

## Sécurisation des souches de crevettes d'élevage en Nouvelle-Calédonie

*Résultats de la quarantaine et du conservatoire  
expérimental*

*Éléments pour la définition d'une stratégie de  
sécurisation des souches de crevettes en Nouvelle-  
Calédonie*



# Sommaire

<b>RÉSUMÉ .....</b>	<b>4</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>5</b>
<b>RAPPELS SUR LA QUARANTAINE .....</b>	<b>6</b>
<b>Les installations .....</b>	<b>6</b>
Organisation générale .....	6
Les installations d'élevage.....	7
<b>Déroulement des élevages .....</b>	<b>8</b>
Réception et acclimatation.....	8
Bilan des envois et mortalités initiales.....	9
Les élevages.....	10
<b>LE CONSERVATOIRE.....</b>	<b>12</b>
De la quarantaine au conservatoire .....	12
Le traitement de l'eau de mer.....	14
Le module d'élevage et maturation.....	15
Le module élevage larvaire .....	16
Déroulement des élevages de géniteurs.....	17
Reproduction.....	18
Résultats des PCR (Polymerase Chain Reaction) diagnostiques sur les crevettes du conservatoire.....	19
Conclusions .....	20
<b>ELÉMENTS DE RÉFLEXION POUR UN PROJET DE CONSERVATOIRE CREVETTES .....</b>	<b>21</b>
Généralités sur la biosécurité .....	21
La démarche HACCP .....	22
Un conservatoire, pour quels objectifs généraux ? .....	22
Option 1 : Maintien du statut sanitaire actuel .....	23
Option 2.1 : Création et/ou maintien d'un statut sanitaire SPF pour souches locales.....	23
Option 2.2 : Importation de nouvelles souches ou espèces ayant un statut sanitaire SPF .....	23
Option 2.3 : Importation d'animaux ayant un statut sanitaire incertain .....	23
<b>Les composantes du projet.....</b>	<b>24</b>
La quarantaine primaire/tertiaire.....	24
La quarantaine secondaire .....	24
Le conservatoire proprement dit .....	24

<b>Le choix des sites.....</b>	<b>26</b>
<b>Approvisionnement/traitement de l'eau de mer .....</b>	<b>27</b>
Eau de mer naturelle .....	27
Eau de mer artificielle.....	28
<b>Utilisation de l'eau de mer .....</b>	<b>29</b>
Les circuits de recirculation .....	29
Les différents composants d'un système de recirculation.....	29
Le traitement des effluents.....	31
<b>Les installations : principales contraintes et schémas .....</b>	<b>33</b>
La quarantaine primaire/tertiaire.....	33
La quarantaine secondaire .....	35
Le conservatoire.....	37
<b>Conclusion.....</b>	<b>40</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>41</b>

## Résumé

Afin de disposer d'une plus forte diversité génétique exploitable, des producteurs calédoniens ont, en relation avec l'Ifremer, récemment introduit d'Hawaï une autre souche de crevette de l'espèce *Litopenaeus stylirostris*, domestiquée et garantie exempte de pathogènes. Malgré cette garantie sanitaire, les crevettes ont été maintenues en observation dans une quarantaine tertiaire pendant cinq mois avant la sortie et l'élevage d'une moitié de l'effectif en bassins terre extérieurs.

L'autre moitié a été conservée dans les installations de quarantaine comme stock de secours au cas où un problème affecterait les crevettes élevées à l'extérieur. Les installations de quarantaine ont été progressivement transformées, tout en continuant les élevages, afin de réaliser un prototype de conservatoire biosécurisé. Les crevettes ont été élevées jusqu'à la taille de géniteurs en utilisant de l'eau de mer artificielle puis de l'eau de mer naturelle traitée au chlore. Des essais de reproduction et d'élevage larvaire ont été menés et de nombreuses pontes fécondées ont été obtenues mais les élevages larvaires, à une exception, n'ont pas dépassé le stade Zoé 3. Les analyses par PCR réalisées sur les crevettes du conservatoire ont montré que les mesures et précautions sanitaires qui avaient été prises avaient préservé le statut sanitaire "sans pathogènes" initial.

Cette expérience a permis de mieux cerner les problèmes qui pouvaient se poser pour la mise en place et le fonctionnement d'installations biosécurisées utilisant des circuits fermés. Ces enseignements ont servi à répertorier les principales contraintes envisageables pour la réalisation d'un futur conservatoire crevette qui viendrait conforter et sécuriser les souches actuellement disponibles en Nouvelle-Calédonie.

Plusieurs options sont proposées pour les crevettes devant entrer dans le conservatoire (sans quarantaine, quarantaine tertiaire, quarantaine primaire puis secondaire) et pour le type de fonctionnement du conservatoire.

Les principaux critères pour le choix du site, l'utilisation de l'eau de mer et son traitement, les systèmes de recirculation sont abordés; et des schémas d'installations de quarantaine et de conservatoire sont proposés.

## Introduction

Les crevettes élevées en Nouvelle-Calédonie sont indemnes des principales maladies virales qui affectent les élevages dans le monde entier ; à l'exception du virus IHHN (Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus) introduit avec les premiers spécimens de *Litopenaeus stylirostris* importés d'Amérique Centrale en 1980, et pour lequel les crevettes ont développé spontanément une résistance avec la domestication (Weppe *et al.* 1992). Malgré la présence de bactéries du genre *Vibrio* responsables de mortalités dans les élevages (Goarant 2000, Goarant *et al.* 2006), le statut sanitaire reste encore relativement privilégié.

Cependant, l'apparition d'un nouveau virus exotique déclenchant des mortalités massives reste toujours possible. Il devient nécessaire pour la filière crevette de Nouvelle-Calédonie de rechercher les moyens de mettre en place des mesures de conservation des stocks de géniteurs de *L. stylirostris* disponibles (conservatoire) en les mettant à l'abri des aléas zoosanitaires. De plus, les élevages réalisés dans le monde avec des crevettes *L. vannamei* exemptes du virus IHHN ont clairement montré que l'utilisation d'animaux sains améliorerait de plus de 150% les résultats par rapport à ceux obtenus avec des crevettes porteuses du virus (Wyban *et al.* 1992). L'existence de structures de quarantaine permettrait de créer localement des souches saines, non porteuses d'IHHN et éventuellement de *Vibrio*, et fournirait des géniteurs de qualité pouvant améliorer les résultats de production. Ces souches pourraient également être valorisées sur un marché d'export si la stratégie de la filière calédonienne, axée sur la vente de crevette de consommation, venait à changer.

Le fonctionnement d'installations d'élevage « biosécurisées » repose en grande partie sur la maîtrise des techniques de recirculation. Le succès de l'introduction de la souche Hawaïi en Nouvelle-Calédonie, via des installations provisoires de quarantaine de l'UPRAC-NC, a permis de démontrer que l'élevage pendant 5 mois dans des bacs disposés dans un hangar et fonctionnant en circuit fermé et en utilisant de l'eau de mer artificielle était maîtrisé. Cependant le bouclage du cycle biologique de l'espèce dans des conditions équivalentes, s'il est maîtrisé par le fournisseur hawaïen de la souche, n'a jamais été réalisé en Nouvelle-Calédonie.

Compte tenu qu'une partie des animaux introduits d'Hawaïi n'a pas été sortie de quarantaine et que ces animaux avaient toujours le statut de SPF, il a été proposé :

- de maintenir ces crevettes dans la structure provisoire de quarantaine de l'UPRAC-NC et dans des conditions biosécurisées ;
- de modifier à cet effet les installations de la quarantaine et de les transformer en installations prototypes de conservatoire : alors que, par définition, une quarantaine fonctionne sur le principe du contrôle strict de tout ce qui en sort (afin de ne pas risquer de contaminer les élevages externes), un conservatoire implique au contraire le contrôle de tout ce qui rentre dans les installations (et peut potentiellement contaminer les animaux sains qui y sont en élevage) ;
- d'adapter au fur et à mesure de l'élevage le protocole de production de géniteurs en conditions confinées ;
- de tenter la reproduction des animaux survivants et l'élevage larvaire de leur descendance ;
- de contrôler le statut sanitaire final de leur descendance : vérification par technique biomoléculaire de l'absence de portage des 3 pathogènes présents en Calédonie sur un échantillon de 150 individus : Virus IHHN et bactéries *V. penaeicida* et *V. nigripulchritudo* ;

L'expérience acquise et la bibliographie ont servi de base à une réflexion sur les principales contraintes d'un conservatoire pérenne pour les différentes souches de *L. stylirostris* disponibles en Nouvelle-Calédonie et sur les stratégies envisageables. Ce conservatoire est un point incontournable du développement durable de la filière.

