalgues : efficacité de la filtration biologique.

- Pour répondre à la question : **«peut-on avec un filtre biologique augmenter la durée de sauvegarde des huîtres en eau, par rapport à une simple oxygénation du bassin ? »**

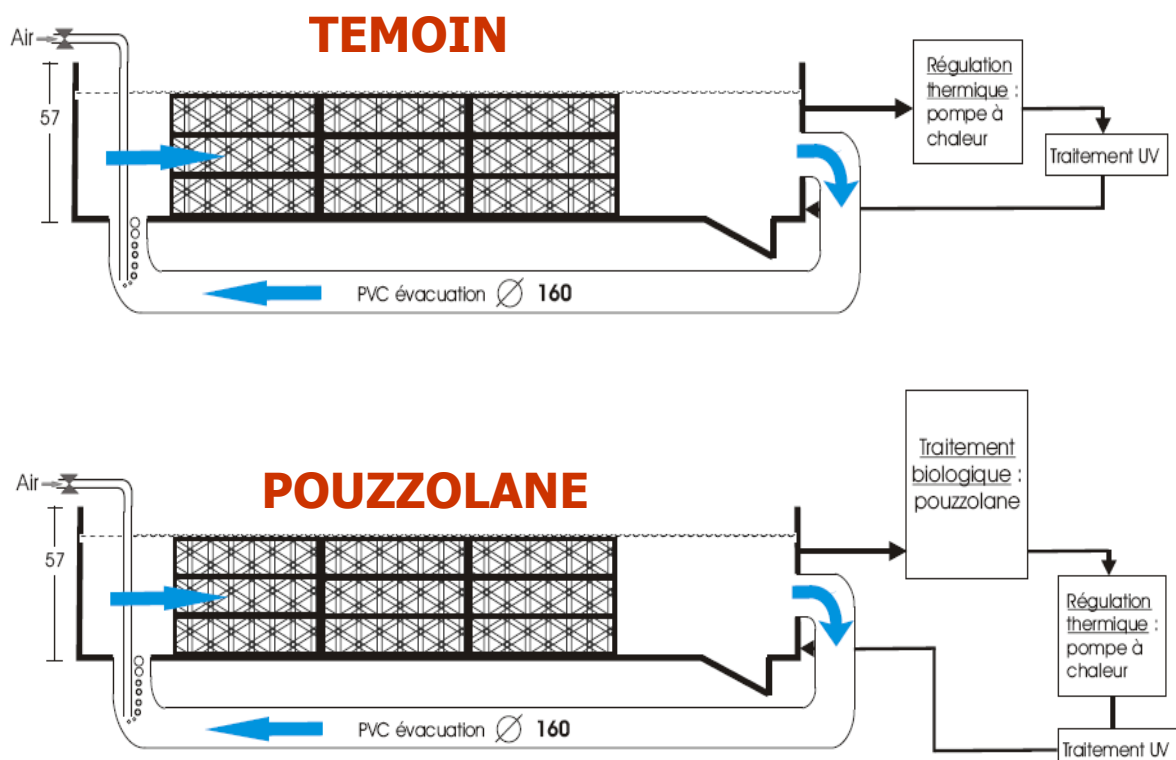


Fig. 25 : Schéma représentant l'expérimentation avec un bac témoin seulement oxygéné par un air lift qui assure l'hydrodynamique du volume d'eau et un bac dit « pouzzolane » qui présente les mêmes caractéristiques que le bassin témoin et muni d'un filtre biologique.

Pendant 35 jours, des huîtres ont été maintenues dans des bassins en eau re-circulée à 16°C comme décrits dans le paragraphe « Etudes préalables » de ce document.

Deux bassins identiques de 2 m³ d'eau avec 180 kg de biomasse d'huîtres et alimentés de 6 l/h de phytoplancton (*Skeletonema costatum*) ont été équipés comme suit (fig. 25):

- ✓ un bassin témoin équipé d'air lift (hydrodynamique+oxygénation), d'une régulation thermique (16°C) et d'un U.V.
- ✓ un bassin « pouzzolane » équipé d'air lift (hydrodynamique+oxygénation), d'une régulation thermique (16°C), d'un U.V. et muni d'un filtre de traitement biologique (nitrification).

La qualité et la survie des animaux ont été régulièrement suivies ainsi que l'évolution hydrologique des bassins.

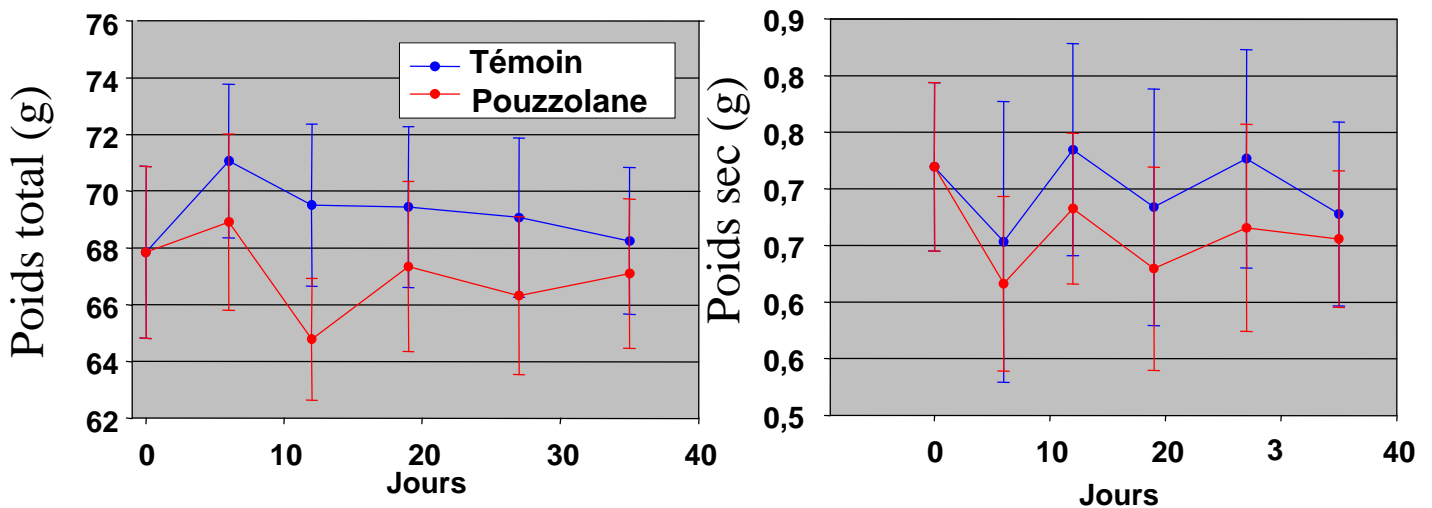


Fig. 26 : Evolution du poids total et de chair sèche des huîtres creuses sauvegardées en eau.

Il n'est pas apparu de différence significative de poids total ou de chair sèche dans les deux types de bassin re-circulés qui ont été testés.

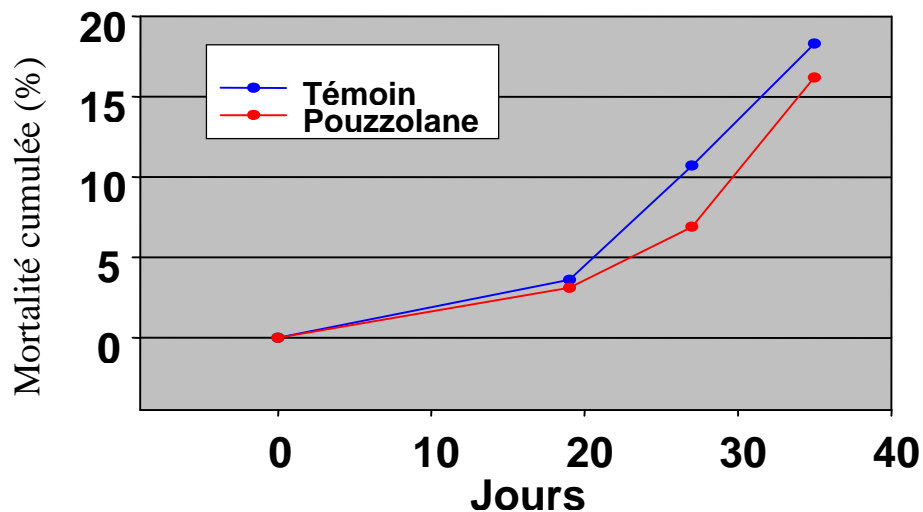


Fig. 27 : Mortalités cumulées survenues au cours de l'étude.

Les deux bassins montrent que la mortalité des huîtres est restée inférieure à 5% pendant les 20 premiers jours. Elle a augmenté par la suite de manière exponentielle sans discriminer les deux systèmes de re-circulation.

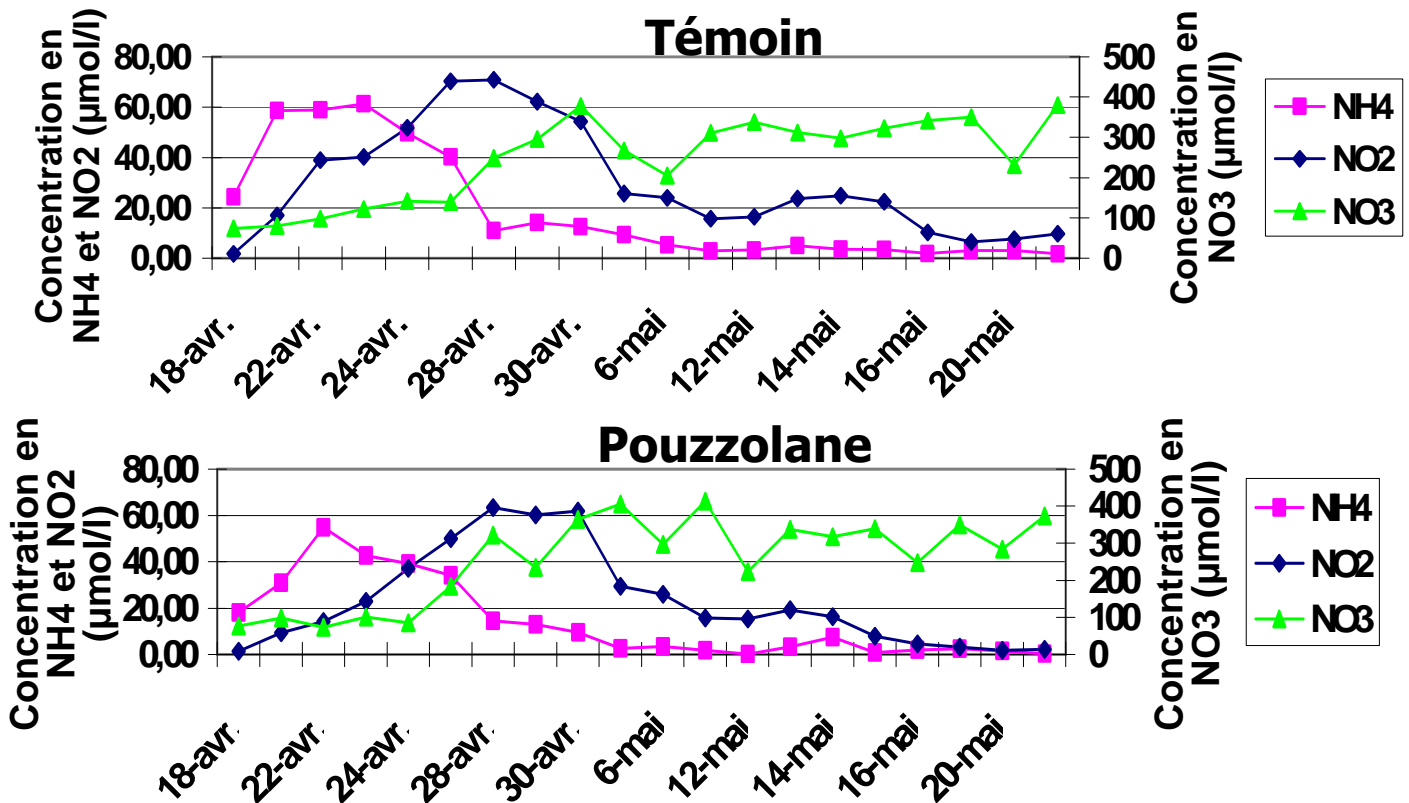


Fig. 28 : Evolution des substances azotées dans les deux bassins.

La figure 28 présente l'évolution des substances azotées au cours de l'étude. Le profil de chacune de ces concentrations est très semblable pour les deux bassins étudiés. On observe tout d'abord une augmentation de l'azote ammoniacal (NH₄) qui est très rapidement concomitante avec une élévation des nitrites (NO₂) et une dizaine de jours plus tard des nitrates (NO₃).

Dans les deux bassins, on observe donc les processus de nitrification qui dans un premier temps diminue la concentration de NH₄ qui peut être toxique à forte dose pour les bivalves.

La nitrification est un processus, contrôlé par l'action de certains micro-organismes spécifiques, qui conduit à la transformation de l'ammoniaque ou de l'ammonium en nitrate.

Le bassin témoin montre que en absence de filtre biologique ces processus se réalisent aussi bien qu'avec le filtre pouzzolane. Ceci signifie que les huîtres sont elles même porteuses en périphérie de leur coquille et dans l'espace intra valvaire des micro-organismes nécessaires à ces mécanismes de transformations chimiques et que l'économie d'un bio filtre peut être faite.

2.2.3 Modélisation de la sauvegarde de l'huître creuse *Crassostrea gigas* dans un système re-circulé

Le développement d'un système re-circulé est une solution qui peut être proposée dans le but de sauvegarder une population d'huîtres creuses *Crassostrea gigas*. Sa mise au point doit être réalisée dans le respect de trois objectifs i) la survie de l'animal ii) la conservation de son poids sec et iii) le maintien de la qualité de l'eau tout au long de la durée de sauvegarde.

Ces procédés doivent également répondre aux exigences économiques pour permettre un transfert réaliste vers la profession conchylicole. C'est pourquoi, il convient de trouver la meilleure adéquation possible entre la faisabilité biologique et économique en minimisant les coûts d'investissements et de fonctionnements des systèmes re-circulés.

Pour cela, différents paramètres doivent être optimisés tels que la charge optimale d'un bassin, son renouvellement minimum acceptable, l'apport de nourriture indispensable, la température idéale, l'excrétion attendue, etc.

La connaissance de ces différentes variables permettra de dimensionner convenablement les procédés de sauvegarde de bivalves.

La modélisation de ces différents paramètres permet de les mettre en relation afin d'optimiser chacun des compartiments biologiques dont l'approche est indispensable au dimensionnement des systèmes re-circulés.

Ces compartiments, appelés variables d'état, sont influencés par les paramètres du milieu (températures, nourriture, vitesse du courant...), appelés variables forçantes et ont été identifiés par le poids sec de l'animal (huître) et la production d'azote excrétée.

Les relations entre variables d'états et variables forçantes peuvent être traduites selon le schéma conceptuel de la figure 29.

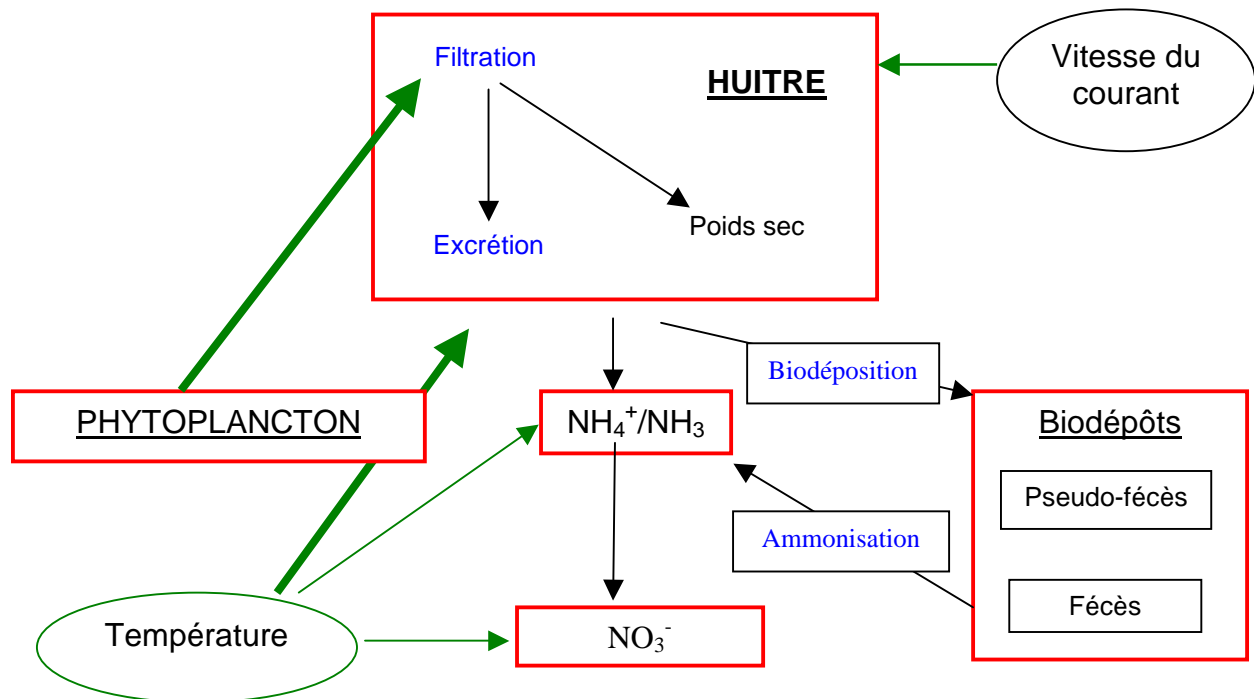


Figure 29 : Schéma conceptuel appliqué à un système re-circulé. Les fonctions physiologiques sont en bleues, les variables forcantes majeures sont en vert, les variables d'états sont en rouge

Le modèle repose sur des fonctions écophysiologiques de base (filtration, consommation d'oxygène...) couramment rencontrées dans la littérature. L'objectif de cette étude est d'identifier les paramètres originaux qui peuvent avoir une influence sur l'équilibre fragile des systèmes re-circulés pour bivalves tant au niveau de la qualité de l'eau que du « bien être » de l'animal. Cet espace confiné peut être perturbé notamment par une concentration excessive d'azote produit de l'excrétion animale. Cet élément doit être géré et le dimensionnement des procédés doit en tenir compte. Il était également important de déterminer l'influence de la circulation de la masse d'eau sur la filtration de l'animal pour satisfaire à la fois le transport des particules et la filtration de l'animal.