## Rappels sur la quarantaine

L'aménagement d'un dock vide en une quarantaine répondant aux normes de sécurité zoosanitaires puis l'installation des structures d'élevage et les essais préalables sans animaux ont permis de vérifier le fonctionnement adéquat des systèmes utilisés. Les mesures prises pour assurer la sécurité zoosanitaire tant du point de vue des infrastructures, du matériel que sur le plan des protocoles de désinfection et de circulation des personnes et des objets, ont été approuvées par les autorités vétérinaires (DAVAR) qui ont déclaré les installations conformes aux normes qu'elles avaient exigées.



La phase de quarantaine a débuté le 3 mars 2005 avec l'arrivée, en 2 envois séparés, des crevettes en provenance de Hawaï. A l'issue de la période de 5 mois de quarantaine, une partie des animaux a été sortie pour être élevée

jusqu'à la taille de géniteurs dans les bassins en terre du laboratoire tandis que le reste a continué à être élevé dans les installations de quarantaine.

## Les installations

### Organisation générale

Avant l'installation des structures d'élevage, le hangar a fait l'objet d'aménagements afin de répondre à différents impératifs techniques et de sécurité zoosanitaire :

- Mise en place de 2 tôles transparentes sur les murs pour bénéficier de la luminosité naturelle ;
- Création, à la périphérie de la zone d'élevage, d'un muret de contention de l'eau en cas de rupture d'un élément des systèmes;
- Coulage d'une dalle en ciment avec pente vers un caniveau central pour récupérer les eaux usées et les concentrer vers un puits aveugle;
- Modification des parois internes et mise en place d'un évier raccordé au système de collecte des eaux usées;
- Protection des murs en tôle par des films plastiques pour mieux isoler la salle et faciliter un éventuel nettoyage en cas d'apparition de maladies;
- Pose de bâches au plafond et peinture des poutres apparentes pour éviter la chute d'eau de condensation, potentiellement toxique, dans les bacs;
- Création d'un sas avec pédiluve, porte et lamelles souples et servant de tampon entre le bureau et la zone d'élevage;



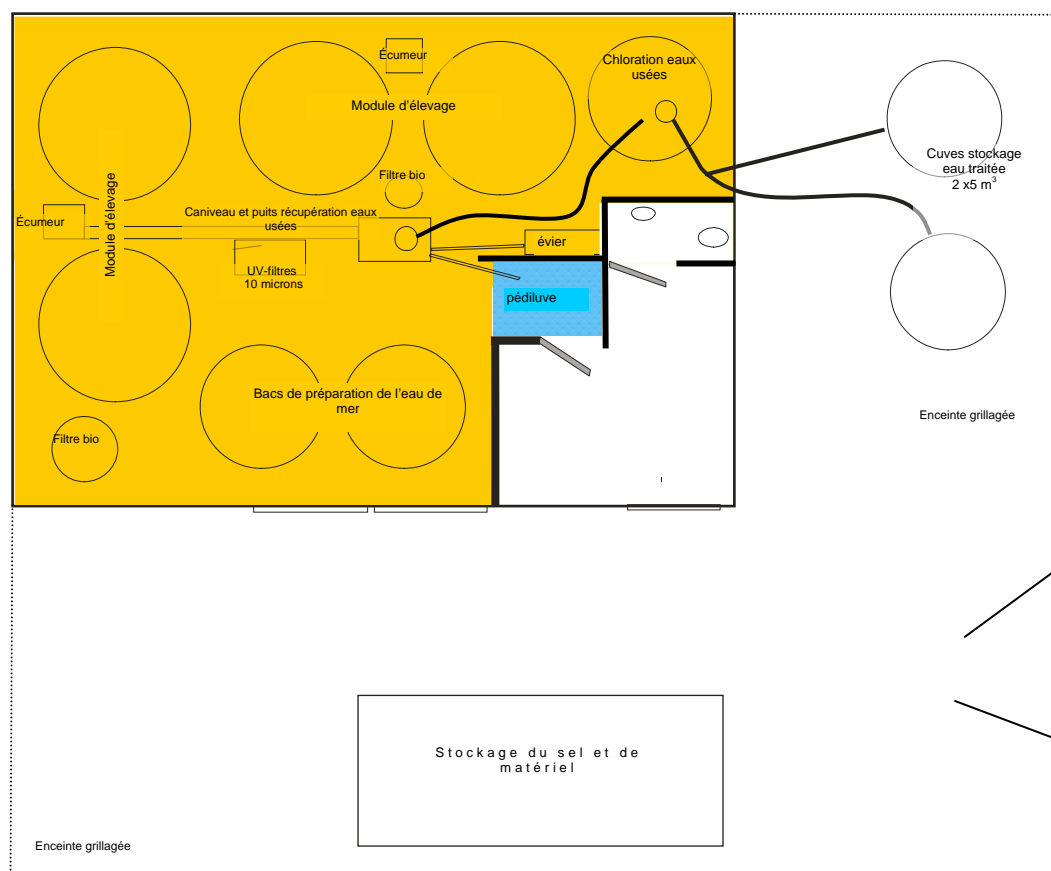
- Pose de 2 extracteurs d'air sur le toit pour éviter la surchauffe de la salle;
- Pose d'une conduite d'eau douce et de prises électriques. Le système de protection électrique et les installations ont été approuvés par l'APAVE.

Ces travaux ont été complétés par d'autres aménagements en dehors de la zone d'élevage :

- Mise en place de 2 cuves fermées de 5m<sup>3</sup> afin de stocker et déchlorer les eaux usées et chlorées en provenance de la zone d'élevage ;
- Mise en place à l'extérieur du bâtiment d'un groupe électrogène de secours à démarrage automatique;
- Mise en place d'un conteneur extérieur pour le stockage des sels (16 tonnes) servant à reconstituer l'eau de mer et le matériel;
- Mise en place d'une clôture isolant le bâtiment et sa zone périphérique; ainsi que d'un portail fermant à clé.

## Les installations d'élevage

L'espace disponible étant relativement réduit (environ 80 m<sup>2</sup>), la disposition des bacs d'élevage, de préparation d'eau de mer artificielle, de chloration et des différents filtres et accessoires a été réalisée en optimisant l'exploitation de l'espace, parfois au détriment de la fonctionnalité ou de l'accessibilité.



**Plan général des installations de quarantaine.**  
La zone d'élevage sécurisée est en orange

Les élevages sont réalisés dans 2 modules indépendants (A & B) pour un volume total utile de 18 m<sup>3</sup>. Chaque module comporte 2 bacs de 5 m<sup>3</sup> reliés entre eux, un filtre biologique et un écumeur. Un système de filtration sur 4 cartouches de 100 microns suivi d'un système UV (120 watts) est utilisé alternativement et en continu (toutes les 12 heures) sur chaque module. L'eau de mer est préparée dans 2 bacs de 2,5 m<sup>3</sup> (module C) en mélangeant l'eau douce de la commune et des sels (Ocean Nature ®). La salinité a été abaissée de 32 à 28‰ après la phase d'acclimatation pour augmenter le confort physiologique des crevettes (ce qui a également permis d'économiser les stocks de sels). La température n'est pas régulée et la lumière naturelle est complétée par des lampes fluorescentes sur les parois. Des filets empêchent les crevettes de sauter hors des bacs. Des distributeurs automatiques d'aliment sont utilisés pour la nuit.



Vue d'ensemble des 2 modules d'élevage

empêchent les crevettes de sauter hors des bacs. Des distributeurs automatiques d'aliment sont utilisés pour la nuit.

Les filtres biologiques ont été activés 1,5 mois avant l'arrivée des crevettes en ajoutant des solutions commerciales de bactéries nitrifiantes. L'activité est ensuite maintenue en rajoutant journallement au système 2mg/l d'azote ammoniacal (sous forme de chlorure d'ammonium).

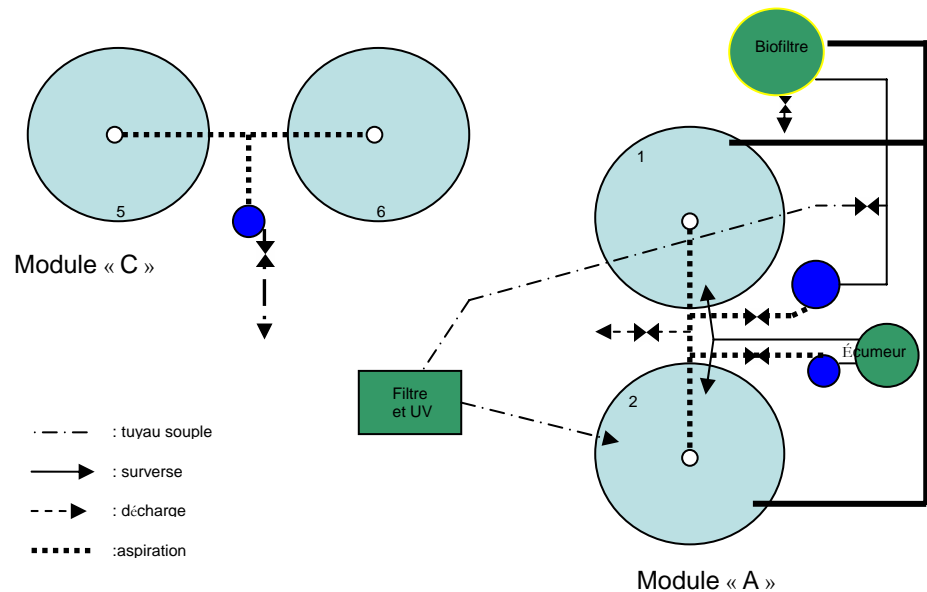


Schéma hydraulique des modules A (module d'élevage) et C (préparation d'eau de mer)

## Déroulement des élevages

### Réception et acclimatation

Arrivée des crevettes après presque 2 jours de transport depuis leur départ de l'île d'Hawaïi. Transfert vers la quarantaine. Déballage des sacs et premières observations. Lors des 2 envois, les concentrations en oxygène sont



Boîte d'envoi avec 2 sacs



bonnes grâce à la présence de pastilles productrices d'oxygène. Les teneurs en ammoniacque sont toujours très élevées. Les autres paramètres mesurés sont corrects (Tableau 1). Chaque sac contient entre 8 et 15 crevettes (sauf pour les sacs de postlarves) pour 5 litres d'eau de mer, soit une charge moyenne de 10 g/litre, ce qui est faible. Environ la moitié des sacs a une eau trouble, dégage une forte odeur ammoniacquée et présente des crevettes mortes.

**Tableau 1 : conditions moyennes dans les sacs et les bacs**

	sacs	bacs
température	19°C	28°C
oxygène	>10ppm	8ppm
ammoniacque	>>20ppm	0.1ppm
pH	7,2	8,2
salinité	37ppm	32ppm

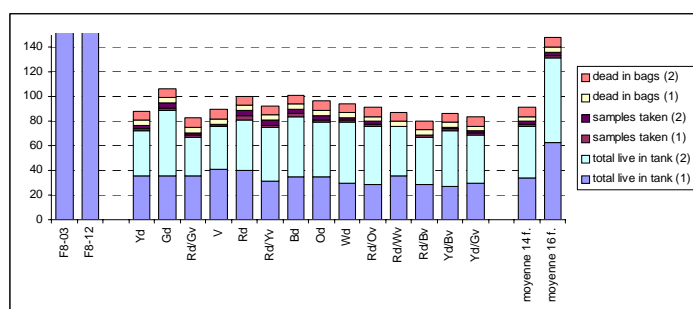


**Acclimation aux conditions d'élevage**

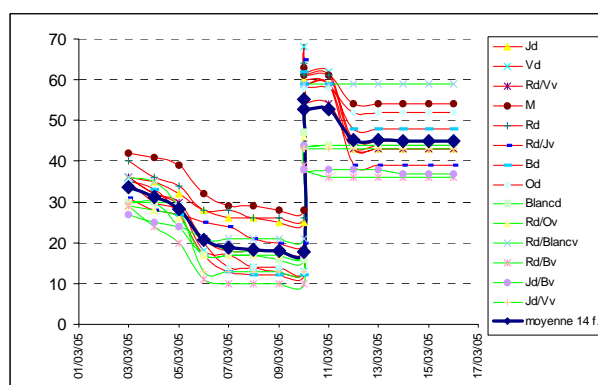
Les sacs sont répartis et fixés sur le pourtour des bacs d'élevage, chaque sac disposant d'un bullage. L'acclimation se fait par addition progressive d'eau des bacs dans les sacs. Les prélèvements pour la DAVAR sont réalisés à raison de 2 crevettes pour chacune des 16 familles. La température est stabilisée à 28°C en un peu plus d'une heure.

Les crevettes sont ensuite distribuées dans les bacs de telle sorte que chaque famille soit représentée dans chaque bac. La plupart des crevettes ont les antennes cassées et environ 20% présente des muscles blancs (crampes).

## Bilan des envois et mortalités initiales



**Figure 1 : bilan des mortalités à l'arrivée**



**Figure 2 : mortalité initiale à l'entrée en quarantaine**

Sur les 1288 crevettes envoyées en 2 envois, marquées et appartenant à 14 familles, 168 sont mortes durant le transport (13%) et 56 ont été prélevées pour analyse (Figure 1). Les 2 familles de petites crevettes non marquées (environ 800 individus) ont présenté des mortalités très faibles (1%).

À la mise en élevage après acclimation, les crevettes ont un comportement assez passif, nagent peu, et les morts commencent à apparaître.

Une semaine après l'arrivée du 2<sup>ème</sup> envoi, la mortalité (Figure 2) a été de 53%. Il y avait alors en élevage 630 crevettes marquées appartenant à 14 familles. Les effectifs par famille marquée variaient de 36 à 59 individus (45 en moyenne). Il restait également 310 petites crevettes appartenant aux 2 familles non marquées. La mortalité qui a suivi l'arrivée des crevettes est attribuée

au stress du transport (40 heures de transport et des concentrations en ammoniacque >30ppm) et à l'adaptation aux conditions d'élevage. Elle a principalement affecté les petites crevettes (0,1 à 0,5g) non marquées.

## Les élevages



**Elevage des postlarves dans des récipients flottants**

Les crevettes sont nourries avec du granulé Higashimaru Gold Prawn® de différents diamètres en fonction de la taille des crevettes. Les doses sont ajustées journalièrement en fonction de la consommation (entre 3 et 10% de la biomasse estimée). Du calmar est distribué une fois tous les 2 jours en complément. Les juvéniles non marqués sont élevés séparément, jusqu'à la taille de marquage, dans des récipients flottant dans les bacs.

Les crevettes sont réparties dans les 4 bacs afin que des représentants de chacune des 16 familles soient présents dans chaque module. Les paramètres du milieu d'élevage (température,  $O_2$ , pH,  $[NH_3]$ ,  $[NO_2]$ ,  $[NO_3]$ ) sont mesurés matin et soir grâce à des kits de mesure colorimétrique et des sondes spécifiques. Les résultats permettent de programmer l'importance des changements d'eau. Sur l'ensemble des 5 mois d'élevage le taux moyen de changement d'eau a été de 9% par jour ; cette moyenne tombe à 5% par jour si les changements importants et exceptionnels résultant des problèmes de qualité des sels utilisés pour reconstituer l'eau de mer ne sont pas pris en compte. En effet l'utilisation d'eau de mer reconstituée a posé quelques problèmes initiaux (mais aussi durant les élevages) à cause de la qualité d'une partie du stock d'un des constituants (chlorure de magnésium). Un apport ( $5 m^3$ ) d'eau de mer chlorée-déchlorée a d'ailleurs été utilisé durant la phase d'acclimatation initiale pour en limiter les effets. A part la température qui n'était pas régulée et l'oxygène dissous qui était constamment à saturation (entre 7,6 et 8,5ppm), les valeurs suivantes ont été prises comme limites pour réagir et mener des actions « curatives » : pH, 7,6 (addition de carbonate de calcium) ;  $[NH_3]$ , 5ppm ;  $[NO_2]$ , 10ppm ;  $[NO_3]$ , 50ppm. Pour ces 3 derniers paramètres, des changements d'eau variant de 5 à 20% sont réalisés en fonction des valeurs mesurées.

Les filtres biologiques ont régulièrement maintenu les concentrations de  $NH_3$  et  $NO_2$  à des concentrations inférieures à 1 et 5ppm, respectivement ; le pH s'est maintenu à des valeurs comprises entre 7,5 et 8, avec de temps en temps l'addition de carbonate de calcium. L'utilisation des UV seulement 12h/jour a par contre montré des limites : elle n'a pas empêché, lorsque la température de l'eau était supérieure à 25°C, l'apparition périodique de dépôts bactériens noirs sur les branchies des crevettes, sans toutefois causer de mortalité. D'une façon générale les nécroses des antennes et des périoïpodes ont affecté la presque totalité des crevettes durant tout l'élevage.

Des mortalités résiduelles ont affecté les crevettes tout au long de l'élevage, sans relation particulière avec le stade de mue ou une famille précise. Environ un tiers des mortalités n'a pas été répertorié, les cadavres étant cannibalisés durant la nuit. A signaler une mortalité massive (120 animaux) suite à un fort épisode d'orage.

Nécroses des antennes et écailles antennaires



Durant toute la période, les seuls incidents techniques ont été recensés au niveau des pompes dont les capacités brûlaient lors des redémarrages après des coupures de courant. L'entretien journalier des installations, en dehors du siphonnage des restes d'aliments et la récupération des morts dans les bacs d'élevage, consistait principalement à nettoyer

les écumeurs et à purger les filtres biologiques. L'un des filtres biologiques (drop bead filter) possédait un mécanisme automatique de « backwash » qui se mettait en route toutes les 3-4 heures. L'autre filtre (wet drip filter) nécessitait un changement quotidien de la mousse de préfiltration.