Détermination de l'excrétion d'azote ammoniacal chez *Crassostrea gigas* en fonction de la température et de la quantité de nourriture.

Dans le système re-circulé, l'azote ammoniacal total ($N-NH_4^+/NH_3$) provient à la fois de l'excrétion azotée des huîtres et de l'ammonification des biodépôts. L'eau de mer alimentant le système re-circulé apporte aussi de l'azote ammoniacale à une concentration de $0.386 \mu\text{mol.l}^{-1} N-NH_4^+/NH_3$, l'apport par le phytoplancton restant négligeable. Une fraction de l'azote ammoniacale est éliminée du système à l'issue de processus telles qu'une volatilisation et une

dénitrification (Lefebvre *et al.*, 2001; Thoman *et al.*, 2001). Au cours de la nitrification, l'azote ammoniacal total est d'abord transformé en nitrites. Ces derniers ne sont pas pris en compte dans le modèle puisqu'il reste faiblement représenté dans un milieu bien oxygéné. Epifanio et Srna (1975) montrent, par ailleurs, que les taux de nitrites et de nitrates habituellement constatés en système re-circulé ne présentent pas de danger pour l'huître *Crassostrea virginica*, contrairement à l'azote ammoniacal total. Ces auteurs observent que le taux de filtration de l'huître est perturbé à partir d'une concentration de 8.10^{-4} mol.l⁻¹ (soit 14 mg.l⁻¹) d'ammonium. Dans le processus de nitrification, les nitrites sont ensuite transformés en nitrates, compartiment également alimenté par l'eau de mer et le phytoplancton à hauteur de respectivement de 26.45 $\mu\text{mol.l}^{-1}\text{NO}_3^-$ et de 114.8 $\mu\text{mol.l}^{-1}\text{NO}_3^-$. Au niveau de ce compartiment deux types de pertes sont identifiées, le renouvellement de l'eau du circuit et un ensemble de processus comprenant à la fois l'assimilation de l'azote par des microorganismes (algues, bactéries et champignon, en milieu anaérobie et aérobie (Thoman *et al.*, 2001; Van Rijn, 2002)) et une possible dénitrification (perte d'azote sous forme N₂O et N₂).

La nitrification est sensible à un ensemble de facteurs tels que la concentration en oxygène et le pH du milieu. Ainsi, une concentration en oxygène minimum de 2 mg.l⁻¹ est requise (Wheaton *et al.*, 1994) et le pH doit être compris entre 7 et 9 pour ne pas devenir un facteur limitant la nitrification (Chen *et al.*, 2006). Les données expérimentales collectées montrent que la concentration en oxygène reste supérieure à 90% de saturation, (soit 7,1 mg.l⁻¹ à 16°C et 34 ‰) et le pH se situe entre 7,7 à 8,2. Ils ne sont donc pas des facteurs limitants dans notre système. La nitrification de l'azote ammoniacal est modélisée selon l'équation de Monod avec les paramètres proposés par Chen *et al.* (2002) issus de l'étude de biofilms présents dans les filtres biologiques de systèmes re-circulés. Plusieurs auteurs précisent que pour une gamme de 14 à 18°C, la température n'a pas d'effet significatif sur le taux de nitrification ni sur la constante de demi-saturation (K_s) et sur le taux de nitrification maximal (J_s max) (Malone, Pfeiffer, 2006; Zhu, Chen, 2002). L'équation de nitrification est rapportée à une surface de biofilm responsable de la nitrification. Dans nos conditions, les coquilles des huîtres représentent elles-mêmes une aire de surface spécifique non négligeable de 360 m²/m³ avec une activité nitrifiante importante (manip Bouin, 2011, publication en cours de rédaction). Par ailleurs, les parois des bacs et des tuyaux composants le système re-circulé sont aussi potentiellement des supports pour le développement de biofilms. Cependant, l'efficacité de nitrification dans un système re-circulé est toujours évaluée par rapport au biofiltre sans tenir compte des parois des autres éléments équipant le système. De plus, en début de stockage les parois sont indemnes de biofilm et il faut entre 13 à 20 jours à un biofilm afin qu'il atteigne sa densité maximum, selon

le type d'organismes mis en élevage (Bourne *et al.*, 2006; Wietz *et al.*, 2009). Ainsi, seule la surface sommée des faces internes et externes des coquilles d'huîtres seront prises en compte pour évaluer la nitrification.

La sauvegarde d'huîtres en système re-circulé réclame la gestion et le contrôle de différents paramètres pour favoriser la survie et le maintien de la qualité de la chair. Un des principaux paramètres qui nécessite une attention particulière est celui de la production d'azote ammoniacal due à l'excrétion de l'animal. L'étude réalisée, a permis de connaître l'effet concomitant de la température et de la nourriture sur la production azotée de l'huître *Crassostrea gigas*.

Matériel et méthode

Trois expérimentations ont été réalisées pour déterminer l'effet conjugué de trois températures (10, 16 et 22°C) avec trois niveaux de nourriture particulière (*Skeletonema costatum*) correspondant à $0,18 \pm 0,04$, $0,44 \pm 0,04$ et $1,4 \pm 0,04$ mg C/l.

Des huîtres triploïdes de $69,7 \pm 8,5$ g de poids total moyen ont été maintenues à jeun pendant une période de 5 jours avant d'être nourries pendant 5 autres jours aux niveaux trophiques précédemment décrits. Suite à cette acclimatation, 6 huîtres de chaque condition ont été placées dans des récipients d'un volume de 2 litres d'eau de mer filtrée. La concentration d'azote ammoniacal ($N-NH_4/NH_3$) a été mesurée dans chacun de ces récipients toutes les 12 heures (Koroleff, 1969) durant 300 heures.

Résultats

Le taux moyen d'excrétion azotée a été de $0,21 \pm 0,09$ mg/h/g de chair sèche à 13°C et de $0,74 \pm 0,46$ (SD) mg/h/g de chair sèche à 22°C. Le niveau de nourriture ne montre pas de différence significative sur la production azotée de l'animal malgré une tendance à l'augmentation avec la quantité de nourriture.

Un modèle en trois dimensions a pu être réalisé pour montrer l'effet déterministe de la température et de la quantité de fourrage sur la production ammoniacale de l'animal.

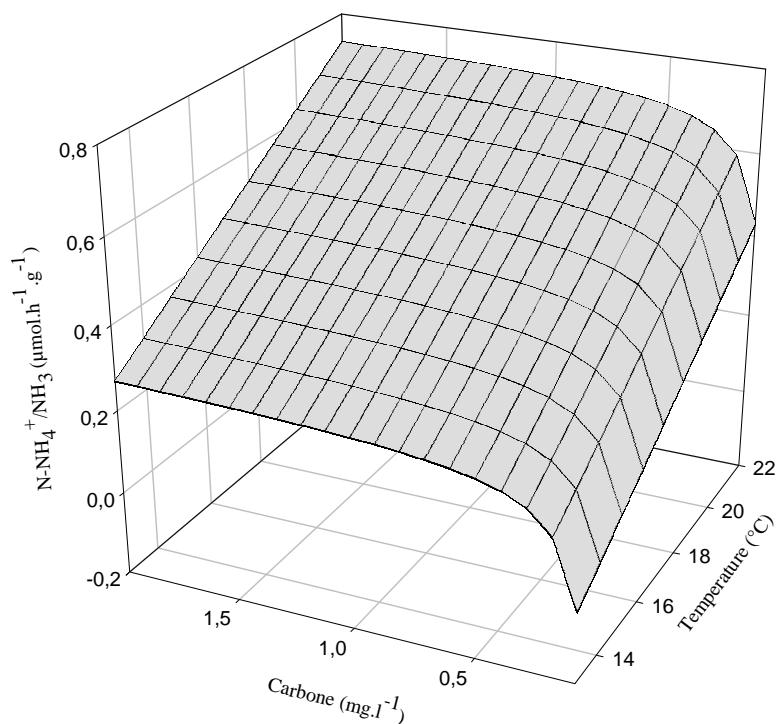


Figure 30 : Modèle biologique de la production d'azote ammoniacal chez l'huître *Crassostrea gigas* en fonction de la température et du niveau de nourriture.

Conclusions

L'apparition d'efflorescence toxique dans les écosystèmes conchylicoles peut se produire dès le printemps et jusqu'à la fin de l'automne, parfois même jusqu'au début de l'hiver dans les régions méridionales. La gamme de températures qui a été testée est donc très pertinente d'autant plus que l'effet thermique est très influent sur la production animale d'azote ammoniacal. Ainsi, pour limiter l'excrétion, les systèmes re-circulé devront être équipé d'un régulateur thermique pour rester en deçà de 16°C. La quantité de nourriture semble moins déterministe de l'excrétion dans cette étude. Ceci peut se justifier par le métabolisme lent des bivalves et l'hypothèse d'une période trop courte d'acclimatation aux différents niveaux de nourriture n'est pas à écarter.

Détermination de la vitesse optimale du courant.

Le déplacement de la masse d'eau dans le système re-circulé est induit par un système d'air lift. Un débit minimum de 10 l.min⁻¹ d'air est nécessaire pour maintenir une concentration en oxygène supérieure à 90% de saturation pour une charge de 166 kg.m⁻³ d'huîtres stockées. Dans le système utilisé, techniquement, la vitesse du courant crée ne peut pas dépasser 10

cm.s⁻¹ (mesures expérimentales) et quatre impacts sur le fonctionnement du système recirculé sont identifiés. Ainsi, un ensemble d'expérimentations réalisées à la station de l'Ifrémer Bouin montre que la vitesse du courant a un effet significatif sur la filtration de l'huître et ce phénomène est pris en compte dans le modèle à l'aide d'une équation (empirique et statistique). Dans le milieu naturel, il a été observé que les biodépôts entraînés par le flux d'eau vont sédimenter à une distance de leur émission évaluée entre 2 et 5 m pour une vitesse de courant de 1 à 2 cm.s⁻¹ (Kusuki, 1978), or dans le système recirculé, la distance de sédimentation est limitée par les clayettes contenant les huîtres et écourtée par les parois du bac de stockage d'huîtres. Par ailleurs, aucune remise en suspension des biodépôts n'est pris en compte dans nos conditions puisqu'une vitesse de courant minimum de 10 cm.s⁻¹ est nécessaire pour les remettre en suspension (Widdows *et al.*, 1998). Enfin, la vitesse de courant aurait une action sur le biofilm, support des bactéries nitrifiantes, qui se développe sur les parois du système recirculé, sur les biodépôts déposés et sur les coquilles des huîtres, par l'action des turbulences qu'elle engendre. Ainsi, plusieurs auteurs observent que la vitesse du courant augmente significativement la nitrification (Chen *et al.*, 2006; Zhu, Chen, 2001) mais ils modèrent l'impact de ce phénomène par une adaptation du biofilm à ces nouvelles conditions au bout de quelques jours. Ainsi, seule l'influence de la vitesse du courant sur la fonction de filtration de l'huître sera prise en compte dans le modèle.

Matériel et méthode

Différentes vitesses de courant ont été testées entre 0,5 et 8 cm/s dans des bassins recirculés expérimentaux. Les animaux représentés un poids moyen de 70 g et ont été maintenus à 16°C dans les bassins alimentés en micro algue *Skeletonema costatum* plus eau de mer avec un débit connu et régulier.

Un bassin témoin sans huître alimenté dans les mêmes conditions que les bacs expérimentaux a permis de définir la filtration des huîtres en mesurant la fluorescence dans l'eau d'évacuation et en la comparant à celle des bassins garnis d'animaux.

Résultats

Les résultats ont montrés que la filtration des huîtres était influencée par la vitesse du courant et qu'elle diminue au fur et à mesure que ce dernier augmente (fig 31).

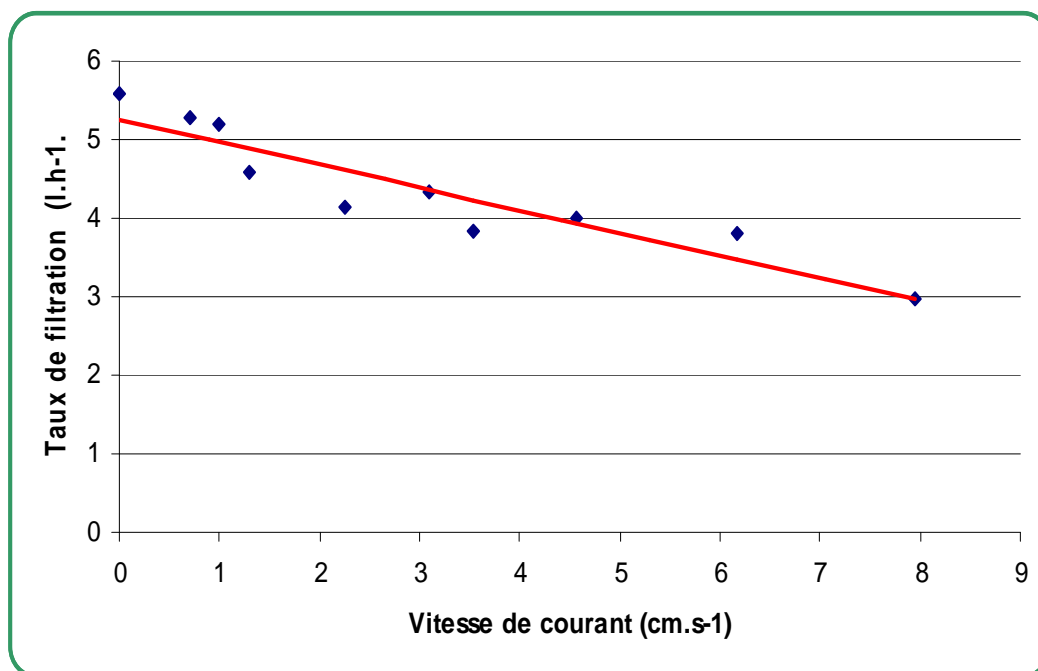


Figure 31 : Influence de la vitesse du courant sur la filtration de l'huître *Crassostrea gigas* élevée dans des bassins re-circulés.

2.3 Atelier 3 : Procédés de détoxification

2.3.1 Facteurs présumés déterminants in situ

Température, chlorophylle a (modèles de détoxification DSP moules de Norvège)

Afin de tenter de modéliser la contamination des moules par les algues de la famille des *Dinophysis*, des données provenant du réseau de surveillance de Norvège ont été considérées. Elles présentent, pour certains sites cibles, par rapport aux données françaises, l'avantage majeur que le suivi de la contamination et de la décontamination des moules est systématiquement quantifié par des analyses chimiques, indépendamment de la concentration en algues toxiques dans l'eau, à une périodicité de l'ordre de la semaine soit un échantillonnage plus conséquent qu'en France. A partir de ces données, nous avons sélectionné les périodes où le taux de bioaccumulation dans les moules était bien supérieur aux taux de décontamination observés sur des périodes où la présence de toxines était négligeable et où les moules se décontaminaient. Sur ces jeux de données, chaque période s'étend sur plusieurs mois, ce qui donne un grand nombre de données. De plus, grâce à un suivi régulier, de nombreux paramètres, tels que la chlorophylle, la température, la salinité, les taux d'O₂, de phosphate ou d'azote, sont disponibles avec un taux d'échantillonnage satisfaisant.

Cependant, ces données présentent quelques limites pour une extrapolation potentielle au cas des côtes françaises. Les températures étudiées sont généralement basses pour des

périodes de contamination avec une moyenne de 14°C, un minimum de 1°C et un maximum de 19°C. Le taux de chlorophylle dans l'eau est également faible pour une extrapolation. L'objectif sera donc de déterminer les variables influentes et la structure de modèles qui devront être à nouveau paramétrisés pour s'adapter aux conditions de notre littoral.

Les concentrations en *Dinophysis acuta*, *Dinophysis acuminata* et *Dinophysis norvegica* dans le milieu sont déterminées par dénombrement au microscope. La quantité de toxines par cellule de *D. acuta* est généralement considérée comme environ 10 fois supérieure à la quantité de toxines par cellule de *D. acuminata* et *D. norvegica*. Certains travaux norvégiens laissent à penser que la quantité de toxines par cellule varie au cours du temps en fonction des conditions environnementales et qu'elle est probablement aussi liée au taux de croissance spécifique des dinoflagellés. Toutefois aucun modèle prédictif, ni aucune mesure de la quantité de la quantité de toxines par cellule n'est disponible et nous supposons donc que cette quantité reste constante. Une estimation de la concentration en particules toxiques du type *Dinophysis* est donc calculée en pondérant les concentrations algales par un coefficient de pondération de 10 pour *D. acuta* et de 1 pour *D. acuminata* et *D. norvegica* respectivement. Dans les moules, les concentrations en acide okadaïque, en acyl-acide okadaïque et en DTX 1 et acyl DTX 1 ont été mesurées.

Les DTX 2 et acyl DTX 2 n'ont pas été retenues pour cette étude en raison des incertitudes analytiques et car elles suivent une cinétique particulière dans la moule.

On ne constate pas de corrélation directe entre la concentration totale en DSP dans la moule et la concentration pondérée en particules toxiques DSP dans le milieu (Fig 32).

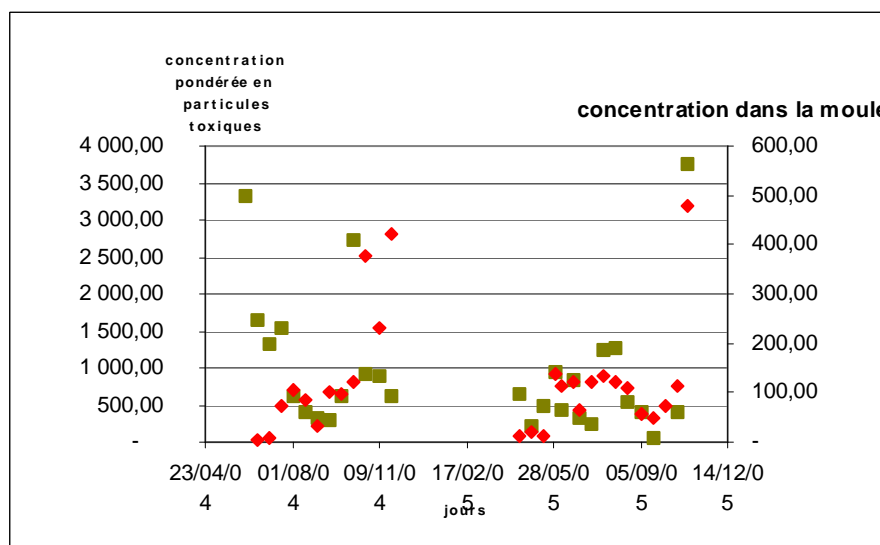


Figure 32 : Estimation de la concentration pondérée en particules toxiques (particules L-1) présentes dans le milieu (vert) et de la concentration en toxines dans la moule, en µg AO/kg de chair (rouge) en fonction du temps.

Au vu des données disponibles retenues, les concentrations en oxygène, en phosphate, en azote, ainsi que la salinité, ne semblent pas agir de façon cohérente sur la concentration en algues toxiques dans le milieu ou sur l'accumulation de toxines dans la moule.

Par contre, la température de l'eau et la chlorophylle (Fig 33) dans le milieu semblent des variables environnementales présentant plus de liaisons avec la concentration en Dinophysis et avec la bio-accumulation de toxines dans la moule. Certaines données sont remarquables. Par exemple, en août et septembre 2004, la concentration en algues toxiques chute lors des températures d'eau les plus élevées. La quantité de chlorophylle représentative de l'ensemble des microalgues du milieu (fourrage + toxique) reste dans le même temps relativement constante à un niveau important par rapport aux saisons plus froides.

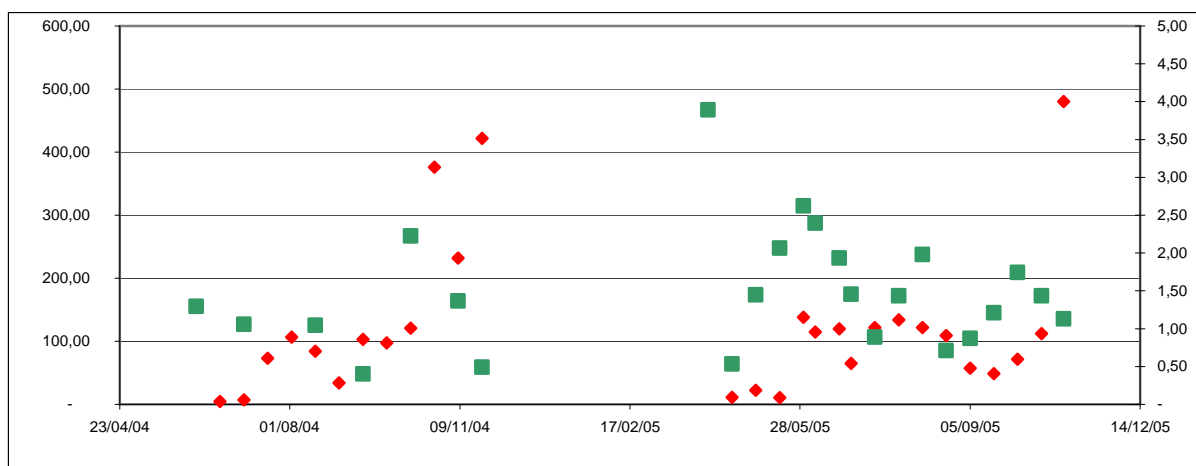


Figure 33 : Concentration en toxines dans la moule, en $\mu\text{g AO/kg}$ de chair (rouge) et quantité de chlorophylle en $\mu\text{g/L}$ dans le milieu (vert) en fonction du temps.

Il n'a pas été possible à ce jour de poursuivre des investigations permettant d'établir un modèle dynamique en cohérence avec les jeux de données disponibles. Des modèles simples décrivant le taux de bioaccumulation en fonction de la température, de l'estimation de la quantité de toxines dans le milieu et de la Chlorophylle, comme celui décrit par l'équation (1) ont été ajustés mais fournissent des résultats très mitigés. De nouvelles réflexions sur la structure des modèles devront donc être menées avant de tirer de plus amples conclusions,

$$\frac{dC}{dt} = \frac{\delta(T + \chi)\widehat{C}_{tox}}{[Chloro] + \varphi} - k(1 + \alpha[Chloro] + \beta T)C \quad (1)$$

avec δ , χ , φ , α , β , k des paramètres constants du modèle, C la concentration en toxines dans la moule, T la température, $[Chloro]$ la concentration en Chlorophylle dans le milieu, \widehat{C}_{tox}

l'estimation sans dimension de la concentration en particules toxique dans le milieu par une somme pondérée de la concentration des trois espèces de *Dinophysis* .

2.3.2 Historique de la contamination (testé sur PSP / huîtres)

A partir de cultures d'*Alexandrium minutum*, des essais de contamination en toxines paralysantes ont été réalisés sur des huîtres triploïdes avec deux régimes toxiques différents consistant à faire varier de façon inverse la concentration en cellules toxiques et le temps de contact avec les bivalves. L'objectif était, dans le cadre du projet ANR-SEST « MODECOPHY », d'investiguer l'influence de l'historique de la contamination sur la cinétique de détoxication. Celle-ci a été réalisée dans les deux cas par une alimentation en continue avec la diatomée 'non toxique' *Skeletonema costatum*. On n'observe aucun effet du régime toxique sur la pente des droites de contamination, à 200 ou à 1000 cellules/ml, ce qui semblerait indiquer que l'augmentation de la concentration cellulaire ne modifie pas le comportement alimentaire. La similitude des productions cumulées de biodépôts au cours du temps va dans le sens de cette hypothèse. En ce qui concerne la détoxication il n'y a pas, non plus, de différence significative dans les pentes des cinétiques.

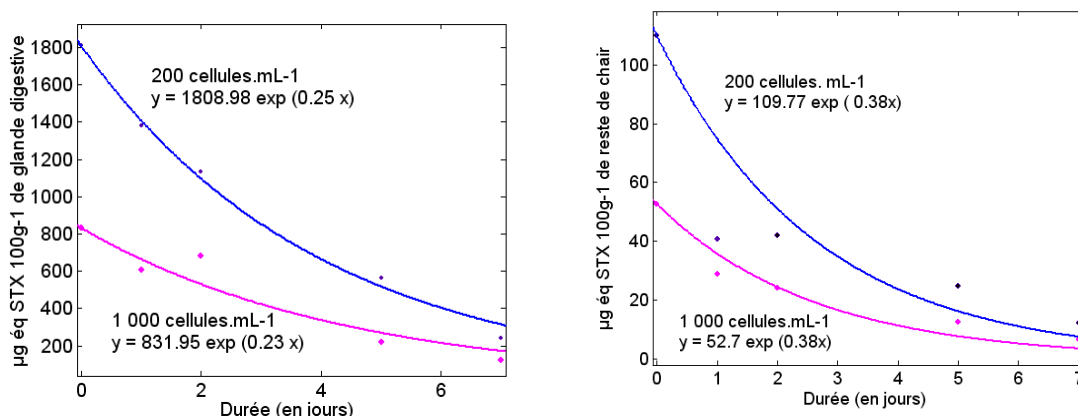


Fig. 34 : Cinétiques de détoxication des glandes digestives (à gauche) et des autres tissus des huîtres *C. gigas* en fonction de la concentration cellulaire en *A. minutum* ayant servi à contaminer les bivalves.

Stade de maturation des huîtres : testé seulement en contamination

Les huîtres ont été placées dans 20 boîtes individuelles d'une contenance de 850 mL environ et disposées en 2 stands. Chaque stand se composait de 10 boîtes contenant chacune une huître vivante, et d'une boîte "témoin" contenant une coquille d'huître vide. Un flux circulant d'eau de mer à 16°C avec une salinité de 35 psu a été maintenu de manière constante dans le circuit fermé grâce à des pompes péristaltiques émettant un débit régulier (150 ml/min) dans les boîtes d'expérimentation. Pendant les 4 jours de contamination, une concentration de 200 cellules/mL d'*A. minutum* ou d'*A. catenella* était maintenue dans le

circuit grâce à un fluorimètre de régulation. La fluorescence en sortie de boîte était mesurée pour chaque boîte pendant 1 minute toutes les 11 minutes. Chaque jour, deux huîtres diploïdes et deux huîtres triploïdes étaient prélevées puis congelées en attente des analyses chimiques. Ces huîtres étaient ensuite remplacées par des individus de même ploïdie. Les prélèvements ont été opérés de façon aléatoire. En ce qui concerne les niveaux de contamination par phycotoxines paralysantes (PSP), on ne note pas de différences significatives entre diploïdes et triploïdes en novembre et mars, que ce soit au niveau de la quantité de toxines accumulées en 4 jours ou au niveau des cinétiques de contamination, et ce malgré l'utilisation de deux producteurs différents de toxines paralysantes (*A. minutum* et *A. catenella*). Par contre on note, comme pour les taux de consommation, des différences significatives entre les expériences.

En juin, alors que les diploïdes étaient en fin de maturation sexuelle, on observe une différence significative de concentration en toxine dans les glandes digestives des animaux expérimentés, avec environ deux fois plus de toxines PSP dans les triploïdes que dans les diploïdes. Néanmoins on ne peut pas mettre cette observation en rapport avec le comportement alimentaire puisque les taux de consommation ne sont pas modifiés.

De plus, cette observation ne se retrouve pas dans le suivi du Qtox (quantité théorique de toxine ingérée au cours du temps par le coquillage, calculée à partir de la consommation en microalgues toxiques) qui ne fait pas apparaître de différences journalières en lien avec la ploïdie. On ne peut que faire l'hypothèse d'un état physiologique différent entre diploïdes et triploïdes en juin qui aurait une incidence sur l'accumulation de toxines dans la glande digestive.

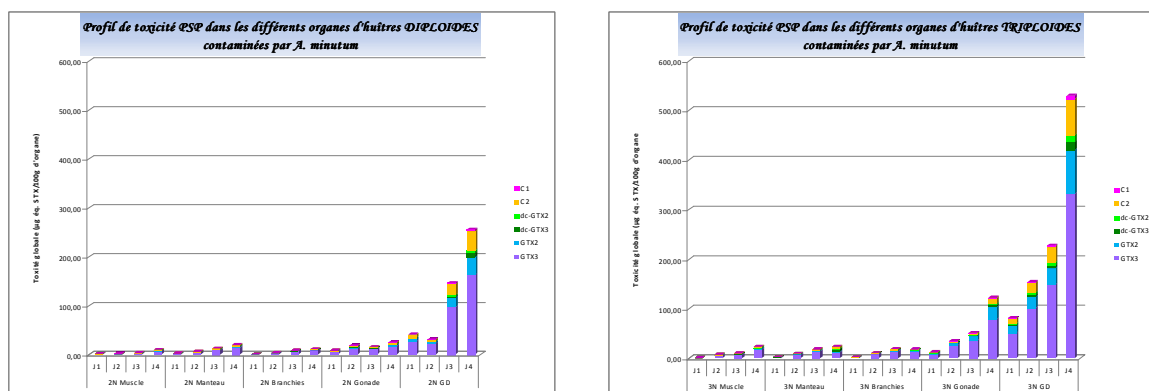


Fig. 35 : Profils toxiques et toxicités par organe des huîtres diploïdes (à gauche) et triploïdes (à droite) alimentées par *A. minutum*. Expérience de juin 2008 correspondant à un état de gamétogenèse avancée des diploïdes.

2.3.3 Procédés physico-chimiques : traitement par l’ozone de mollusques contaminés DSP

Si les premiers essais de traitement à l’ozone sur des mollusques bivalves contaminés par les toxines paralysantes se sont révélés concluants (Blogoslawski *et al.*, 1978, 1979 ; Gacutan *et al.* 1984), ces résultats ont été remis en cause ensuite (White *et al.*, 1985, Shumway *et al.*, 1995). La possibilité de connaître l’historique de la contamination, ainsi que de nouvelles techniques de dosage des toxines, offraient la possibilité de réévaluer l’utilisation d’un traitement physico-chimique (Lassus *et al.*, 2002).

Lors des phases de décontamination, trois méthodes de traitement ont été testées en parallèle : 1) par ozonation en mode discontinu ou continu de l’eau de mer, 2) par absence de traitement, 3) par alimentation par une algue de fourrage. Ce dernier traitement a été remplacé, lors d’une seconde expérimentation, par une aération forcée de l’eau des bacs.

L’activité valvaire des huîtres a été observée toutes les demi-heures en journée pendant la phase de contamination. La comparaison des différents modes de traitements réalisés révèle l’effet négatif sur l’activité valvaire de l’ozonation de l’eau de mer. L’ozone étant instable, ce sont les produits de décomposition qui agissent, notamment ceux dus à l’oxydation du brome (surtout BrO^- et BRO_3^-). Ceux-ci sont réputés toxiques, en particulier sur les larves d’huîtres à partir de 1 mg/L (Stewart *et al.*, 1979). Globalement, on peut observer que la décontamination à l’ozone est moins efficace que la décontamination biologique et à peine plus efficace que l’absence totale de traitement. A partir d’une toxicité moyenne de 536 $\mu\text{g.}\dot{\text{e}}\text{q.}\text{STX}$ pour 100 g de chair, le retour à des niveaux de toxicité inférieurs au seuil de santé publique est réalisé en sept jours lorsque les huîtres toxiques sont nourries avec *I. galbana* et entre 14 et 16 jours pour les traitements physico-chimiques de l’eau, sans adjonction de nourriture.

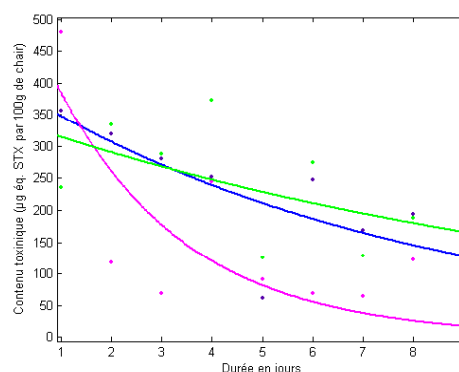


Fig. 36 : Détoxification d’huîtres contaminées PSP : comparaison entre un témoin non nourri (en bleu), de l’eau de mer ozonée (en vert) et un lot nourri avec *Isochrysis galbana*.

2.3.4 Procédés physico-chimiques : traitement par le peroxyde d'hydrogène de mollusques contaminés DSP

Le peroxyde d'hydrogène a montré son efficacité lors de traitements expérimentaux d'eaux de ballast contenant du phytoplancton toxique (Tsolaki and Diamadopoulos 2010) et il est également utilisé dans les procédés d'oxydation avancée (AOP) pour le traitement d'eau potable contenant des cyanobactéries toxiques (Ellis 2009). Au sein de l'atelier 3, nous avons développé puis testé une technique de détoxification rapide de coquillages toxiques par l'application d'un court traitement au peroxyde d'hydrogène (10 jours). L'objectif de cette étude était d'accélérer le processus naturel de détoxification de moules contenant les principales toxines impliquées dans les contaminations diarrhéiques (AO, DTXs), par application d'un peroxyde d'hydrogène à 42% breveté pour l'innocuité alimentaire de son stabilisant.