Après 5 mois d'élevage, il restait 540 crevettes, toutes familles confondues, sur les 940 initiales (Figure 3).

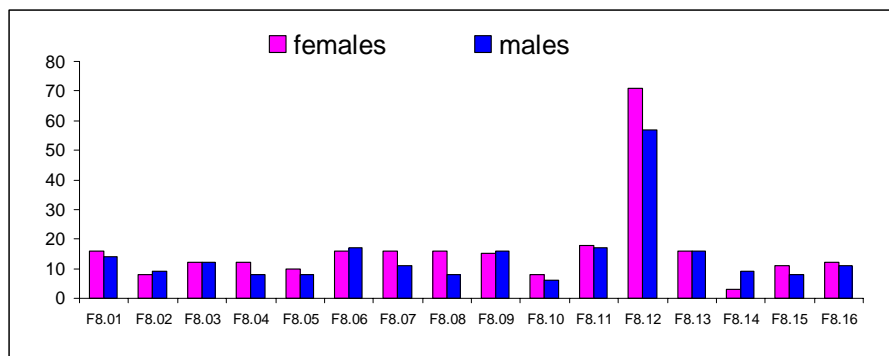


Figure 3 : Effectifs des 16 familles à la fin de la période de quarantaine

Après autorisation de la DAVAR, la moitié des crevettes (271) est alors transférée vers les bassins du laboratoire de Saint-Vincent pour être élevée jusqu'à la taille de géniteurs. Toutes les familles sont représentées avec des effectifs variant de 10 à 40 individus.

Seules 10 familles sont représentées parmi les 269 crevettes restant dans la quarantaine.

# Le conservatoire

La transformation des installations de la quarantaine en un conservatoire n'avait pas été considérée initialement lors de la mise en place de la quarantaine. Cependant, dès avant le départ d'une moitié du cheptel vers les bassins d'élevage extérieurs, il a été proposé de poursuivre l'élevage des animaux SPF qui resteraient dans les installations « biosécurisées » de la quarantaine. Cette proposition permettait de remplir un double objectif : la disponibilité de crevettes de secours au cas où un événement contrariait la réussite de la reproduction des crevettes ayant été mises en élevage en bassins extérieurs, mais aussi la possibilité de conserver et reproduire des crevettes SPF dans des structures biosécurisées.

Bien que les conditions ne soient pas optimales, il a été considéré que le projet avait de bonnes chances de réussir et qu'une expérience zootechnique serait acquise durant cette opération. Cette expérience permettait de plus d'être confronté à la résolution de certaines difficultés matérielles, techniques, zoosanitaires ou humaines et serait mise à profit pour l'élaboration d'un projet plus pérenne de conservatoire au service de la filière crevette néo-calédonienne.

## De la quarantaine au conservatoire

Le fonctionnement de la quarantaine était avant tout régi par un contrôle strict de tout ce qui sortait de l'enceinte d'élevage ; le contrôle des intrants était cependant respecté du mieux possible afin de protéger le statut sanitaire SPF des crevettes.

Le passage à un fonctionnement de type conservatoire implique un renforcement des mesures de contrôle à l'entrée des installations d'élevage pour éviter tout risque d'importation de pathogènes alors que le contrôle des effluents et autres déchets devient secondaire. Le sas avec pédiluve reste le seul point d'entrée à la zone d'élevage.

Plusieurs limites étaient imposées par les événements : la nécessité de continuer à élever les crevettes pendant les travaux, la mise en place d'installations permettant le traitement d'eau de mer naturelle « brute » pour prendre le relais de l'eau de mer artificielle (dont les stocks de matière première arrivaient à épuisement), l'exiguïté de l'espace disponible et la limitation des investissements en nouveau matériel ainsi que la réutilisation des équipements existants.

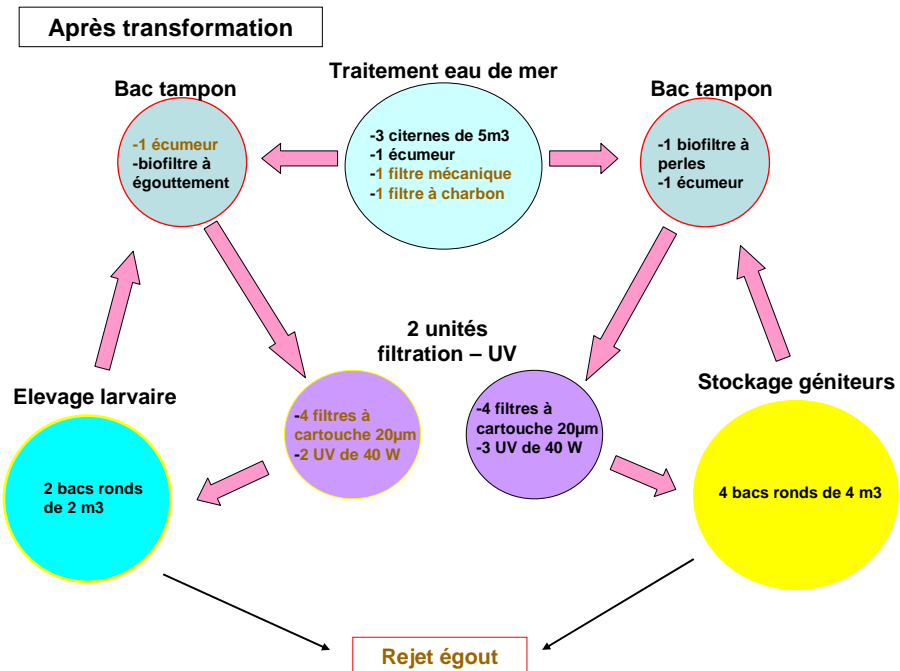
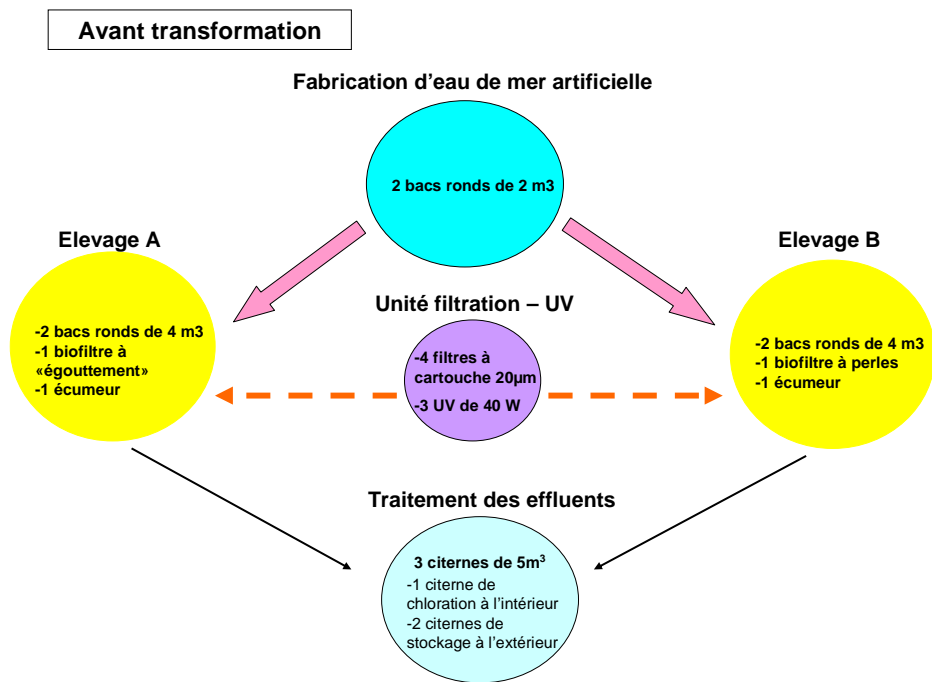
Durant toute la période (août 2005 à janvier 2006), toutes les précautions sanitaires ont été prises afin de ne pas contaminer le conservatoire. Des échantillons de crevettes ont été pris en décembre afin de confirmer l'efficacité de ces mesures (recherche d'IHHNV, *V. penaeicida* et *V. nigripulchritudo*).

Ces différentes contraintes ont abouti à un phasage des opérations de transformation, de septembre à novembre, avec l'objectif de réaliser les reproductions et les élevages larvaires dès la fin des travaux. Ces travaux ont successivement abordé :

- ✓ la relocalisation des bacs de traitement des effluents d'élevage et leur reconversion pour le traitement de l'eau de mer naturelle avant son utilisation ;
- ✓ la mise en place d'un système centralisé de recirculation et de purification de l'eau pouvant alimenter les quatre bacs de 5m<sup>3</sup> réunis au sein d'un même module d'élevage ;

- ✓ la refonte des réseaux particulièrement pour alimenter les bacs en eau de mer « neuve » ;
- ✓ la création d'un module indépendant d'élevage (2 bacs de 2,5m<sup>3</sup> servant antérieurement à préparer l'eau de mer synthétique) pour la reproduction, les élevages larvaires et la nurserie ;
- ✓ la mise en place de structures polyvalentes servant alternativement de pondoirs, bacs d'élevage larvaire et nurseries.