De 2008 à 2010, différentes expériences de traitement ont été menées consécutivement à Bouin puis à Nantes à partir de coquillages naturellement contaminés.

Le protocole expérimental suivi a consisté à immerger environ 60kg de moules disposées dans des mannes (6) réparties dans des bacs de 700L chacun. L'eau de mer filtrée qui alimente les bacs est régulée à une température constante de 16°C et fonctionne en circuit fermée ($6 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$). La détoxification des bivalves a été comparée selon que les coquillages aient été simplement stockés dans un bac alimenté en eau de mer ou en eau de mer additionnée d'une dose journalière de peroxyde. La distribution de l'oxydant (précision à 1 ppm) est assistée par un ordinateur qui pilote un système de contrôle et régule une sonde redox en platine de deuxième génération.

Le protocole analytique suivi a été réalisé à partir de prélèvements journaliers de glandes digestives (GD) de moules (90 individus par bac) stockés et préservés dans l'azote liquide en attendant la fin de l'expérience. Au laboratoire, les échantillons récoltés sont décongelés, broyés, extraits à l'acétone puis analysés en chromatographie liquide couplée spectrométrie de masse (Piège d'ion, Finnigan LCQ). La quantification des DTXs dans les GD est réalisée selon un mode opératoire défini (Mondeguer F., 2002).

Dans un premier temps, les différents essais ont permis de développer la technique pour que le peroxyde d'hydrogène ne se dégrade pas au cours du temps et pour que la concentration d' H_2O_2 utilisée pour le traitement n'entraîne ni mortalité ni modification physiologique majeure (Indice de Condition) des moules.

Evolution du procédé "Traitement Oxydant" testé sur moules (2008-2010)

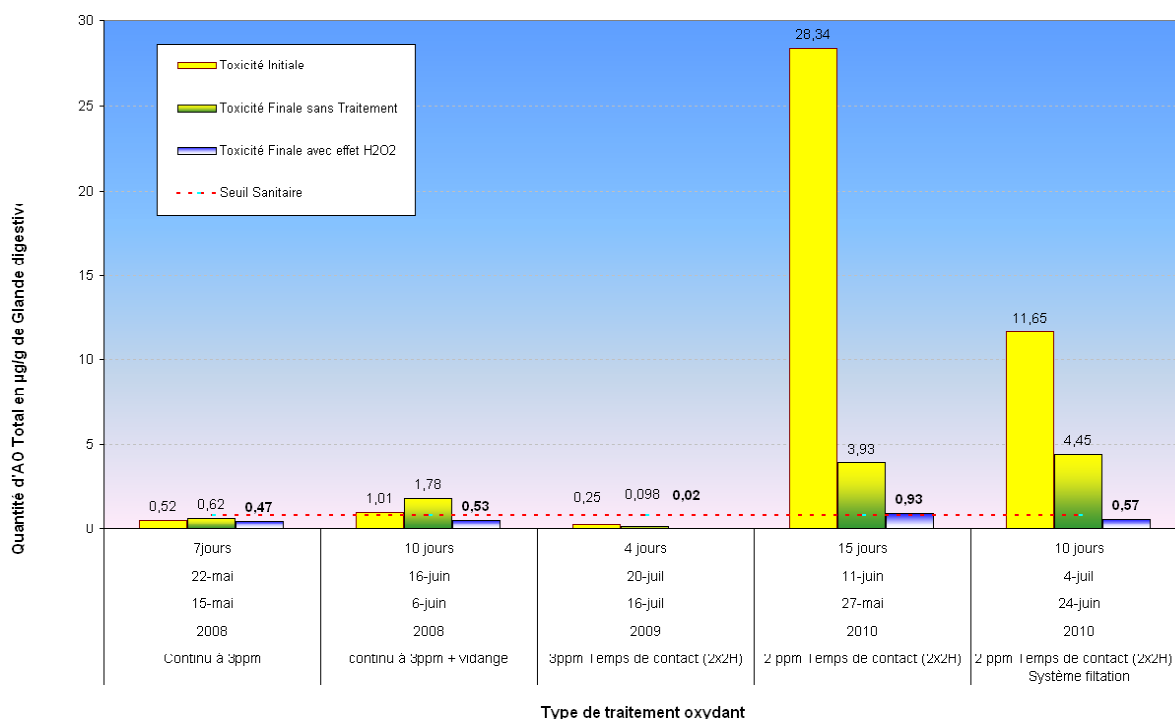


Figure 37 Ensemble des résultats de détoxification DSP obtenus entre 2008 et 2010 sur des moules après traitement à H₂O₂.

Les résultats (fig37) des cinq expériences menées de 2008 à 2010 sur des moules diversement contaminés DSP (fluctuation naturelle) montrent que l'on observe bien un effet détoxifiant plus significatif sur des moules traitées au H₂O₂ que sur les témoins non traités. On observe également que c'est finalement le traitement par ajout séquentiel d'oxydant qui se révèle le plus efficace.

En 2010, l'augmentation du nombre de prélèvement (tous les jours) permet de mettre en évidence deux profils de toxicité différents : celui de l'expérience du 27 mai 2010 (maximum de la contamination en zone mytilicole) où la présence de métabolite de l'acide okadaïque (DTX3), n'a pas été détectée, et celui de l'expérience du 24 juin 2010 (début de la décontamination de la zone mytilicole) où l'on observe cette fois la présence des DTX3. Cependant quelles que soient les cinétiques de détoxification observées (avec ou sans traitement) on doit noter les fluctuations importantes de la concentration en AO, aussi bien chez les témoins que chez les moules traitées.

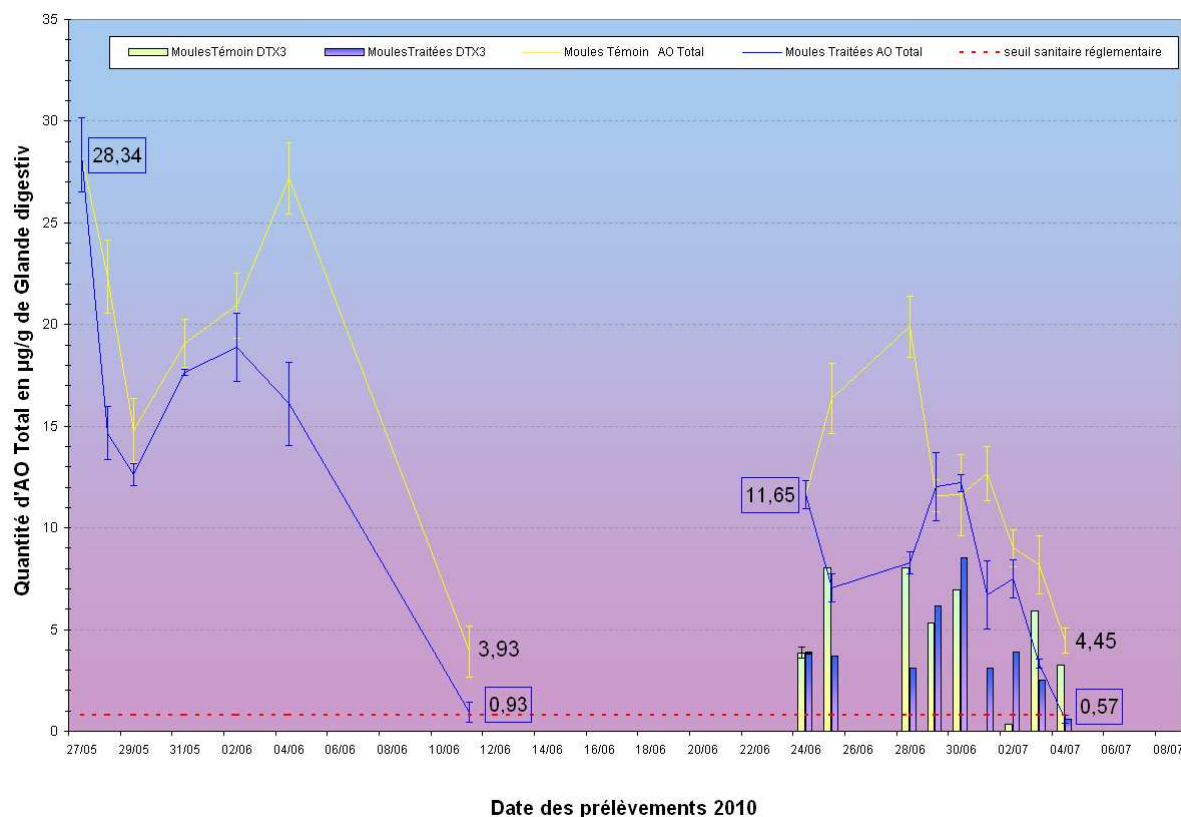


Figure 38 : Détail des résultats de détoxification DSP obtenus en 2010 sur des moules ayant ou non subi un traitement H_2O_2

Ces cinétiques ne correspondent pas aux exponentielles négatives de premier ordre habituellement observées. Il semble que le fort dépassement des niveaux de contamination 1400µg d'AO par Kg de chair, soit 7 fois la limite sanitaire (160µg/Kg ou 0,8µg/g de GD), atteint en 2010, rende difficilement prévisible l'utilisation d'un modèle classique de détoxification. Ce qui conduit à considérer que d'un point de vue économique le processus de la détoxification par ajout de peroxyde n'est pas suffisamment maîtrisé, et dans l'état actuel de nos études, il n'est pas possible de préconiser l'utilisation du H_2O_2 dans le cadre d'un pilote de détoxification DSP semi-industriel. D'un point de vue scientifique cependant, les mécanismes mis en place pour cette détoxification sont encore à explorer.

2.3.5 Décontamination de moules contenant des dinophysistoxines par ajout de lécithine

La présence de métabolites lipophiles de l'acide okadaïque (DTX3) dans les bivalves a conduit à l'hypothèse que l'ajout de lécithine dans la nourriture pouvait être un facteur favorisant la décontamination. Un essai sur des moules contaminées par des dinophysistoxines a été réalisé en juin 2009 avec une dose de lécithine définie à partir d'un brevet déposé par une société norvégienne (5g par kilogramme de moules). L'essai a révélé que cette dose entraînait une mortalité importante en début d'expérience en raison d'une

baisse de l'oxygène dans le milieu. Au bout de 7 jours d'observation, la concentration en acide okadaïque libre n'a pas baissé significativement mais la concentration en DTX3 a diminué d'environ 40%. Cette expérience mériterait d'être réitérée avec plusieurs doses de lécithine délivrées sous forme de granules comme cela est pratiqué en aquaculture.

2.3.6 Procédés biologiques reposant sur l'ingestion de particules alimentaires

1) inorganique : essais en population et en individuel avec kaolinite

Dans cette étude, les huîtres *Crassostrea gigas* ont été dans un premier temps contaminées expérimentalement avec un flux continu d'un dinoflagellé toxique, *Alexandrium minutum* (150-200 cellules ml⁻¹) pour atteindre une concentration finale en toxine dans les chairs égale à 438 µg eq STX 100g⁻¹. Afin d'optimiser le taux de détoxification, deux types d'expériences ont été comparés : (A) des huîtres ont été nourries avec du *Skeletonema costatum* uniquement, ou bien nourries (B) avec du *S. costatum* à la même concentration que pour (A) mais en ajoutant des particules d'argile fine (20 mg l⁻¹ de kaolinite). Enfin un groupe témoin d'huîtres contaminées (C) ont été placées dans de l'eau de mer sans apport alimentaire. L'analyse du contenu toxinique a été réalisée par HPLC-FLD. L'alimentation en *S. costatum* réduit significativement le temps nécessaire pour atteindre le seuil sanitaire en moins de 6 jours (80 µg eq. STX. 100 g⁻¹ de chair humide), tandis que, malgré une accentuation des cinétiques de détoxification, l'effet de l'ajout d'argile ne peut pas être démontré de façon significative. Ces différentes méthodes de détoxification n'influent pas sur les biotransformations observées dans les tissus de l'huître, c'est-à-dire sur l'épimérisation et la décarbamoylation des gonyautoxines 2 et 3.

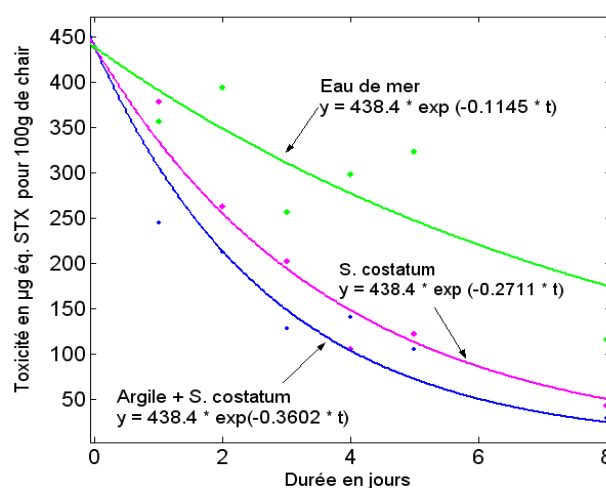


Fig. 39 : Cinétiques de détoxification d'huîtres nourries avec *S. costatum* seul (en rose), *S. costatum* additionné de kaolinite (en bleu) ou non nourries (témoin en vert)

Ces essais ont été réitérés en 'individuel' en comparant, cette fois, les cinétiques de détoxification d'huîtres creuses en eau de mer seule et en eau de mer additionnée de kaolinite, sans ajout de nourriture algale. Les huîtres étaient, dans ce cas, placées en boîtes individuelles selon le même protocole expérimental que celui décrit dans la partie 'stade de maturation des huîtres'. En phase de contamination (8 jours), une concentration d'*A. minutum* de 500 cellules/mL était maintenue dans le circuit grâce à un fluorimètre de régulation. En phase de détoxification (4 jours), les deux stands étaient séparés en deux circuits fermés différents. Le stand témoin contenait uniquement de l'eau de mer alors que des particules de kaolinite (diamètre entre 2 et 4 μm) étaient ajoutées à l'eau de mer dans l'autre stand. La concentration en kaolinite était régulée à 20 mg/mL par un turbidimètre. La toxicité des huîtres du témoin est restée constante (280 μg éq. STX 100g⁻¹) avec de faibles variations durant les 4 jours de décontamination. On observe cependant une décroissance de la toxicité dans le stand 'kaolinite' jusqu'à une valeur relativement faible de 115 μg éq. STX.100g⁻¹, ce qui reste supérieur au seuil de salubrité (80 μg éq. STX 100g⁻¹).

2) organique : modèles de détoxification comparés avec eau de mer seule

Dans des essais de détoxification pratiqués (Lassus *et al*, 2002) sur des huîtres contaminées PSP par *A. minutum* puis décontaminées avec 4 régimes différents d'algues fourrages (*Skeletonema costatum*, *Thalassiosira weissflogii*, *Isochrysis galbana* et *Tetraselmis suecica*) il s'est avéré qu'aucun de ces quatre régimes alimentaires non toxiques ne montraient de différence significative au niveau des cinétiques de détoxification. Par ailleurs le seuil de salubrité était atteint assez rapidement, soit en 4 à 5 jours. Il n'y avait apparemment pas d'effet de la taille des cellules (entre 4,3 et 18,04 μm) ni de la composition biochimique de ces algues (deux fois plus de lipides chez *I. galbana* que chez les autres microalgues) sur la vitesse de détoxification. Des essais réalisées sur des moules (Lassus *et al*, 1994) contaminées PSP avec *A. minutum* puis décontaminées avec deux concentrations cellulaires de *T. suecica*, avaient montré des temps de détoxification plus longs (15 à 20 jours) mais une influence significative d'une augmentation de la concentration algale sur la vitesse de détoxification.

Des essais à taille semi-industrielle (projet européen SHELLFISH) ont été réalisés pour valider un pré-pilote en circuit fermé à la fois sur : 1) des huîtres saines pour tester la faisabilité d'un stockage contrôlé (température, concentration algale, ammoniacque) avec nourriture algale en continu et conservation de la qualité de l'eau et des coquillages; 2) pour des huîtres artificiellement contaminées en toxines paralysantes (nutrition avec *Alexandrium minutum*). Il n'a pas été noté de modification de l'indice corporel (IC) ni de mortalité significative durant la période expérimentale tandis qu'on observait un abattement de 60% du contenu toxique après 6 jours de nutrition avec *Skeletonema costatum*.

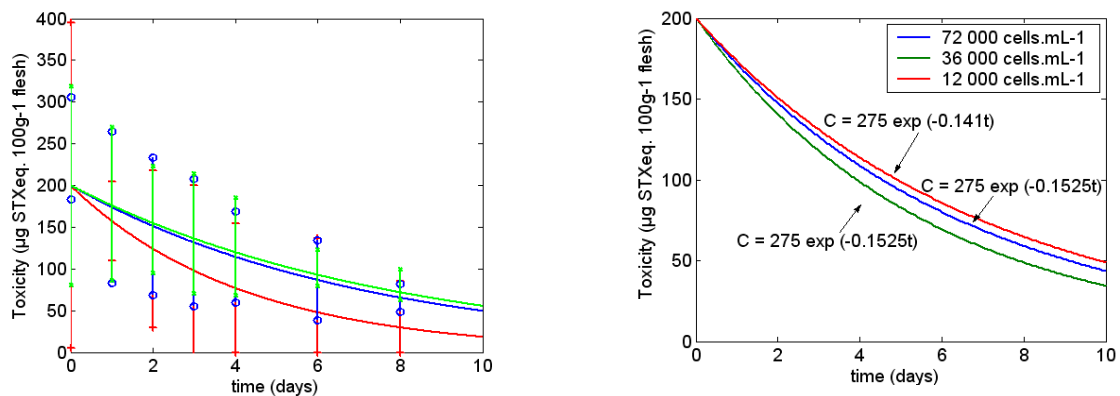


Fig. 40: A gauche : effets de la température (12, 16 et 20°C) sur les cinétiques de détoxification PSP des huîtres : pas d'effet significatif. A droite : effets de la concentration en microalgue fourrage (*Isochrysis galbana*) sur les cinétiques de détoxification PSP : pas de différence entre 12000, 36000 et 72000 cellules mL⁻¹).

En ce qui concerne le stockage d'huîtres saines dans ce circuit fermé des résultats satisfaisants ont été obtenus avec 50 ou 150 Kg de charge en coquillages pour une température de 16°C. Pour ce qui est de la détoxification PSP d'huîtres artificiellement contaminées avec *A. minutum*, les résultats obtenus sont prometteurs puisque, en dépit de niveaux de contamination inférieurs au seuil de santé publique, un abattement de 60 % de la toxicité initiale a été observé en 5 jours dès lors que le système re-circulé était alimenté avec l'algue fourrage *Skeletonema costatum*.

Deux expériences ont été réalisées dans le cadre du projet BIOTOX dans les installations expérimentales de la station du Bouin et avec des moules (*Mytilus edulis*) contaminées DSP provenant d'une concession mytilicole de Baie de Vilaine. Pour les deux expériences la concentration initiale était du même ordre de grandeur (environ 4µg. AO eq. g⁻¹ de glande digestive humide) et les moules ont été soit nourries avec *S. costatum* soit non nourries.

La faible mortalité enregistrée au cours des essais a démontré que les installations expérimentales étaient adaptées aux objectifs. Les cinétiques de décontamination s'ajustent sur deux modèles différents : une régression linéaire pour le premier essai et une exponentielle décroissante pour le deuxième. Néanmoins, quelque soit le modèle, la comparaison des pentes montrent un effet positif et significatif, de la nourriture sur la décontamination. Les tests aboutissent aux mêmes conclusions à savoir que plus l'apport de nourriture est élevé plus la vitesse d'élimination des toxines est grande.

Les taux de détoxification ont été calculés à partir de la différence des concentrations entre le début et la fin de l'expérience. Si l'on compare le taux d'élimination de l'Acide Okadaïque, principale toxine DSP, selon sa forme chimique, on observe :

- i) un taux de détoxification qui augmente avec la prise de nourriture, que l'AO soit sous forme libre ou totale
- ii) une élimination plus rapide de l'AO libre que de l'AO total,
- iii) une réduction, par l'apport de nourriture, de la différence de détoxification entre AO libre et AO total. Ce résultat, mis en évidence par les tentatives de modélisation décrit dans la littérature, suggère que la nourriture agit sur l'élimination des formes dérivées de l'AO. On pense aux acyl-esters synthétisés par les bivalves.

Les résultats des analyses des biodépôts qui révèlent une présence majoritaire d'AO sous forme estérifiée, conforte l'hypothèse précédente. Le calcul du temps nécessaire pour diminuer de moitié la concentration initiale montre que les valeurs (entre 6 et 11 jours) sont comparables aux valeurs publiées dans la littérature. On constate cependant une durée de demi-épuración différente pour deux lots de moules de même espèce et présentant une contamination initiale très proche à la même période.

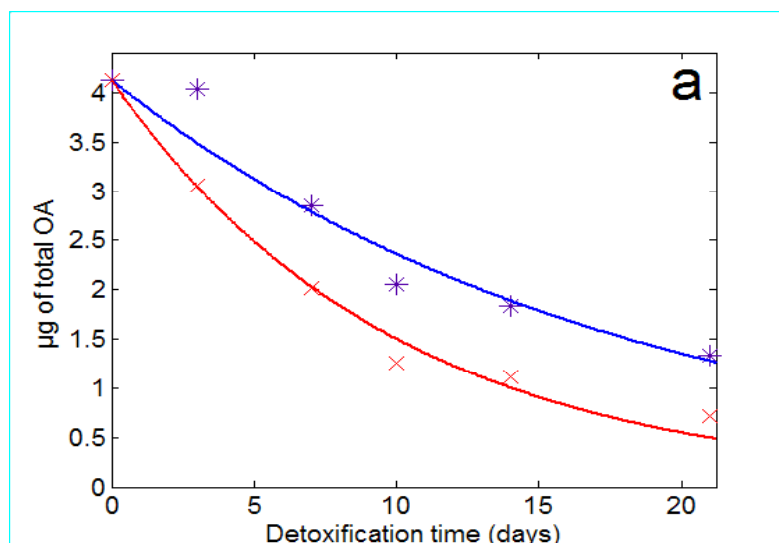


Fig. 41 : Cinétiques de détoxification DSP de moules nourries avec *S.costatum* (en rouge) et non nourries (en bleu).

La synthèse des résultats de ces essais laisse entrevoir des pistes de travail pour accélérer le processus d'élimination des toxines diarrhéiques. Deux voies de recherche ont été mis en place en 2008 : l'une visant à prospecter un lien éventuel avec les lipides de réserve, l'autre ayant pour but de rechercher la localisation des toxines dans les compartiments cellulaires .

Modélisation de la détoxification de mollusques bivalves contenant des phycotoxines paralysantes ou diarrhéiques

Ce travail a porté sur deux couples de mollusques bivalves - phycotoxines, à savoir huîtres (*Crassostrea gigas*) – toxines paralysantes et moules (*Mytilus edulis*) – acide okadaïque et ses dérivés (toxines lipophiles induisant des symptômes de type diarrhéique). Dans un premier temps, l'approche choisie a été de décrire et de comprendre le devenir des toxines dans le mollusque de l'ingestion à l'excrétion. Dans un deuxième temps, les différents mécanismes ont été modélisés afin d'apprécier leur part respective dans la modélisation de la cinétique de détoxification des mollusques bivalves contenant des phycotoxines.

Au niveau du tractus digestif des huîtres et des moules, il a pu être mis en évidence un comportement différent en fonction du type de microalgues. Celles qui produisent des phycotoxines paralysantes (genre *Alexandrium*) ont la capacité de former très rapidement des kystes de résistance pendant le transit. Elles vont ainsi pouvoir résister aux actions enzymatiques et mécaniques de lyse cellulaire, plus particulièrement au niveau de l'estomac. Une grande partie des *Alexandrium* va transiter de la bouche à l'anus sans subir de dégradation et les toxines ne seront pas ou très peu libérées dans le tractus digestif. Par contre, les cellules productrices d'acide okadaïque (genre *Dinophysis*), ont une thèque plus fragile, et n'ont pas ou peu la capacité de s'enkyster, ce qui entraîne une lyse cellulaire beaucoup plus rapide qui permet la libération des toxines présentes dans l'estomac.

Une fois libérées, les toxines vont se répartir dans différents compartiments. Les phycotoxines paralysantes vont se répartir majoritairement dans la glande digestive des huîtres ($64,1 \pm 9,9 \%$) puis dans le manteau ($11,0 \pm 4,2 \%$) et la gonade ($16,0 \pm 10,2 \%$) puis dans les branchies ($6,4 \pm 2,4 \%$) et enfin dans le muscle ($2,3 \pm 0,9 \%$). La faible quantité de résultats obtenus à partir de l'observation des variations des rapports isotopiques en $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ et $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ à partir de cultures enrichies n'a pas permis de déterminer la voie empruntée par les toxines pour cette répartition. Les toxines lipophiles sont majoritairement localisées dans la glande digestive. Les premiers essais de fractionnement cellulaire des cellules de l'épithélium de la glande digestive (collaboration avec le NIFES) par ultracentrifugation différentielle ont permis de montrer une interaction entre les lysosomes et l'acide okadaïque. Il est important de continuer cette étude afin de déterminer si un organite est responsable de la rétention des toxines dans la glande digestive.

En ce qui concerne l'influence des variables intrinsèques et extrinsèques il a pu être mis en évidence que le stade reproductif aurait un impact sur l'accumulation des toxines paralysantes en comparant, à la même période de l'année, des huîtres diploïdes

sexuellement matures et des huîtres triploïdes non matures. Enfin, la fourniture de microalgues non toxiques permet d'accélérer la cinétique de détoxification des moules et des huîtres contenant, respectivement, des phycotoxines lipophiles et paralysantes.

La première étape de la démarche de modélisation s'est intéressé au passage des cellules phytoplanctoniques dans le tractus digestif. Un modèle de type piston à dispersion axiale a permis de décrire le devenir des cellules dans l'intestin. Il a également servi à établir un modèle plus global décrivant le transfert des toxines paralysantes dans les différents tissus de l'huître (estomac, intestin, glande digestive, gonade, manteau, muscle, branchies). En fait, ce modèle peut être agrégé en un modèle plus simple constitué uniquement de deux compartiments correspondant à la glande digestive et aux autres tissus. De plus, des modèles prenant en compte les biotransformations possibles au sein de la glande digestive et des autres tissus ont été évalués. Il s'est avéré que dans le cas de contamination d'huîtres *Crassostrea gigas* par de *Alexandrium minutum*, l'influence des biotransformations était négligeable par rapport à l'élimination de ces composés. Il a cependant pu être mis en évidence que deux analogues (représentant plus de 90% du contenu toxinique) semblent gouverner la cinétique de détoxification. Un coefficient de détoxification variant en fonction de ces deux analogues a été défini.

Pour ce qui est des moules et des toxines lipophiles, la prise en compte des biotransformations ne permet pas d'améliorer le modèle. En fait, un modèle à un

compartiment ($\frac{\partial C}{\partial t} = -k \times C$; avec C la quantité de toxines, t le temps et k le coefficient de détoxification) permet de décrire correctement la cinétique de détoxification des moules contenant des toxines lipophiles. D'après les données du réseau de surveillance norvégien, il apparaît que la présence de microalgues non toxiques et la température ont un effet significatif sur la détoxification.

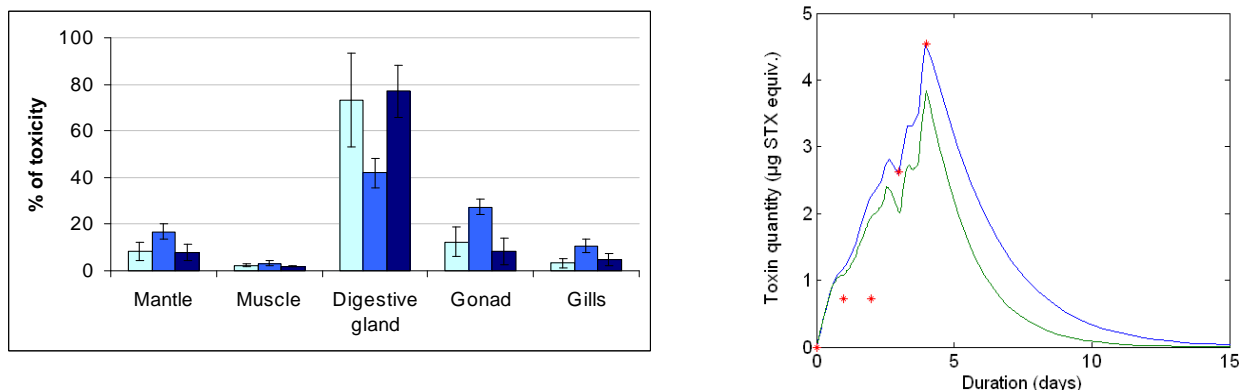


Figure 42 : Contribution de chaque tissu à la contamination PSP des huîtres (à gauche) : globalement c'est bien la glande digestive qui contribue le plus à la toxicité du mollusque. Comparaison des cinétiques de contamination / décontamination des huîtres par les PSP (à droite) : un modèle prenant

en compte seulement la glande digestive et les autres tissus (en vert) donne des résultats aussi valables qu'un modèle intégrant cinq tissus différents (en bleu)

L'étude a permis de soulever plusieurs questions :

- Par quelle voie sont incorporées les toxines paralysantes (voie d'assimilation du carbone, de l'azote ou autre) ?
- Est-ce qu'un organite retient les toxines lipophiles dans la glande digestive de moules ? Et si oui, lequel ?
- Quelle est l'influence de l'état physiologique et plus particulièrement du degré de maturation sur l'accumulation et la détoxification des mollusques bivalves contenant des phycotoxines ?
- Quelle est l'influence des biotransformations si le profil toxinique de la microalgue est différent ?
- L'influence de l'apport de matière organique lors de la détoxification suit-il une relation linéaire ? De même pour la température ? Quelle est l'influence réelle de la matière inorganique ?...

Conclusions

Une synthèse peut être réalisée à partir des résultats de différentes études développées in situ ou en laboratoire et avec des quantités de mollusques bivalves allant d'une dizaine à quelques centaines de kilos.

En ce qui concerne les facteurs présumés favoriser la bioaccumulation de toxines DSP par les moules en milieu naturel, les travaux sur les bases de données norvégiennes ont permis de montrer qu'il n'y avait pas de corrélation directe entre la concentration en DSP des moules et la concentration en *Dinophysis* dans l'eau. Par ailleurs, ni l'oxygène dissous, ni les phosphates, ni l'azote, ni la salinité ne semble avoir d'impact sur les cinétiques de bioaccumulation. En fait ce sont la température de l'eau et la charge en chlorophylle (indicateur de la biomasse phytoplanctonique) qui semblent être les variables décrivant le mieux la bioaccumulation des DSP dans les moules sur la base d'un modèle simple.

Expérimentalement, pour ce qui concerne *Alexandrium* et les toxines PSP, il ne semble pas que l'augmentation de concentration de micro-algues toxiques modifie notablement les cinétiques de bioaccumulation des toxines.

Enfin, il apparaît que le facteur 'stade de maturation du mollusque', dans le cas particulier de l'huître creuse, serait susceptible de ralentir la bioaccumulation de toxines PSP, du moins par rapport à un témoin en repos sexuel (huîtres triploïdes).

En ce qui concerne les procédés de détoxification 'forcée' (il s'agit d'obtenir une teneur en toxines inférieure au seuil sanitaire dans un temps plus court que dans le milieu naturel), les résultats les plus performants ont été obtenus en nourrissant des huîtres contaminées PSP (moins de six jours) avec du phytoplancton non-toxique du type 'algue fourrage'. La qualité ou la taille des cellules non-toxiques ne semblent pas être des facteurs importants. Par contre, la concentration en micro-algues, dans le cas de moules contaminées PSP, semble être au contraire un facteur à considérer. Dans le cas des moules contaminées par des DSP la nutrition avec des micro-algues fourrage permet également de réduire significativement – par rapport à un témoin 'eau de mer seule'- le temps de détoxification. Malheureusement la durée nécessaire pour atteindre le seuil sanitaire reste encore trop longue (une vingtaine de jours) avec ce procédé pour pouvoir l'utiliser dans un pilote de détoxification. L'ajout de particules inorganiques (silt) aux micro-algues fourrage ne permet pas d'augmenter très significativement les performances de détoxification dans le cas des huîtres contaminées PSP.

Compte-tenu des résultats mitigés de détoxification DSP des moules par nutrition forcée d'autres procédés ont été étudiés, en particulier deux types de détoxification physico chimique : i) avec des oxydants comme l'ozone ou le peroxyde d'hydrogène, ii) avec de la lécithine pour favoriser l'extraction des toxines lipo-solubles. Dans le premier type de traitement les résultats ont été sans intérêt en ce qui concerne l'ozone et probants en ce qui concerne le peroxyde. Cependant, dans le cas du peroxyde les durées de détoxification restent encore trop longues et surtout la cinétique de détoxification n'est pas maîtrisée, ce qui ne permet pas d'envisager pour le moment un passage au stade d'un pilote industriel. Avec le deuxième type de traitement, qui a fait l'objet d'un dépôt de brevet par une entreprise norvégienne, la dose de lécithine utilisée et la forme sous laquelle elle a été introduite n'a pas permis d'obtenir une détoxification significative en sept jours.

Aussi bien pour les toxines PSP que DSP des modèles simples à un compartiment ont permis de simuler au mieux les cinétiques de détoxification. Dans le cas des toxines PSP la prise en compte des bio transformations opérées par le mollusque ne permet pas d'améliorer ces modèles.

2.4 Atelier 4 : Aspects technico-économiques

Le volet technico-économique du projet Comsaumol a pour objet d'analyser la viabilité économique des procédés qui ont été étudiés et qui sont destinés à affranchir les

conchyliculteurs des conséquences économiques d'une fermeture administrative de la commercialisation.

Si la présentation des résultats de ce volet apparaît en conclusion du travail, la recherche n'en a pas moins été menée en parallèle des autres volets, dans l'objectif de garantir l'opérationnalité des procédés mis au point.