Les deux schémas suivants résument l'état des installations de la salle de quarantaine avant travaux et le nouveau dispositif d'élevage mis en place pour le conservatoire.



## Le traitement de l'eau de mer

Afin de ne pas risquer d'introduire des pathogènes dans la zone d'élevage biosécurisée, les installations permettant de recevoir, stocker et purifier l'eau de mer brute avant son utilisation doivent répondre à un certain nombre d'objectifs :

- Isolement physique par rapport aux installations d'élevage sécurisées. La meilleure façon est de les localiser à l'extérieur des bâtiments, dans une zone spécifique, sans interaction avec le reste des installations. Le matériel mobile, les tuyaux, outils, filtres, produits chimiques et petits récipients sont pour un usage exclusif dans cette zone.
- Confinement des cuves de stockage d'eau de mer brute et traitée afin d'éviter des contaminations.
- Limitation des risques de contamination lors de l'approvisionnement en eau de mer non traitée.

Ces contraintes de base ont été mises en œuvre lors des opérations de restructuration des installations en :

- ❖ localisant les installations à l'extérieur du bâtiment
- ❖ utilisant des cuves fermées
- ❖ alimentant les cuves de traitement grâce à un tuyau venant d'un camion citerne restant à l'extérieur des installations
- ❖ séparant les cuves de traitement de la cuve de stockage d'eau traitée et en déconnectant cette dernière en dehors des phases de remplissage
- ❖ limitant le contact avec la zone biosécurisée à un tuyau fixe partant de la cuve d'eau traitée et passant au travers de la paroi de la salle d'élevage (pompe individualisée avec démarrage manuel à l'extérieur de la salle d'élevage)

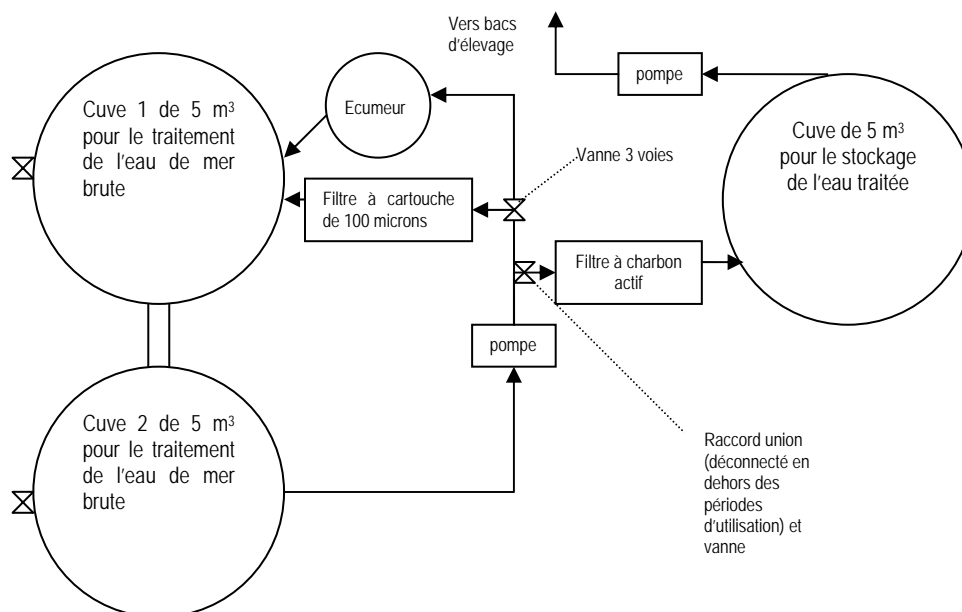
Alimentation en eau de mer brute des cuves de traitement



Les 2 cuves fermées de 5 m<sup>3</sup> utilisées pour le traitement de l'eau de mer brute



Le schéma suivant présente le circuit hydraulique qui a été mis en place.



Les procédures pour le traitement de l'eau de mer brute sont détaillées en Annexe 1.

La qualité de l'eau fournie par la citerne de livraison s'est rapidement dégradée avec l'oxydation intérieure de la cuve de transport ; en effet la citerne n'était pas rincée entre chaque livraison et la rouille s'est rapidement développée au point de poser des problèmes de purification lors du traitement de l'eau mais aussi de qualité intrinsèque. Il est probable que les problèmes rencontrés lors des pontes et des élevages larvaires ont été la conséquence de cette mauvaise qualité, malgré des traitements à l'EDTA et au charbon actif.

## Le module d'élevage et maturation

Alors qu'il y avait 2 modules d'élevage indépendants durant la période de quarantaine, il a été décidé de ne faire qu'un module unique (16 m<sup>3</sup> de volume total utile) avec un système de traitement de l'eau centralisé en utilisant les différents composants des circuits existants. Cette disposition permet de tester l'utilisation d'un bac tampon recevant l'eau « neuve » pour renouveler une partie de l'eau d'élevage, l'eau « usée » en provenance des bacs d'élevage, et à partir duquel l'eau traitée est redistribuée aux bacs d'élevage.

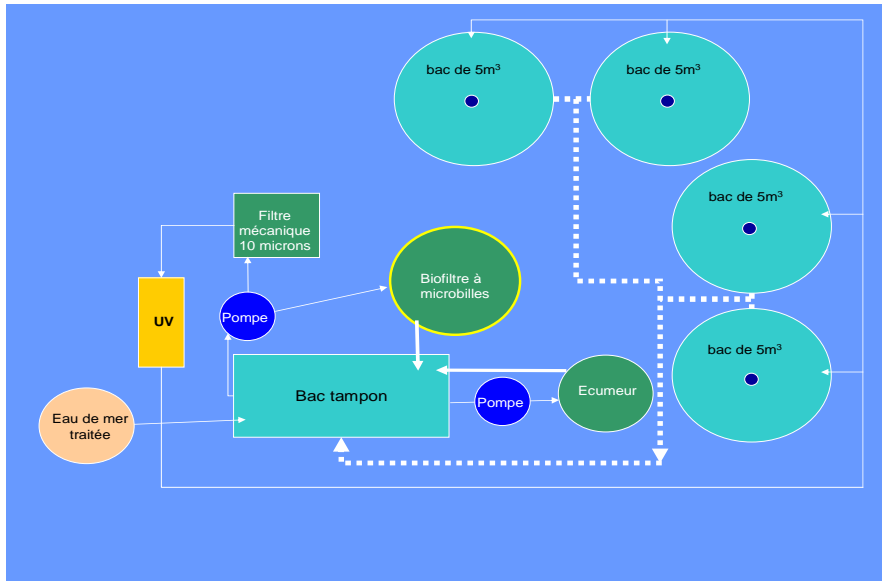
Pour des raisons de sécurité électrique, une seule personne pouvant être présente sur le site, il a été décidé que l'eau ne serait pas thermorégulée par un système de résistances plongeantes.

La principale difficulté a consisté à équilibrer les débits entrants et sortants au niveau des bacs et du bac tampon : mise au même niveau des surverses des bacs, positionnement de vannes de réglage, diminution de la taille des tuyaux travaillant en pression et augmentation de la taille des tuyaux travaillant en gravité. Les différents débits ont été réglés de la manière suivante à  $\pm 3\%$  :

- Renouvellement en eau neuve : 8% par jour en continu (1m<sup>3</sup>/jour)
- Recirculation de l'eau au niveau des bacs : 25% par heure (1m<sup>3</sup>/heure)
- Filtre biologique : 8m<sup>3</sup>/heure



- Ecumeur :  $3\text{m}^3/\text{heure}$



Ces débits ont été déterminés progressivement et sont caractéristiques des installations en place.

Le schéma ci-contre présente la distribution des différents bacs, accessoires et filtres ; ainsi que le réseau hydraulique.

Vue générale du système centralisé de traitement de l'eau recirculée : écumeur, filtre biologique, filtres 10 microns et UV



Vue du bac tampon avec les arrivées d'eau de mer neuve en provenance de l'extérieur et usée en provenance des bacs



## Le module élevage larvaire

Une fois les réserves en sels épuisées, les 2 bacs qui servaient à préparer l'eau de mer artificielle ( $2 \times 2,5 \text{ m}^3$ ) ont eux aussi été équipés d'un système de recirculation, indépendant de celui utilisé pour les élevages. L'objectif a été de disposer d'un volume d'eau de mer de la meilleure qualité possible afin de réaliser les pontes et les élevages larvaires. Il comprend un filtre biologique, un écumeur, une lampe UV (40watts) et un filtre mécanique (10 microns) associé à un filtre à charbon actif. Il reçoit directement l'eau de mer traitée en provenance de la cuve extérieure. Afin de maintenir le filtre biologique en activité en dehors des périodes d'élevage,  $2\text{mg/l}$  d'azote ammoniacal (sous





forme de chlorure d'ammonium) sont rajoutés journallement au système. La salinité est ajustée à 35‰ par ajout d'eau douce suivant les besoins. Pour les mêmes raisons de sécurité évoquées antérieurement, l'eau n'est pas thermorégulée.