La méthodologie retenue est celle d'une analyse classique de comparaison des coûts et des bénéfices associés aux procédés. Ces derniers correspondent aux coûts entraînés pour les entreprises par une fermeture administrative ; ils ont été évalués par une méthode récente et originale (Le Grel, 2011). La méthodologie est exposée dans un premier paragraphe avant que ne soient présentés les résultats de l'étude *stricto sensu*. Le troisième paragraphe met l'accent sur les enseignements méthodologiques et la mise en perspective de travaux futurs.

2.4.1 Méthodologie : typologie des entreprises conchyloles et analyse coûts bénéfices

La méthodologie mise en oeuvre pour l'évaluation de la viabilité économique des procédés est basée sur l'application d'une analyse autour coûts-bénéfices à une typologie d'entreprises (A) d'où se dégagent des enseignements (B) qui commandent les scénarii à étudier (C).

A. La typologie des entreprises

Une enquête réalisée dans le cadre du projet Gerrico auprès d'une quarantaine d'entreprises ostréicoles de la baie de Bourgneuf a permis d'établir une typologie des entreprises en trois classes (Le Grel & Le Bihan, 2009) :

- 1) Groupe 1 : les entreprises à vocation industrielle écoulant des tonnages relativement importants (60 t), travaillant avec de la main d'œuvre salariée et implantées sur plusieurs bassins ;
- 2) Groupe 2 : les entreprises familiales avec un tonnage moyen (30 t) sans dynamique d'investissement ;
- 3) Groupe 3 : les entreprises avec un tonnage moyen (30 t) dirigées par de jeunes entrepreneurs.

Ces trois groupes ont des stratégies commerciales qui les amènent à privilégier certains circuits de distribution. Ceux-ci influent directement sur leur prix moyen de vente qui est

d'autant plus élevé que la part de la vente directe aux consommateurs est grosse et d'autant plus faible que la part de la vente en gros est importante.

Outre le prix moyen, les circuits de distribution jouent sur le rythme des ventes : la vente sur les marchés hebdomadaires tend à lisser la saisonnalité des ventes et le pic des ventes de Noël est moins marqué.

La classification des entreprises recouvre également des dynamiques d'investissement différentes en fonction de l'horizon professionnel du chef d'entreprise (proximité plus ou moins grande du départ à la retraite en l'absence de successeur) et de ses contraintes financières.

La stratégie de localisation des parcs diffère entre les classes, les ostréiculteurs de la classe 1 étant tournés vers l'extérieur alors que les deux autres groupes privilégient la baie. Ceux de la classe 3 voient d'ailleurs dans la disponibilité des parcs une contrainte majeure au développement de leur activité puisqu'ils présentent un ratio d'utilisation des surfaces détenues de l'ordre de 96 % quand ceux du groupe 1 n'en sont qu'à 88 % et que le ratio dépend même à 61 % pour ceux du groupe 2.

B. Enseignements à tirer pour Comsaumol

Cette typologie présente une portée opérationnelle pour le projet Comsaumol car elle fournit des éléments de compréhension des conditions dans lesquelles les diverses catégories de professionnels pourraient être intéressés par les procédés de sauvegarde.

Elle donne ainsi des bases pour le dimensionnement des installations. Celui-ci doit être en effet ajusté au rythme de la commercialisation or le profil intra-annuel des ventes a pu être établi sur une base mensuelle (Le Grel et Le Bihan in Haure, 2009). En faisant l'hypothèse d'une stabilité quotidienne des ventes à l'intérieur du mois, il est possible d'évaluer le tonnage correspondant à la durée de sauvegarde souhaitée. La fourchette des volumes à stocker est évaluée par comparaison des mois creux et de ceux qui connaissent au contraire les pics de commercialisation,

Un autre outil a été développé. Il donne une évaluation du manque à gagner en fonction de la classe de l'entreprise (1, 2 ou 3) dans la typologie, de la période et de la durée de fermeture en jours (Le Grel, 2011). Il ne s'agit que d'une évaluation grossière des pertes de l'entreprise qui ne couvre pas des composantes plus difficilement chiffrables telles que la

perte d'image ou de clients par exemple mais c'est une première évaluation des pertes économiques a minima qui doit permettre par comparaison avec les coûts des dispositifs de sauvegarde envisagés de situer leur caractère opérationnel.

Lors de la réunion de restitution du 30 juin 2010, il a été convenu avec les représentants de la profession que la typologie des entreprises devait être recalibrée pour tenir de compte des particularités de chacun des bassins français en matière de stratégies de commercialisation. Un nouvel outil sera développé en ce sens dans l'avenir. Pour l'exercice présent, il est possible de travailler avec l'outil existant en étudiant la sensibilité des résultats à la variation des divers paramètres susceptibles de changer d'une région à l'autre.

Il est possible de tenir compte de la capacité de stockage des professionnels en bassins insubmersibles en nombre de jours. Par défaut, en fonction de pratiques observées, celle-ci est fixée à trois jours.

Le tableau suivant fournit une évaluation de la perte commerciale subie par une entreprise de chaque groupe en fonction de la saisonnalité de ses ventes par journée de fermeture administrative (une fois que les produits stockés ont été écoulés) :

Tableau 5. Estimation des pertes commerciales pour une journée de fermeture administrative (en euro)

	Entreprises moyennes		
	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3
Janvier	115	82	24
Février	109	70	23
Mars	100	68	22
Avril	63	59	19
Mai	47	42	15
Juin	39	42	16
Juillet	41	37	25
Août	61	37	28
Septembre	60	54	22
Octobre	87	65	26
Novembre	123	77	29
Décembre	747	198	218

Source : élaboration propre

Ce tableau matérialise les conséquences pour les ostréiculteurs d'un report de vente. Le niveau de la perte commerciale quotidienne évolue logiquement en fonction des quantités écoulées. Ceci tient à l'hypothèse de prix stables sur l'année qui correspond à la pratique traditionnelle des prix de campagne (ceci est d'ailleurs sans doute moins vrai pour la

campagne présente qui a vu les prix de gros et de détail connaître une augmentation importante fin 2010 compte tenu de la rareté des huîtres liée aux épisodes de fortes mortalités des naissains et juvéniles depuis 2008). La perte atteint donc son maximum au moment des fêtes de fin d'année.

Il est notable que les minima soient atteints au printemps et en été, saisons creuses pour la commercialisation mais qui sont les plus propices au déclenchement d'efflorescences toxiques.

Il faut conserver à l'esprit qu'il ne s'agit pas d'une évaluation complète de la perte économique consécutive à une fermeture. Celle-ci comprend d'autres composantes telles par exemple que la perte d'image ou le financement du différé de trésorerie. En outre, les huîtres qui continuent leur croissance sur les parcs pendant la période de fermeture peuvent atteindre une taille impropre à la vente dans le segment de marché occupé par l'ostréiculteur. C'est le cas pour une fermeture de longue durée en fin de saison comme celle qui a touché la Rivière d'Étel en 2010 : le n°3 du printemps était devenu du n°1 au départ de la saison suivante, calibre moins prisé sur le marché (com. pers.) La perte est alors plus élevée.

De plus, les stratégies tant productives que commerciales diffèrent substantiellement d'un bassin ostréicole à l'autre. L'ambition initiale qui était de réaliser le même tableau pour les principaux bassins s'est révélée matériellement impossible faute de temps pour adapter les données disponibles. Elle pourra être développée dans les travaux à venir.

Ces données doivent donc être considérées avec une certaine prudence. Elles fournissent néanmoins un cadre opérationnel à une première comparaison des conséquences d'une fermeture supportées par un ostréiculteur moyen et des coûts à supporter pour s'en affranchir. Dans l'exercice présent qui vise à dégrossir les pistes de recherche à développer en vue d'un transfert à la profession, elles se révèlent opérationnelles.

Le différentiel entre les « grosses » entreprises du groupe 1 et celles du groupe 2 tend d'ailleurs à s'annuler à cette époque. Ce qui traduit que la vente en grandes surfaces (clientes du groupe 1) est plus saisonnière que la vente sur les marchés (débouché privilégié du groupe 2).

Les ostréiculteurs du groupe 3 sont ceux dont la perte est la plus faible en raison de leur stratégies commerciales qui privilégient les bas prix de vente (notamment vente en gros). Il

faut rappeler que les entreprises du groupe 2 sont peu enclines à investir car leurs dirigeants sont proches de la retraite.

C. Les scénarios étudiés

Est ici testée la viabilité économique de dispositifs de sauvegarde en système semi-fermé et de stockage hors d'eau. Le système semi-fermé est constitué de procédés de traitement de l'eau de mer alimentant les bassins (filtration par membranes fibres creuses, filtre à sable, filtre à cartouche).

Deux scénarios ont été retenus :

- traitement de 3 t d'huîtres,
- traitement de 30 t d'huîtres,

qui permettent de couvrir la variété des besoins de stockage et de sauvegarde des ostréiculteurs de la typologie (tableau 6).

Tableau 6. Estimation de la production commercialisée mensuellement (en tonnes)

	Entreprises moyennes		
	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3
Janvier	4,39	2,96	1,55
Février	4,17	2,53	1,54
Mars	3,81	2,46	1,47
Avril	2,42	2,13	1,23
Mai	1,81	1,52	1,01
Juin	1,49	1,52	1,05
Juillet	1,57	1,34	1,67
Août	2,33	1,34	1,85
Septembre	2,31	1,96	1,48
Octobre	3,34	2,33	1,72
Novembre	4,71	2,76	1,89
Décembre	28,59	7,14	14,40
Total	60,95	29,98	30,88

Source : élaboration propre d'après l'enquête GERRICO, 2007.

Ce tableau met en évidence la saisonnalité différente des ventes des différents groupes. Le groupe 3 écoule la moitié de sa production pendant les fêtes à l'opposé du groupe 2 qui n'y réalise que le quart de ses ventes.

Il est difficile de calculer l'impact des dispositifs sur le coût de revient. Un bassin d'une capacité de 3 t peut être utilisé pour traiter seulement deux tonnes ou, à l'inverse, utilisé

deux fois, il peut voir passer 6 tonnes. Il est donc hasardeux de ramener le coût d'investissement à un tonnage précis.

En outre les coûts de fonctionnement dépendent pour une grande part du nombre de jours d'utilisation (par exemple le coût énergétique) ; s'ils sont variables ils n'en sont pas pour autant proportionnels à la production.

Ce qu'on peut évaluer c'est donc un prix de revient annuel en fonction du nombre de journées de fermeture, intégrant les coûts fixes d'investissement et de fonctionnement liés à la capacité du dispositif et les coûts variables liés à la mise en œuvre du dispositif. Comme on sait par ailleurs évaluer la perte commerciale entraînée par une journée de fermeture, il est alors possible de comparer ces deux grandeurs pour en tirer une indication quant à l'intérêt de chacun des différents dispositifs testés.

La méthodologie retenue consiste donc à comparer le prix de revient annuel de mise en œuvre des différents procédés avec l'évaluation annuelle des pertes commerciales subies lors des fermetures administratives par des ostréiculteurs moyens des trois groupes.

2.4.2 Les résultats

Une description détaillée des installations ainsi que du calcul des coûts d'investissement et de fonctionnement associés est donnée dans le rapport de l'évaluation économique du projet Comsaumol (Le Grel *et al.*, 2011). Ne sont ici repris que les éléments ayant une portée générale et les résultats des comparaisons coûts-bénéfices. La présentation de la première de ces comparaisons est développée afin d'illustrer la démarche ; par la suite, seuls les résultats sont fournis.

L'exposé commence par la sauvegarde en système semi-fermé ; la sauvegarde par stockage hors d'eau fait l'objet du deuxième paragraphe alors que le suivant met l'accent sur les différentes techniques de filtration.

A. La sauvegarde en système semi-fermé

Le procédé s'entend pour un bassin déjà rempli de micro-algues.

Coûts d'investissement et gains d'échelle :

La comparaison des coûts d'investissement fait apparaître de substantiels gains d'échelle. En effet, selon les premières estimations :

- un système prévu pour 1 t revient à 26 650 €,
- un système pour 5 t coûte 46 150 €,
- tandis que l'unité recevant 10 t revient à 65 600 €.

L'existence de gains d'échelle donne tout son sens à une réflexion en termes de mutualisation de l'investissement entre des ostréiculteurs d'un même site.

Niveau du coût d'investissement :

Les niveaux d'investissements requis sont relativement élevés. Et ce alors que l'avenir incertain de la profession qui fait face aux surmortalités affectant les juvéniles n'incite pas à se lancer dans des investissements (sauf ceux qui seraient justement destinés à réduire ces mortalités).

Il est notable cependant qu'une part importante de ces coûts correspond à la construction du bassin et du bâtiment dédié qui a vocation à protéger le bassin de l'eau de pluie. Cette dernière disposition s'impose en période d'efflorescence toxique car il est impossible de pomper de l'eau de mer contaminée. Il faut donc mettre le bassin à l'abri d'apports d'eau douce qui contribueraient à désaliniser l'eau dans laquelle les huîtres sont sauvegardées.

Une question importante concerne par conséquent l'adaptabilité des installations existantes. La plupart des ostréiculteurs ont en effet déjà des dégorgeoirs. Un système de couverture alternatif à la construction d'un bâtiment dédié pourrait permettre d'économiser des sommes importantes. La réglementation en matière de construction de dégorgeoirs ne prévoit de contraintes quant à leur dimensionnement. Il n'y a donc pas de taille standard qui aurait pu être utilisée ici à titre de référent. Cette piste de travail devra faire l'objet d'études ultérieures.

Le système de sauvegarde en système semi-fermé doit donc surtout se concevoir comme une intégration au sein de l'outil de travail existant.

Comparaison des coûts d'investissement et de fonctionnement aux pertes résultant des fermetures administratives :

Scénario 30 t :

Le scénario « 30 t » suppose la construction de trois bassins de 10 t ; d'après le tableau 6, il ne correspond qu'à un seul besoin mensuel individuel, le groupe 1 en décembre qui doit stocker 28,6 t pour ses marchés.

Si l'on y inclut le bassin et le bâtiment, le financement annuel du coût d'investissement est alors de plus de 30 000 € et disproportionné par rapport aux pertes à compenser : pour un ostréiculteur du groupe 1, cela correspond aux conséquences d'une fermeture permanente de la commercialisation.

Sans le financement du bassin ni du bâtiment, le coût annuel de mise en œuvre du système s'étage de 5 600 à 6 000 € coût de maintenance (435 €) compris.

Il est largement rentabilisé pour une fermeture administrative de trois semaines en décembre (perte de 13 447 €, tableau 5). Mais le même tableau montre qu'une fermeture de 6 mois dans les périodes creuses ne compense pas les coûts engagés. La probabilité d'une fermeture complète du mois de décembre tous les deux ans est trop faible pour garantir la rentabilité du dispositif

Dans le cas d'une utilisation collective par 4 ostréiculteurs du groupe 2 (soit environ 29 t à stocker en décembre), le système s'avère intéressant à partir de 7 semaines, voire 6 semaines de fermeture réparties sur les mois de mars à juillet :

- avec 3 semaines de fermeture en mars et trois autres en juillet, le système dégage ainsi un excédent de l'ordre de 1 000 € ;
- avec 3 semaines de fermeture en avril et trois autres en mai, le système dégage également un excédent, de l'ordre de 800 € ;
- avec un mois de fermeture en juin et 3 semaines en juillet, le système dégage un excédent de 760 €.

Et ce, sans autofinancement.

Le solde reste positif jusqu'à une augmentation de 80 % du prix de l'électricité et des frais de maintenance.

Ce résultat est d'autant plus intéressant qu'il s'agit des périodes les plus exposées aux efflorescences toxiques. Le deuxième intérêt de ce dispositif est de fournir une assurance contre les risques de fermeture en période haute de commercialisation (décembre) puisqu'il

est rentable pour une fermeture de commercialisation affectant les quatre ostréiculteurs utilisateurs entre décembre et la mi-janvier.

À l'opposé, l'attractivité du système se heurte aux difficultés de l'organisation collective et à la faible dynamique d'investissement de ce type d'ostréiculteurs, proche de la retraite.

Un troisième cas se présente avec une utilisation collective par deux ostréiculteurs du groupe 3 (ce qui représente également près de 29 t à stocker en décembre). Pour ce groupe, qui réalise la moitié de ses ventes pendant les Fêtes, le système ne présenterait d'intérêt que pour couvrir une fermeture de 21 jours en décembre tous les deux ans. Comme il a été dit plus haut cette situation présente un risque d'occurrence trop faible pour être retenue.

L'adjonction d'un système de sauvegarde en système semi-fermé d'une capacité de 30 t présente un intérêt dans le cas d'une utilisation collective par 4 ostréiculteurs du groupe 2, dans des zones exposées en moyenne à 7 semaines par an de fermeture administrative entre mars et juillet.

Scénario 3 t :

L'adjonction d'un système de sauvegarde en système semi-fermé d'une capacité de 3 t présente un intérêt dans le cas d'une utilisation par des ostréiculteurs des groupes 1 et 2, dans des zones exposées en moyenne à un dizaine (gr. 1) voire une douzaine (gr. 2) de semaines de fermeture réparties sur le début de l'année et l'automne, ou une vingtaine de semaines entre avril et septembre.

B. La sauvegarde par stockage hors d'eau

Le système de sauvegarde par stockage hors d'eau est simple de conception : il consiste à conserver les produits dans un local réfrigéré. Il se compose d'une chambre froide, d'un groupe frigorifique et d'un humidificateur.

Il trouve ses limites dans le fait qu'au bout d'une semaine les produits perdent en qualité faute d'une alimentation devenue impossible sans immersion. Ce délai d'une semaine est difficilement compatible avec la durée de trois semaines, seuil minimum d'une fermeture administrative.

Les résultats concernant la tenue des coquillages sont néanmoins encourageants. Il est clair qu'avec sa technicité réduite, le dispositif est très accessible et fournit une piste de recherche intéressante.

Le système de sauvegarde par stockage hors d'eau offre une piste de recherche intéressante grâce notamment à sa technicité réduite. Sa viabilité passe par la recherche de coûts d'investissement moins élevés, en redimensionnant les installations en fonction de la durée de tenue des coquillages.

C. La filtration

Le scénario évalué dans ce paragraphe, pour la sauvegarde des coquillages est le suivant : alimentation en eau de mer filtrée exempte de micro-algues, d'un bassin contenant les coquillages. Aucune recirculation de l'eau à l'intérieur du système de sauvegarde n'est prévue.

Les coûts sont évalués sur la base d'une enquête réalisée auprès des fabricants susceptibles de fournir de tels matériels. Le taux de retour de l'enquête n'a pas été suffisant pour fournir une base à des calculs de prix moyens robustes. Il a été jugé préférable de retenir à titre d'exemple des chiffrages émanant de professionnels déjà connus dans le secteur pour leur expérience. Une mise en concurrence de plusieurs fabricants est donc susceptible de se traduire par des prix moins élevés.

En outre, les industriels contactés au cours de l'étude pensent pouvoir réaliser des économies de l'ordre de 30 % sur les prix des matériels en cas de fabrication en série (ce qui s'entend par une centaine d'exemplaires).

Niveau du coût d'investissement :

Comme pour les systèmes de sauvegarde, les coûts inhérents à la construction d'un bassin abrité ne sont pas pris en compte. Il est considéré que le système de filtration doit être adapté aux installations existantes.

Des trois techniques de filtration, c'est la membrane qui présente les coûts d'investissement les plus élevés. Pour des débits élevés de 20 et 50 m³/h, ce coût revient à des annuités supérieures à 20 000 €. Ces options ne sont pas traitées ici. Elles restent néanmoins des

pistes de recherche intéressantes pour peu que les coûts d'investissement puissent être revus à la baisse, compte tenu de l'efficacité du système.

Contrairement aux systèmes de sauvegarde étudiés précédemment, les coûts ne sont pas proportionnels à la capacité d'accueil des coquillages mais à la capacité de traitement de l'eau. Plus le débit est important et plus les coûts associés au dispositif sont élevés. L'importance du débit n'influe en fait que sur la vitesse de remplissage du bassin. Celle-ci est essentielle lorsqu'il s'agit de remplir un bassin dans l'urgence, sous la pression d'une alerte sanitaire. Mais comme il a été dit plus haut dans la présentation des dispositifs, les ostréiculteurs peuvent s'organiser en conséquence pour avoir un bassin prêt en période à risques

Il convient donc de garder à l'esprit que, pour les systèmes de filtration, le débit doit être adaptée au mode de travail de l'ostréiculteur mais ne constitue pas une contrainte technique *a priori*.

Coûts de main d'oeuvre :

Le temps de main d'œuvre est estimé à deux heures par jour de mise en oeuvre de la filtration. Il s'agit essentiellement d'un travail de suivi et de surveillance pour prévenir un éventuel colmatage du filtre. Pour mémoire, cette main d'œuvre est ici facturée à 25 € l'heure. Ceci représente un coût de 50 € par jour de fonctionnement. Un retour aux chiffres du tableau 1 montre que cette somme suffit à obérer les chances de rentabilité du système dans la plupart des cas : pour les ostréiculteurs du groupe 3, par exemple, seule la perte quotidienne du mois de décembre y est supérieure. Compte tenu que les tâches de surveillance sont simples et ne nécessitent pas une qualification spécifique, ce coût de main d'œuvre sera négligé dans la suite de l'évaluation. Il sera couvert par un redéploiement de la main d'œuvre déjà présente sur l'exploitation.

L'examen des coûts fixes (tableau 7), à supporter quelle que soit la fréquence d'utilisation des équipements conduit à sélectionner quelques options techniques (les coûts fixes d'électricité ne sont pas repris dans le tableau car ils sont négligeables au regard du total) :

Tableau 7. Récapitulatif des coûts fixes annuels des dispositifs de filtration (€)

	Annuité d'investissement (1)	Membrane/ cartouche	Maintenance	Total
Membrane, 2 m ³ /h, non automatisée	2 916	2 250	720	5 886
Membrane, 2 m ³ /h, automatisée	7 956	3 750	1 890	13 596
Membrane, 5 m ³ /h, automatisée	12 636	9 000	3 120	24 756
Membrane, 10 m ³ /h, automatisée	20 892	12 000	5 160	38 052
Filtre à sable, 2 m ³ /h, non automatisé	660	0	90	750
Filtre à sable, 50 m ³ /h, non automatisé	1 320	0	180	1 500
Cartouche, 2 m ³ /h, automatisée	420	1 000	100	1 520
Cartouche, 10 m ³ /h, automatisée	732	2 210	200	3 142
Cartouche, 50 m ³ /h, automatisée	1 824	7 072	400	9 296

(1) dans le cas le plus défavorable et avec 0% d'autofinancement

Les systèmes de filtration par membrane avec automatisation sont actuellement trop chers au regard des risques commerciaux à couvrir pour les entreprises. Ils peuvent néanmoins conserver un intérêt pour des entreprises commercialisant un plus gros volume de coquillages puisque les coûts fixes seront à rapporter à un risque commercial plus important.

L'étude des deux scénarios est donc menée pour le système de filtration membranaire non automatisé, débit 2 m³/h, les filtres à sable et la filtration par cartouche.

Le scénario 3 t correspond à l'utilisation d'un bassin de 12 m³, celui de 30 t suppose un bassin 10 fois plus grand d'un volume de 120 m³. Puisque les coûts de construction du bassin ne sont pas pris en compte ici, c'est le même matériel qui sert mais qui traite un volume 10 fois supérieur. Dès lors, les seules différences entre les deux scénarios interviennent au niveau des coûts de fonctionnement dont l'impact est marginal et les résultats qui suivent sont donc valables pour les deux scénarios.

Systeme de filtration par membrane, non automatisée, débit 2 m³/h :

Pour un **ostréiculteur du groupe 1**, il ne couvre pas les pertes résultant de 18 semaines de fermeture entre avril et septembre (3 semaines par mois). Devient intéressant à partir de 15 semaines entre avril et août si le coût d'investissement est réduit de 30 % et si la durée de vie de la membrane peut être portée à un an et demi au lieu d'un an ; si on peut réduire de 50 % le coût de nettoyage quotidien (i.e. 5 € au lieu de 10), le système garantit contre les conséquences de 13 semaines de fermeture entre avril et août.

Pour un **exploitant du groupe 2**, il a peu de chances d'être intéressant s'il est utilisé individuellement (il faudrait une trentaine de semaines de fermeture tous les ans entre mars et octobre). Par contre, deux professionnels utilisant le système en commun entre mai et août, le rentabilisent à partir de 14 semaines de fermeture tous les ans. Avec un coût d'investissement réduit de 30 % et un coût de nettoyage quotidien diminué à 5 €, la rentabilité (à deux exploitants) est acquise au bout de 9 semaines de fermeture entre avril et juillet.

Pour un **ostréiculteur du groupe 3**, le système n'est pas intéressant, il ne couvre pas les pertes résultant de 3 semaines de fermeture par mois de janvier à novembre... Deux ostréiculteurs de ce groupe qui pourraient l'utiliser en commun entre janvier et juin (les autres mois leurs ventes mensuelles dépassent 1,5 t) ne couvrent pas plus des pertes qui résulteraient de trois semaines de fermeture par mois. Ils y parviennent tout juste dans le cas d'un coût d'investissement réduit de 30 % et d'un coût de nettoyage quotidien diminué à 5 €.

Système de filtre à sable, non automatisée, débit 2 m³/h :

Pour un **ostréiculteur des groupes 1 et 2**, le système est intéressant à partir de 5 semaines de fermeture entre juin et juillet au plus bas du profil saisonnier de l'activité, ou trois semaines en avril ou septembre.

Pour un **ostréiculteur du groupe 3**, le système n'est intéressant qu'à partir de 6-7 semaines de fermeture hors les mois creux de mai et juin que si l'on peut faire descendre le coût d'entretien en diminuant le coût du nettoyage.

Système de filtre à sable, non automatisée, débit 50 m³/h :

Pour un **ostréiculteur du groupe 1**, le système est intéressant à partir de 9 semaines de fermeture entre juin et août au plus creux de l'activité, ou 6 semaines sur les mois d' avril, mai ou septembre (5 semaines avec un coût du nettoyage abaissé).

Ces résultats sont valables pour un **exploitant du groupe 2**.

Pour un **ostréiculteur du groupe 3**, le système est intéressant pour une utilisation en commun, à deux, à partir de 10 semaines de fermeture entre juin et septembre.

Systeme de filtration par cartouche, automatisée, débit 2 m3/h :

Pour un **ostréiculteur du groupe 1**, le système est intéressant à partir de 6 semaines de fermeture entre juin et juillet, en basse saison commerciale .

C'est également le cas pour un **exploitant du groupe 2**.

Un **ostréiculteur du groupe 3** y trouve intérêt à partir de 11 semaines de fermeture pendant l'été à condition de réduire de 50 % le coût du nettoyage quotidien

Systeme de filtration par cartouche, automatisée, débit 10 m3/h :

Ce dispositif coûte deux fois plus cher que le précédent. Sans surprise il faut aussi doubler le temps d'utilisation pour le rendre intéressant, soit une quinzaine de semaines de fermeture de mai à août pour les **ostréiculteurs du groupe 1** et 18 semaines d'avril à août pour le **groupe 2**.

Partageant l'installation, deux exploitants du **groupe 2** la rentabilisent à partir de huit semaines de fermeture tous les ans.

Pour un **ostréiculteur du groupe 3**, le système peut trouver de l'intérêt dans une utilisation à deux dans une zone exposée à des fermetures de 14 semaines hors les mois creux de mai et juin.

Systeme de filtration par cartouche, automatisée, débit 50 m3/h :

Pour un **ostréiculteur du groupe 1**, le système est difficilement envisageable : il n'est intéressant qu'à partir de 31 semaines de fermeture entre mars et octobre (23 en diminuant les coûts d'investissement et de nettoyage).

Pareillement, un **ostréiculteur du groupe 2** ne trouve intérêt à ce dispositif qu'à partir de 36 semaines de fermeture (26 avec des coûts d'investissement et de nettoyage moindres).

Le système paraît peu praticable pour des professionnels du groupe 3.

Les résultats qui précèdent appellent quelques commentaires :

- ils ne doivent pas faire perdre de vue que les systèmes de filtration par membrane, s'ils sont associés à des coûts plus élevés, sont aussi plus efficaces pour la rétention des microalgues. Cette efficacité pourrait s'avérer un atout face à un éventuel durcissement des normes sanitaires et constitue en tout cas une garantie optimale ;
- le coût des matériels, aujourd'hui à l'état de prototypes, sera revu à la baisse avec la fabrication en série ;
- les filtres à sable donnent les meilleurs résultats en termes de comparaison coûts/bénéfices mais les systèmes de filtration par cartouche sont également attractifs. Il serait intéressant d'affiner les tests menés sur la filtration par cartouche pour voir si l'écart avec le coût des filtres à sable est compensé par le gain d'efficacité enregistré ;
- enfin, ces résultats ne sont que préliminaires. Ils ont vocation à dégrossir les pistes de recherche. Ils doivent être affinés et validés par des tests à taille réelle.

3. Conclusions et perspectives

Atelier 1 : Qualité de l'eau

Résultats sur les algues toxiques et les toxines dissoutes

Les premières observations concernant la survie des cellules toxiques et leur capacité à contaminer une zone saine à partir des excréments sont encourageantes. Il est clair que le risque n'est pas le même selon le type d'algue, ce risque étant élevé pour les *Alexandrium* et faible à nul pour *Dinophysis* ou certaines *Pseudo-nitzschia*. Ces résultats ne peuvent cependant pas être extrapolés à d'autres espèces toxiques, en particulier celles possédant des parois cellulaires résistantes comme les *Prorocentrum* benthiques ou des *Pseudo-nitzschia* de grande taille. On ne connaît rien non plus sur la capacité de résistance des kystes temporaires d'*Azadinium* au transit intestinal. D'autres études de ce type sont donc souhaitables. De même, en ce qui concerne la stabilité (forte) et la biodisponibilité (faible à nulle) des toxines PSP et DSP il est clair qu'on ne peut pas non plus extrapoler à d'autres types de toxines (ex : ASP) et que là aussi des travaux du même type seraient nécessaires.

Concernant l'étude des procédés de filtration d'eau de mer riche en phytoplancton et devant alimenter les bassins de coquillages, il a été montré que la microfiltration par membranes est

la plus adaptée pour la rétention des micro-algues comparativement à l'ultrafiltration. Les flux de perméat dépendent des caractéristiques des blooms à savoir les espèces micro-algues présentes et la composition du surnageant. Les taux de rétention en micro-algues restent quant à eux inchangés et égaux à 99% quel que soit la suspension de micro-algues entre *H. triquetra*, *A. minutum* et *P. lima*. Lors des microfiltrations membranaires, la consommation énergétique estimée a toujours été inférieure à 1 kWh/m³.

Les performances du filtre à sable ont été évaluées pour filtrer une eau de mer chargée en micro-algues de type *H. triquetra*. Les résultats obtenus avec une concentration d'environ 30 000 cells/mL démontrent une capacité de rétention pouvant atteindre 90% dans le cas de sable de taille moyenne inférieure à 300 µm et une vitesse superficielle d'environ 3,5 m.h⁻¹. Etant donné que la micro-algue étudiée a une morphologie proche de celle de la micro-algue toxique *A. minutum* et une taille similaire, on peut admettre que les résultats obtenus peuvent s'appliquer pour la rétention de cette micro-algue toxique. Une optimisation du temps de filtration avec une mise en œuvre d'une batterie de filtres pourraient être un moyen efficace pour remédier à la diminution des performances constatée au cours du temps lors des essais. Un calcul du coût énergétique effectué sur la base d'un bassin de capacité 50 m³ et une durée de remplissage de 5 heures démontre une consommation qui ne dépasse pas 0.2 kWh par m³.

Le coût estimé d'une filtration sur sable ou membranes de 2 m³/h d'eau de mer est de respectivement 1470€/an et 6100 €/an. Les coûts sont donc plus élevés pour la filtration membranaire même s'il apparaît que seule cette technologie, parmi toutes celles testées, garantit la quasi suppression des micro-algues de l'eau de mer.

A l'issue du programme COMSAUMOL, il reste à confirmer les estimations de coûts ainsi que les performances obtenues avec le filtre à sable et les membranes. Cela passe par des filtrations sur des unités industrielles, sur de longues durées d'expérience, avec de l'eau de mer directement prélevée dans le milieu naturel et en période de bloom phytoplanctonique.

Atelier 2 : Qualité du bivalve / Procédés de sauvegarde

L'objectif de la sauvegarde était de définir des procédés pour conserver des bivalves de taille marchande dans les meilleures conditions de survie et de maintien de la qualité initiale de chair. Deux types de sauvegarde ont été définis i) hors d'eau et ii) en eau.

La sauvegarde hors d'eau, à 3°C et à hygrométrie constante, ne peut s'appliquer que dans le cas de l'huître qui peut être maintenue pendant plusieurs semaines dans un état satisfaisant de commercialisation. Les moules en revanche sont inadaptées à ce type de sauvegarde.

Une étude économique doit être réalisée pour définir la faisabilité de sauvegarde de l'huître en chambre froide.

La mise au point de système re-circulé pour bivalves a relevé d'un véritable challenge du fait du manque d'information à ce sujet. Beaucoup de travaux ont été, en revanche, consacrés, à la pisciculture mais les procédés ne pouvaient être transférés aux besoins conchylicoles pour plusieurs raisons dont i) immobilité de l'animal ii) apport de la nourriture (phytoplancton) par dilution dans l'eau de mer.

L'étude a montré qu'il était possible de sauvegarder des animaux pendant au moins 5 semaines en privilégiant la survie (80-85%) et la conservation de masse de chair. Ce travail a été réalisé dans des conditions intensives (100 kg/m³) et avec un faible renouvellement en eau (10% par jour) pour minimiser les coûts d'investissement en bassin et en moyen de filtration.

Ces travaux ont été réalisés dans des volumes expérimentaux inférieurs ou égal à 2 m³ et il est indispensable aujourd'hui de pouvoir valider ces procédés à une échelle pilote plus proche de la réalité professionnelle afin de mieux appréhender la faisabilité économique.