La circulation de l'eau est assurée par une pompe d'un débit nominal de 133 l/mm. Le flux au niveau de chaque composant du système est régulé par des vannes.

Filtre biologique : 3m<sup>3</sup>/heure

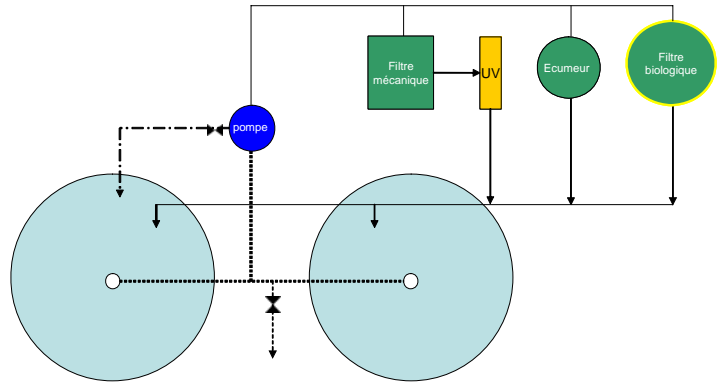
Ecumeur : 1m<sup>3</sup>/heure

Filtre mécanique et charbon actif : 1m<sup>3</sup>/heure

UV : 1m<sup>3</sup>/heure

Le reste du flux retourne directement dans les bacs

Schéma hydraulique du module élevage larvaire



## Déroulement des élevages de géniteurs

Durant toute la période des travaux qui a duré de la mi-août à début novembre, les crevettes ont été réunies dans 2 bacs de 5 m<sup>3</sup>, puis transférées de bac à bac en fonction de l'avancement des aménagements. Les conditions n'ont donc pas été optimales mais le faible nombre de crevettes en élevage (269 le 8 août) a cependant permis de mener les élevages sans trop de conséquences. Le 18 octobre il restait encore 215 crevettes en élevage (81% de survie). Comme durant la phase de quarantaine, la moitié des crevettes mortes n'ont pas été retrouvées dans les bacs.

Les crevettes ont été nourries dès le mois de septembre avec une alimentation à base de granulés géniteurs MSV complétée chaque jour par du calamar ou des moules congelées. L'utilisation d'un aliment spécial maturation importé (INVE) a été rapidement abandonnée car il colorait l'eau et rendait toute observation impossible.

Le système centralisé de traitement de l'eau a fonctionné à partir de la mi-octobre sans problèmes particuliers de qualité de l'eau, les valeurs en ammoniacque, nitrite et nitrate étant toujours inférieures aux limites fixées. De l'eau de mer artificielle a été utilisée jusqu'au 7 novembre, date à laquelle les approvisionnements en eau de mer naturelle ont commencé. Le passage a été progressif, sans conséquences apparentes sur les animaux. La salinité a augmenté graduellement de 28‰ à 34‰. L'apport journalier en eau de mer naturelle traitée a été en moyenne de 0,5 m<sup>3</sup> (3% de renouvellement), principalement pour compenser l'eau perdue par siphonage ou lavage des filtres, mais aussi en fonction de la disponibilité en eau de mer. En effet des incidents divers survenus au niveau du transporteur (chauffeur absent, camion en panne) n'ont pas permis de compter avec un approvisionnement hebdomadaire régulier. De plus la qualité de l'eau apportée a rapidement décliné à cause de l'oxydation interne de la cuve en métal, à tel point que dès le début du mois de décembre l'eau était rouge lors de sa livraison. Cette oxydation a empiré avec le temps et l'eau est devenue inutilisable dès la fin décembre.

La température de l'eau a varié entre 23 et 29°C.

Il restait, début décembre, 155 crevettes vivantes, (72 femelles et 83 mâles) soit 57% de survie depuis début août. Le poids des femelles variait de 25 à 50g et celui des mâles de 22 à 45g.

## Reproduction

Le 2 décembre, 71 femelles ont été épédonculées et distribuées dans 2 bacs, les mâles étant regroupés dans un troisième bac. Le quatrième bac est réservé aux mâles ayant déjà été utilisés et en cours de régénération des spermatophores.

La température de l'eau varie de 23°C le matin à 28°C en fin d'après-midi.

Une seule femelle meurt dans les jours qui suivent l'ablation de l'œil.

- ✓ Les premières maturations apparaissent le jour suivant l'ablation oculaire et 3 jours après, les premières pontes ont lieu. La salle n'étant pas équipée pour inverser la photopériode comme cela se fait dans les écloséries, les inséminations artificielles ont été réalisées dans la soirée, entre 21 et 22 heures, quelques heures avant la ponte.

Les femelles inséminées sont placées, à raison d'une femelle par unité, dans des poubelles de 80 l remplies de 50 l d'eau de mer issue du module d'élevage larvaire. Ces poubelles sont positionnées sur le sol et non en bain-marie dans le module.



Poubelles servant de pondoirs



Poubelles équipées d'une bouée utilisées pour les élevages larvaires

Un léger bullage permet d'aérer l'eau. La température de l'eau varie de 24 à 28°C. Les femelles sont remises dans leur bac d'origine le lendemain matin et baguées, une couleur de bague correspondant à un jour de ponte. La qualité des pontes est alors évaluée et seules sont gardées les pontes pouvant potentiellement fournir des nauplii.

L'éclosion des nauplii a lieu en début d'après-midi et les larves sont mises en élevage dans des poubelles flottant dans les bacs du module élevage larvaire. Ce positionnement permet de limiter les variations de température qui restent cependant importantes ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ).

- ✓ Quarante-cinq inséminations ont été réalisées entre le 5 et le 14 décembre et entre le 26 et le 29 décembre :

non fécondées	Dont		fécondées	Dont
12	6 amas	4 éclatées	33	12 non éclos

La quantité d'œufs pondus, environ 90 000 la première semaine, s'est améliorée avec le temps pour atteindre plus de 200 000 fin décembre. La majorité des mâles présentait, lors de leur première utilisation, des spermatophores nécrosés à très nécrosés avec comme conséquence des taux de fécondation faibles (quelques %). L'utilisation des spermatophores régénérés, de meilleure qualité, a permis des taux de fécondation moyens supérieurs à 50%.

Les taux d'éclosion se sont dégradés concomitamment à la dégradation de la qualité de l'eau de mer, les dernières pontes ne donnant lieu à aucune éclosion.

- ✓ Vingt et un élevages larvaires ont été initiés à des densités entre 20 et 200 larves au litre. Le protocole est celui utilisé à l'écloserie du DAC à Saint-Vincent, c'est-à-dire sans algues. Tous les élevages, sauf un, n'ont pas dépassé le stade zoé 2 ou 3 avec arrêt progressif de l'alimentation et retard dans le passage des stades, alors que les zoés 1 étaient actives et s'alimentaient correctement le premier jour. Ces résultats peuvent avoir plusieurs origines : des réserves insuffisantes chez les nauplii, une toxicité de l'eau (à mettre en relation avec la dégradation de la qualité de l'eau de mer livrée et les taux d'éclosion nuls), une qualité bactériologique de l'eau (utilisation d'eau recirculée et traitée aux UV), les variations de température ou le régime alimentaire sans algues. Le seul élevage ayant atteint le stade P 20 a été réalisé dans des conditions identiques à celle des autres élevages, avec une survie de 8%.

## Résultats des PCR (Polymerase Chain Reaction) diagnostiques sur les crevettes du conservatoire

Soixante pléopodes ont été prélevés fin décembre sur soixante crevettes présentes dans le conservatoire. Il s'agissait de vérifier l'efficacité des mesures sanitaires qui avaient été prises pour éviter la contamination des crevettes du conservatoire par les pathogènes présents en Nouvelle-Calédonie : traitement de l'eau de mer, isolation de la zone d'élevage, désinfection du matériel, restriction de l'accès, hygiène générale.

- ✓ L'extraction de l'ADN s'est faite suivant la méthode phénol-chloroforme-alcool isoamylique classique (Jackson *et al.* 1991). Les ADN sont précipités dans de l'éthanol absolu puis repris dans de l'eau ultra-pure et traités à la RNase à 100 µg/ml.

La quantification des ADN s'effectue par spectrophotométrie.

Les ADN sont alors dilués dans de l'eau pure à une concentration de 100 µg/ml.

Des PCR spécifiques de chacun des trois pathogènes ont été réalisées sur l'ensemble de ces échantillons. Les réactions PCR ont été menées dans un thermocycleur Gene Amp 9700 (Applied Biosystem). Les réactions PCR ont été réalisées à partir d'un microlitre d'ADN, soit 100 ng.

La PCR *Vibrio nigripulchritudo* a été réalisée avec les amorces VnF et VR suivant le protocole décrit par Goarant *et al.* (2006), la PCR *Vibrio penaeicida* avec les amorces VpF et VR suivant le protocole décrit par Saulnier *et al.* (2000) et enfin la PCR IHHNV (Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus) a été réalisée avec les amorces 389F et 389R suivant le protocole de référence de l'Office International des Epizooties (OIE). Les amorces utilisées sont décrites dans le tableau ci-dessous.

VpF	5'-GTGTGAAGTTAATAGCTTCATATC-3'
VR	5'-CGC ATC TGA GTG TCA GTA TCT-3'
VnF	5'-GTG TGA ATT TAA TAG ATG CAC ATT-3'
389F	5'-CGG-AAC-ACA-ACC-CGA-CTT-TA-3'
389R	5'-GGC-CAA-GAC-CAA-AAT-ACG-AA-3'

Pour chaque amplification, un témoin négatif (eau pure) et un témoin positif ont été réalisés (extrait ADN génomique de la souche de *V. nigripulchritudo* SFn1, extrait ADN génomique de la souche de *V. penaeicida* AM101, extrait ADN de pléopode de crevette calédonienne porteuse du virus IHHN). Les produits d'amplification sont visualisés sur gel d'agarose à 1,5% en présence de bromure d'éthidium.

- ✓ Les résultats ont tous été négatifs. Ils confirment l'absence de ces trois pathogènes dans les crevettes du conservatoire et donc l'efficacité des mesures de protection sanitaire.

## Conclusions

Malgré les résultats mitigés des élevages larvaires, et les nécroses observées au niveau des spermatophores des mâles, le bilan du conservatoire reste très positif en dépit des conditions suboptimales. L'expérience acquise a de plus permis d'identifier les points faibles et forts des systèmes et matériels utilisés, mais aussi de montrer l'importance des mesures sanitaires préventives et du respect des protocoles.

On retiendra particulièrement les points suivants pour un projet d'installations biosécurisées :

- ✓ Des installations biosécurisées peuvent être installées et fonctionner à l'intérieur des terres. L'aménagement d'un local existant est possible pour réduire les coûts mais limite les possibilités d'aménagement.
- ✓ Le personnel doit être formé spécifiquement pour travailler dans les conditions très particulières d'installations biosécurisées.
- ✓ Il est possible d'élever des crevettes durant tout un cycle en eau claire, de les amener à la taille de reproduction et de les reproduire en circuit fermé. Les conditions d'élevage larvaire sont à améliorer et l'utilisation d'algues et de probiotiques est à envisager.
- ✓ Les problèmes de cannibalisme et d'une plus faible croissance sont à considérer avec attention ; ils devraient cependant pouvoir être améliorés par des mesures spécifiques : bacs à fond plats, alimentation, chauffage....
- ✓ La mélanisation des spermatophores mérite une attention particulière. Il est probable qu'elle est à mettre en relation avec la charge bactérienne de l'eau qui a également entraîné les nécroses observées au niveau des appendices des géniteurs. La régénération des nouveaux spermatophores de bonne qualité a montré que le problème pouvait être surmonté.
- ✓ Le traitement de l'eau recirculée par les UltraViolets est primordial, notamment en relation avec les nécroses. Il doit être continu et la puissance des lampes être adaptée au volume. L'impact du traitement de l'eau par les UV en élevage larvaire mériterait d'être mieux documenté.
- ✓ L'eau de mer reconstituée est une solution viable pour substituer l'eau de mer naturelle lorsque les volumes d'élevage et les changements d'eau sont limités. Le choix du fournisseur des sels est important pour assurer leur qualité. On choisira les mélanges prêts à l'emploi et non les sels à mélanger pour éviter des problèmes de stocks de qualités différentes et faciliter la préparation de l'eau de mer artificielle.
- ✓ Le traitement de l'eau de mer naturelle est une autre alternative mais l'approvisionnement par citerne peut être problématique : problèmes mécaniques, de personnel ou nature de la citerne.
- ✓ La régulation thermique des volumes d'élevage est importante pour optimiser les croissances et éviter les variations de température, particulièrement en élevage larvaire.
- ✓ La standardisation du matériel est un élément clé pour la maintenance des installations au quotidien, tant au niveau de l'équipement qu'au niveau des pièces de rechange et des consommables.
- ✓ La filtration biologique, une fois les populations bactériennes installées, et l'utilisation d'écumeurs ont permis de traiter efficacement l'eau recirculée. L'accumulation de nitrates, problématique dans les élevages intensifs, a été limitée. L'utilisation de filtres biologiques complémentaires fonctionnant en conditions anaérobies, ne semble pas nécessaire à condition d'avoir la possibilité de réaliser des renouvellements en eau neuve réguliers.

# Eléments de réflexion pour un projet de conservatoire crevettes

## Généralités sur la biosécurité

C'est un concept très général qui englobe diverses notions sur le comment et le pourquoi il faut gérer les risques biologiques associés à l'alimentation et à ses systèmes de production. Dans le cas général de l'agriculture (et de l'aquaculture), les mesures de biosécurité visent à :

- protéger la santé humaine et celle du consommateur en particulier
- protéger les systèmes de production contre les maladies
- rendre les systèmes de production « durables » et protéger l'environnement

La biosécurité peut donc couvrir de nombreux sujets. Elle est à la base du succès dans le développement de nombreuses productions animales (bovins, volailles, truite, saumon, poisson chat...). Dans le cas de l'aquaculture, elle a souvent limité son domaine d'action aux 2 derniers alinéas, et on peut la définir comme la recherche de moyens pour limiter les pertes de production directes ou indirectes dues à des maladies, à des problèmes physico-chimiques, à des problèmes d'environnement, à la nutrition des animaux, aux prédateurs etc.... (Subasinghe et Bondad-Reantoso 2006) ou l'exclusion de pathogènes des systèmes d'élevage (Lightner 2003). La prise en compte de ces problèmes potentiels entraîne la mise au point de protocoles qui doivent permettre de limiter leur impact.

La création d'un conservatoire est une des réponses que l'on peut apporter à la biosécurité des élevages de crevettes. En effet, la protection de souches de crevettes, indépendamment des stocks de crevettes utilisés dans les fermes et écloséries, doit permettre de disposer à tout moment de crevettes saines pour relancer une filière qui aurait été gravement atteinte par une pathologie ou un autre évènement. L'existence d'un conservatoire peut également ouvrir la voie à d'autres produits d'intérêt pour la filière. Ces approches avaient déjà été développées par Lightner et Malher (1999) dans un rapport faisant suite à une « mission quarantaine aquacole » réalisée à la demande de la Direction de l'Economie Rurale. Les principales recommandations de ce rapport ont été reprises ainsi que quelques principes directeurs pour les plans des installations.

Il existe de nombreuses techniques fiables permettant d'offrir un environnement protégé. Ces techniques se différencient de celles mises en œuvre dans une quarantaine principalement par le fait que l'on cherche à contrôler les intrants et non pas les effluents. Elles sont plus ou moins sophistiquées selon les contraintes sanitaires et climatiques locales mais ne dépendent pas (ou peu) de l'espèce élevée. Leur mise en œuvre ne nécessite pas d'expérimentations préliminaires particulières mais plutôt un ajustement, une adaptation aux contraintes techniques (disponibilité d'équipements), financières (recherche du moindre coût), topographiques (espace disponible, possibilités d'extension, d'aménagement), et surtout aux objectifs recherchés (taille des installations variable selon qu'il s'agit d'un sanctuaire, d'un centre de production de géniteurs ou de nauplii).

L'expérience dans les installations de quarantaine, puis dans le conservatoire de Boulouparis, a permis d'acquérir un savoir-faire biologique, mais aussi technique et zoosanitaire. Tous les problèmes pouvant être rencontrés dans un contexte différent n'ont bien sûr pas été vécus mais les principales contraintes d'élevages biosécurisés ont pu être analysées.

## La démarche HACCP

Le fonctionnement de structures biosécurisées, une fois que les sites, le type d'installations et leur importance sont choisis, doivent fonctionner d'une manière rigoureuse afin d'éliminer autant que faire se peut, les risques sanitaires.

Le système HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point ou Analyse des Risques et Points Critiques de Contrôle) est une démarche préventive qui a été initialement mise en place dans l'industrie agro-alimentaire pour éviter les risques sanitaires. L'application de ces principes aux systèmes aquacoles est de plus en plus répandue pour éliminer les risques sanitaires pour le consommateur mais aussi pour améliorer la productivité face aux problèmes de pathologie.