Atelier 3 : Procédés de détoxification

Les travaux réalisés dans COMSAUMOL et dans d'autres projets montrent à l'évidence que la nutrition des mollusques bivalves contaminés avec des micro-algues fourrage permet de réduire le temps nécessaire à la détoxification complète (en dessous du seuil sanitaire) . Cependant, selon le type de phycotoxine, les durées de détoxification peuvent être compatibles (cas du PSP dans les huîtres) ou non (cas du DSP dans les moules) avec les intérêts commerciaux des producteurs (au delà d'une semaine de traitement le procédé n'est plus rentable). Les procédés physico-chimiques utilisant des oxydants (peroxyde d'hydrogène) ou des tensio-actifs (lécithine) pourraient représenter une alternative intéressante dans le cas du DSP dans les moules à condition de surmonter les difficultés actuelles, soit :i) chute d'oxygène dissous et mortalité des mollusques (lécithine), ii) cinétiques de détoxification erratiques et non maîtrisées (H₂O₂). Une étude plus approfondie des coûts induits par ces types de traitement et des risques de formation de composés

indésirables devrait permettre de déterminer s'il est souhaitable ou non de continuer dans cette voie.

Atelier 4 : Aspects technico-économiques

Conclusion : des résultats opérationnels et un apport méthodologique à l'aide à la décision publique et privée

Sur un plan pratique, les résultats montrent que les dispositifs de sauvegarde doivent s'entendre comme une adaptation des équipements déjà existants pour limiter les coûts d'investissement et répondre aux contraintes foncières souvent rencontrées par les professionnels dans les zones littorales où ils travaillent.

Le principal facteur bloquant reste le niveau de l'investissement alors que les coûts énergétiques semblent au final avoir un impact limité sur le coût total.

Par leur coût d'investissement limité, les filtres à sable se révèlent attractifs mais il reste à vérifier que leur efficacité en termes de retenue particulaire (inférieure à 90 %) suffit à garantir que les produits soient consommables. La filtration par cartouche offre un compromis intéressant entre des performances proches de la filtration par membrane et des coûts qui se rapprochent de ceux des filtres à sable.

Les systèmes de filtration par membrane sont pour le moment handicapés par le niveau de l'investissement et le coût de remplacement des membranes. Le haut niveau de performances de cette technique la rend cependant attractive.

Pour certains ostréiculteurs, ici ceux du groupe 3, peu de dispositifs ressortent comme intéressants. Il convient de garder à l'esprit que ce sont les moins concernés par les fermetures de commercialisation car leur activité d'expédition est plus réduite.

La typologie des ostréiculteurs qui a été utilisée pour établir ces résultats ne couvre certes pas toute la variété des situations que rencontrent les professionnels français. Il n'a pas été possible de développer l'outil d'analyse pour rendre compte de toutes les situations locales. En attendant qu'un travail complémentaire puisse être fait en ce sens, les résultats obtenus pour des entreprises produisant entre 30 et 60 t devraient tout de même permettre de dégrossir les éléments d'appréciation dans les autres zones. Il serait cependant d'intérêt de

mener le travail pour des entreprises produisant de plus gros tonnages tant il apparaît que des gains d'échelle sont possibles notamment pour les dispositifs de filtration.

Cette première série de résultats a été obtenue en laboratoire. Elle demande confirmation sur le terrain via des expérimentations de pilotes à taille réelle.

La méthodologie originale d'évaluation des pertes commerciales consécutives à une fermeture de la commercialisation qui a été utilisée pour ce travail s'est révélée opérationnelle. Elle a permis de formaliser une règle de décision d'investissement de l'ostréiculteur moyen dans des dispositifs techniques de couverture. Appliquée à une typologie des exploitants de la baie de Bourgneuf, elle débouche sur un outil d'aide à la décision, tant privée que publique, basé sur la comparaison de ces pertes aux coûts à engager pour s'en prémunir.

Les travaux futurs devront permettre le développement de cet outil, notamment via l'intégration d'une fonction d'occurrence des fermetures administratives, d'une fonction d'actualisation pour prendre en compte les coûts liés à la gestion des différés de trésorerie et d'une fonction de demande.

Références citées

- Albentosa, M. and Moyano, F.J. 2008. Influence of nutritional stress on digestive enzyme activities in juveniles of two marine clam species, *Ruditapes decussatus* and *Venerupis pullastra*. *Journal of Sea Research* 59(4): 249-258.
- Bayne, B.L., Hawkins, A.J.S., and Navarro, E. 1988. Feeding and Digestion in Suspension-Feeding Bivalve Molluscs: The Relevance of Physiological Compensations. *American Zoologist* 28(1): 147-159.
- Bhattacharjee, S., Seungkwan, H., 2005. Fundamentals of particle fouling in membrane processes. *Korean Membrane Journal* 7, 1-18.
- Blogoslawski W.J., Stewart M.E., 1978. Paralytic shellfish poison in *Spisula solidissima*: anatomical location and ozone detoxification. *Mar. Biol.*, 45, 261-264
- Bourne, D.G., Høj, L., Webster, N.S., Swan, J., Hall, M.R., 2006. Biofilm development within a larval rearing tank of the tropical rock lobster, *Panulirus ornatus*. *Aquaculture* 260, 27-38.
- Bougrier, S., Geairon, P., Deslous-Paoli, J.M., Bacher, C., and Jonquière, G. 1995. Allometric relationships and effects of temperature on clearance and oxygen consumption rates of *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquaculture* 134: 143-154.
- Camus, L., Grosvik, B.E., Borseth, J.F., Jones, M.B., and Depledge, M.H. 2000. Stability of lysosomal and cell membranes in haemocytes of the common mussel (*Mytilus edulis*): effect of low temperatures. *Marine environmental Research* 50(1-5): 325-329.
- Cardoso, J.F.M.F., Witte, J.I.J., and van der Veer, H.W. 2006. Intra- and interspecies comparison of energy flow in bivalve species in Dutch coastal waters by means of the Dynamic Energy Budget (DEB) theory. *Journal of Sea Research* 56(2): 182-197.
- Castaing, J.B., Massé, A., Pontié, M., Séchet, V., Haure, J., Jaouen, P., 2010. Investigating submerged ultrafiltration (UF) and microfiltration (MF) membranes for seawater pre-treatment dedicated to total removal of undesirable micro-algae. *Desalination* 253, 71-77.
- Chaparro, O.R., Montiel, Y.A., Segura, C.J., Cubillos, V.M., Thompson, R.J., and Navarro, J.M. 2008. The effect of salinity on clearance rate in the suspension-feeding estuarine gastropod *Crepidatella dilatata* under natural and controlled conditions. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 76(4): 861-868.
- Chen, S., Ling, J., Blancheton, J.-P., 2006. Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors. *Aquacultural Engineering* 34, 179-197.
- Comiti, J., Renaud, M., 1989. A new model for determining mean structure parameters of fixed beds from pressure drop measurements: application to beds packed with parallelepipedal particles. *Chemical Engineering Science* 44, 1539-1545.
- Ellis, D. (ed), (2009), Guide d'intervention pour les propriétaires, les exploitants ou les concepteurs de production d'eau potable municipales aux prises avec une problématique de fleur d'eau de cyanobactéries (Qu2bec : ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs, Direction des politiques de l'eau)46
- Epifanio, C.E., Srna, R.F., 1975. Toxicity of Ammonia, Nitrite Ion, Nitrate Ion, and Orthophosphate to *Mercenaria mercenaria* and *Crassostrea virginica*. *Marine Biology* 33, 241-246.
- Gacutan R.Q., Tabbu M.Y., Aujero E.J., Icatlo F., 1985. Paralytic shellfish poisoning due to *Pyrodinium bahamense* var. *compressa* in Mati, Davao Oriental, Philippines. *Mar. Biol.*, 87(3), 223-227

- Gueguen M., Bardouil M., Baron R., Lassus P., Truquet P., Massardier J., Amzil Z., 2008. Detoxification of pacific oyster *Crassostrea gigas* fed on diets of *Skeletonema costatum* with and without silt, following PSPcontamination by *Alexandrium minutum*, *Aquat.Living Res.*, 21, 13-20
- Gueguen M, Lassus P, Laabir M, Bardouil M, Baron R, Sechet V, Truquet P, Amzil Z, 2008 Gut passage times in two bivalve molluscs fed toxic microalgae : *Alexandrium minutum*, *A.catenella* and *Pseudo-nitzschia calliantha*, *Aquat.Living Resour.*21, 21-29.
- Harding, J.M., Couturier, C., Parsons, G.J., and Ross, N.W. 2004. Evaluation of the neutral red assay as a stress response indicator in cultivated mussels (*Mytilus* spp.) in relation to post-harvest processing activities and storage conditions. *Aquaculture* 231(1-4): 315-326.
- Haure, J., Papin, M., Dupuy, B., Nourry, M., Penisson, C., Martin, J.-L., Barillé, L., Dutertre, M., Rosa, P., Beninger, P.G., Barillé, A.-L., 2008. Etude de la croissance et de la reproduction de l'huître *Crassostrea gigas* en baie de Bourgneuf. Rapport de synthèse des études 2005 & 2006. Ifremer, pp. 114.
- Haure, J., (cord), 2009. COMSAUMOL maintien de la COMmercialisation par la SAUvegarde et la détoxification des MOLlusques) : Résultats 2009.
- Hermia, J., 1982. Constant pressure blocking filtration laws-application to power-law non-Newtonian fluids. *Institut of Chemical Engineers* 60, 183.
- Hussenot, J., 2006. Les systèmes aquacoles en eau recyclée pour les mollusques bivalves. Synthèse bibliographique et proposition de recherche. Ifremer, L'Houmeau, pp. 16.
- Kennedy, M., Kim, S.-M., Mutenyo, I., Broens, L., Schippers, J., 1998. Intermittent crossflushing of hollow fiber ultrafiltration systems. *Desalination* 118, 175-187.
- Koroleff, F., 1969. Direct determination of ammonia in natural waters as indophenol blue. *Information on techniques and methods for seawater analysis. ICES* 1970, 3, 19-22.
- Kusuki, Y., 1978. Fundamental studies on the deterioration of oyster growing grounds. 3. Sinking rates and distance of transport of the faeces of Japanese oyster. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 44, 971-973.
- Laabir M, Amzil Z, Lassus P, Masseret E, Tapilatu Y, De Vargas R, Grzebyk D, 2007. Viability, growth and toxicity of *Alexandrium catenella* and *Alexandrium minutum* (Dinophyceae) following ingestion and gut passage in the oyster *Crassostrea gigas*, *Aquat.Liv.Res.*, 20, 51-57
- Lassus P, Bardouil M, Beliaeff B, Bougrier S, Gubbins M, Masselin P, Mornet F, Thebaud O, Truquet P, Daniel C, Desjonqueres, Garcia O, Matignon F, Naviner M, 2002. Coquillages contaminés par des phycotoxines paralysantes : vers une procédure de détoxification. Bilans et perspectives, Ifremer Publish., 46 pp
- Lefebvre, S., Bacher, C., Meuret, A., Hussenot, J., 2001. Modelling Nitrogen Cycling in a Mariculture Ecosystem as a Tool to Evaluate its Outflow. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 52, 305-325.
- Lefebvre K.A, Trainer V.L, Scholz N.L, 2004. Morphological abnormalities and sensorimotor deficits in larval fish exposed to dissolved saxitoxin. *Aquat.Toxicol.*,66 : 159-170.
- Lefebvre K.A, Bill B.D, Baugh K.A, O'rourke, Costa P.R, Nance S, Trainer V.L, 2008. Characterization of intracellular and extracellular saxitoxin levels in both field and cultured *Alexandrium* spp. samples from Sequim Bay, Washington. *Mar.Drugs*, 6 : 103-116.
- Le Grel, L., Le Bihan, V. 2009. Oyster farming and externalities: the experience of the bay of Bourgneuf, *Aquaculture Economics and Management*, 13:112-123.

- Le Grel, L. 2011. Méthodologie d'évaluation des pertes économiques conchylicoles consécutives à une fermeture administrative, en préparation.
- Lindholm, T., Nummelin, C., 1999. Red tide of the dinoflagellate *Heterocapsa triquetra* (Dinophyta) in a ferry-mixed coastal inlet. *Hydrobiologia* 393, 245-251.
- Lowe, D.M., Fossato, V.U., and Depledge, M.H. 1995a. Contaminant-induced lysosomal membrane damage in blood cells of mussels *Mytilus galloprovincialis* from the Venice Lagoon: an in vitro study. *Marine Ecology Progress Series* 129: 189-196.
- Lowe, D.M., Soverchia, C., and Moore, M.N. 1995b. Lysosomal membrane responses in the blood and digestive cells of mussels experimentally exposed to fluoranthene. *Aquatic Toxicology* 33(2): 105-112.
- Malone, R.F., Pfeiffer, T.J., 2006. Rating fixed film nitrifying biofilters used in recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering* 34, 389-402.
- Mondeguer, F., et al.(2010), 'Etude de l'effet d'un traitement oxydant (H₂O₂) sur la décontamination de moules contaminées DSP', rapport de contrat (Nantes : ref.lfremer n°09/5 210 251/YF)
- Moore, M.N. 1988. Cytochemical responses of the lysosomal system and NADPH-ferrihemoprotein reductase in molluscan digestive cells to environmental and experimental exposure to xenobiotics. *Marine Ecology Progress Series* 46: 81-89.
- Mouchet, P., 2000. Traitement des eaux avant utilisation. Filières et applications. Techniques de l'ingénieur. Environnement ISSN 1282-9080 vol. G1, noG1172, pp. G1172.1-G1172.12.
- Paulmier G, Joly J.P., 1985. Manifestation de *Dinophysis acuminata* sur le littoral normand, *Rev.Trav.Inst.Pêches marit.*, 47 : 149-157.
- Pulefou, T., Jegatheesan, V., Steicke, C., Kim, S.-H., 2008. Application of submerged membrane bioreactor for aquaculture effluent reuse. *Desalination* 221, 534-542.
- Samain, J.F., McCombie, H., 2008. Summer Mortality of Pacific oyster *Crassostrea gigas*, The Morest Project, France, 332 pp.
- Schippers, J.C., Verdouw, J., 1980. The modified fouling index, a method of determining the fouling characteristics of water. *Desalination* 32, 137-148.
- Shumway S.E., Van Egmond H., Hurt J.W., Bean L.L., 1995. Management of shellfish resources. In: *Manual on Harmful Marine Microalgae*. Hallegraeff G.M., Anderson M. & Cembella A.D. (eds). IOC Man. Guides, 33, 436-463
- Sidari L, Nichetto P, Cok S, Sosa S, Tubaro A, Honsell G, Della-logia R, 1998. Phytoplankton selection by mussels, and diarrhetic shellfish poisoning. *Marine Biology*, 131 : 103-111
- Tirard, C.T., Grossfeld, R.M., Levine, J.F., and Kennedy-Stoskopf, S. 1997. Effect of Osmotic Shock on Protein Synthesis of Oyster Hemocytes In Vitro. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 116(1): 43-49.
- Thoman, E.S., Ingall, E.D., Davis, D.A., Arnold, C.R., 2001. A nitrogen budget for a closed, recirculating mariculture system. *Aquacultural Engineering* 24, 195-211.
- Tremblay, R., Myrand, B., and Proulx, D., ed. 2007. *Atelier de travail: "Indicateurs de stress chez les mollusques"*. Québec: Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec.
- Tsolaki, E. and Diamadopoulos, E. (2010), 'Technologies for ballast water treatment : a review', *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 85 (1), 19-32.

- Van Rijn, J., 2002. Denitrification, Recirculating Aquaculture. Cayuga Aqua Ventures, pp. 369-396.
- Visvanathan, C., Boonthanon, N., Sathasivan, A., Jegatheesan, V., 2003. Pretreatment of seawater for biodegradable organic content removal using membrane bioreactor. *Desalination* 153, 133-140.
- Visvanathan, C., Hung, N.Q., Jegatheesan, V., 2008. Hydrogenotrophic denitrification of synthetic aquaculture wastewater using membrane bioreactor. *Process Biochemistry* 43, 673-682.
- Wheaton, F.W., Hochheimer, J.N., Kaiser, G.E., Krones, M.J., Libey, G.S., Easter, C.C., 1994. Nitrification principles. In: Timmons, M.B., Losordo, T.M. (Ed.), *Aquaculture Water Reuse Systems: Engineering Design and Management*. Elsevier, Amsterdam, pp. 101-126.
- White A.W., Marin J.L., Legresley M., Blogoslawski W.J., 1985. Inability of ozonation to detoxify shellfish toxins in the soft-shell clams. In: *Toxic Dinoflagellates*. Anderson D.M., White A.W. & Baden D.G. (eds). Elsevier, New York, 473-178.
- Widdows, J., Brinsley, M.D., Bowley, N., Barrett, C., 1998. A Benthic Annular Flume for In Situ Measurement of Suspension Feeding/Biodeposition Rates and Erosion Potential of Intertidal Cohesive Sediments. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 46, 27-38.
- Wietz, M., Hall, M.R., Høj, L., 2009. Effects of seawater ozonation on biofilm development in aquaculture tanks. *Systematic and Applied Microbiology* 32, 266-277.
- Zhu, S., Chen, S., 2001. Impacts of Reynolds number on nitrification biofilm kinetics. *Aquacultural Engineering* 24, 213-229.
- Zhu, S., Chen, S., 2002. The impact of temperature on nitrification rate in fixed film biofilters. *Aquacultural Engineering* 26, 221-237.
- Zheng, X., Mehrez, R., Jekel, M., Ernst, M., 2009. Effect of slow sand filtration of treated wastewater as pre-treatment to UF. *Desalination* 249, 591-595.