Le succès des élevages biosécurisés se déroulant dans les quarantaines et le conservatoire dépend en grande partie du respect de règles sanitaires, prophylactiques et organisationnelles. L'HACCP permet de procéder à une analyse de risques en définissant des seuils critiques (Critical Limits ou CL) pour chaque Point de Contrôle Critique (Critical Control Point ou CCP) des systèmes mis en place. Un CCP est une étape du processus d'élevage ou du fonctionnement du système général à laquelle un contrôle doit être fait pour prévenir, éliminer ou minimiser un risque à un niveau acceptable. Quand une observation ou un suivi révèle qu'un seuil critique est dépassé, des mesures doivent être prises pour y remédier. Pour ce faire on réalise une analyse de risque spécifique et lorsque la cause est déterminée, on remédie immédiatement au problème. On identifie ensuite une solution à long terme qui sera mise en œuvre pour éviter que le problème ne se reproduise (Garrett *et al.* 2000) et un protocole est rédigé (Standard Operating Procedure ou SOP).

La mise en place du système HACCP se généralise pour les élevages et éclosiers de crevettes tant au niveau expérimental qu'au niveau de la production (Weirich *et al.* 2003 ; FAO 2003 ; Jahncke *et al.* 2001).

Pour chaque installation de quarantaine et le conservatoire les 7 principes de base de la démarche devront être appliqués, dans l'ordre chronologique, avant la mise en service des installations :

1. réaliser une recherche systématique des risques,
2. déterminer les points de contrôle critiques,
3. établir les seuils critiques,
4. déterminer les mesures correctives à prendre,
5. établir les procédures de surveillance et contrôle,
6. établir les registres de contrôle,
7. établir les procédures de vérification.

Parmi les points critiques, on peut citer le statut sanitaire des crevettes entrant dans les installations, la qualité « sans pathogènes » de l'eau de mer et des aliments utilisés, le traitement des effluents.

Les mesures préventives pour contrôler les risques pathogènes associés aux employés, aux vecteurs animaux et au matériel seront basées sur la sensibilisation et la formation du personnel, le respect des bonnes pratiques d'élevage et la rédaction des procédures et protocoles pour chaque étape des élevages et chaque activité par zone.

## Un conservatoire, pour quels objectifs généraux ?

La vision du conservatoire considéré comme un simple coffre-fort est un peu réductrice dans le sens où elle est peu évolutive et représentative de ce que peuvent permettre de réaliser les installations d'un conservatoire. Une série d'options plus ou moins ambitieuses, et pas toutes compatibles entre elles, peut être proposée pour un conservatoire en Nouvelle-Calédonie.

## Option 1 : Maintien du statut sanitaire actuel

Cette option est la plus simple car les animaux présents dans le conservatoire sont potentiellement porteurs du virus IHHN et des vibrios existants dans le milieu naturel dont *V. nigripulchritudo* et *V. penaeicida*. Le conservatoire devient plutôt une réserve de crevettes au statut sanitaire incertain. On pourrait l'utiliser pour les souches de *L. stylirostris* actuellement présentes en Calédonie (souche calédonienne (CC) et souche hawaïenne (HH) récemment importée) mais aussi pour d'autres espèces de crevettes locales. On fait alors la supposition (qui peut être erronée) que les crevettes ne sont porteuses d'aucun autre pathogène au moment de la rentrée dans le conservatoire. Le but du conservatoire est alors d'éviter, après l'introduction initiale des crevettes, l'intrusion de nouveaux pathogènes. Cependant toute nouvelle entrée d'animaux dans le conservatoire renouvelle le risque d'introduction d'un nouveau pathogène.

## Option 2.1 : Création et/ou maintien d'un statut sanitaire SPF pour souches locales

Cette option est plus ambitieuse car, en amont du conservatoire, il faut considérer une étape préliminaire, la création du statut SPF (Specific Pathogen Free). Elle ne peut se faire que dans des installations de type quarantaine primaire (pour le diagnostic) puis secondaire (reproduction). Ce surplus par rapport à la première option se justifie par la sécurité sanitaire pour la rentrée de nouvelles crevettes dans le conservatoire. Il faudra s'assurer que les souches CC, HH et autres souches d'espèces locales soient indemnes de IHHN ou autres virus présents en Calédonie et débarrassées des vibrios endémiques. On peut également penser à des valorisations à l'exportation, valorisations qui ne seront possibles que si les animaux sont SPF.

La création d'un statut sanitaire SPF n'est évidemment pas compatible avec l'option 1.

## Option 2.2 : Importation de nouvelles souches ou espèces ayant un statut sanitaire SPF

Cette option est complémentaire de l'option 2.1. Elle utiliserait la quarantaine primaire mise en place dans l'option 2.1 pour dépister des espèces ou souches importées et ayant un statut garanti SPF depuis plusieurs générations avant leur entrée dans le conservatoire.

L'option 2.2 est compatible avec l'option 2.1 mais pas avec l'option 1.

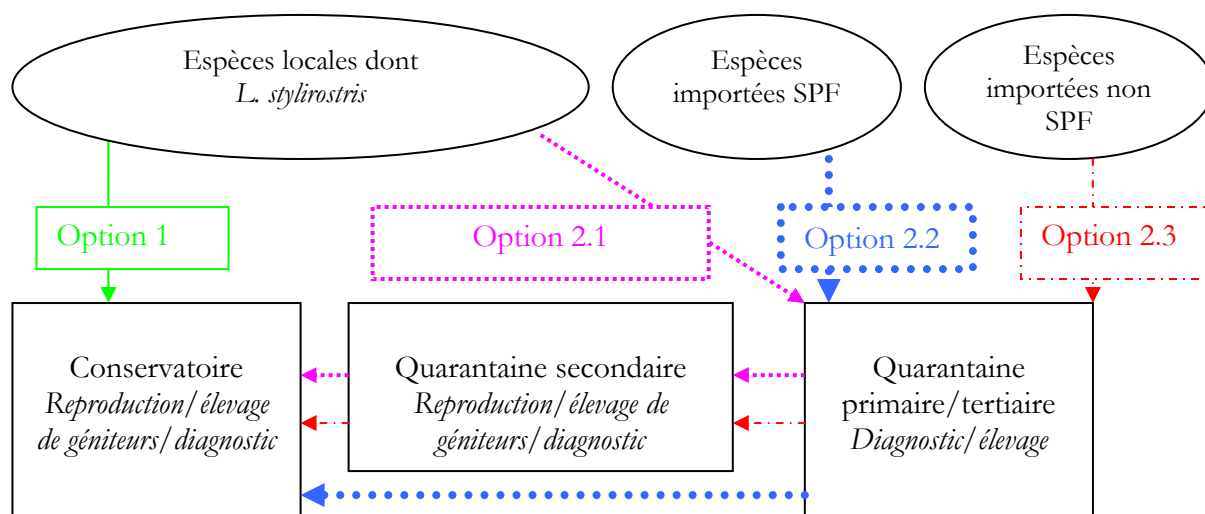
## Option 2.3 : Importation d'animaux ayant un statut sanitaire incertain

Cette option serait à considérer en particulier pour l'importation d'animaux sauvages à forte variabilité génétique, préalablement dépistés sur le site de leur capture mais encore potentiellement porteurs de pathogènes non détectés. Elle utiliserait la quarantaine primaire, puis la quarantaine secondaire avant l'entrée des animaux dans le conservatoire. Un tel schéma a été utilisé récemment pour *Fenneropenaeus chinensis* (Pantoja *et al.* 2005 ; Henning *et al.* 2005)

On se rend compte que l'option 1 est figée, très limitée, pas totalement biosécurisée et que seules les options 2.1, 2.2 & 2.3 sont réellement intéressantes grâce à la présence d'unités de quarantaine qui permettent de ne faire rentrer dans le conservatoire que des crevettes ayant été analysées pour éliminer les individus porteurs de pathogènes connus et diagnosticables.

## Les composantes du projet

Trois types d'installations sont visualisés dans le schéma ci-dessous et mises en relation avec les options décrites dans le chapitre précédent.



Afin de limiter les risques sanitaires, **un seul lot est élevé à la fois dans les installations de quarantaine alors que plusieurs lots peuvent être élevés simultanément dans le conservatoire.**

### La quarantaine primaire/tertiaire

Elle permet de garder les animaux en élevage le temps nécessaire pour réaliser les diagnostics avant de les déclarer ou non sains. Lorsque des animaux au statut sanitaire inconnu sont rentrés, la quarantaine est une **quarantaine primaire**. Lorsque ce sont des animaux ayant déjà acquis par ailleurs un statut sanitaire SPF, on utilise le terme de **quarantaine tertiaire**. Les installations sont du type de celles de Boulouparis qui ont permis de conserver les animaux SPF importés d'Hawaï avant leur sortie.

**Pour des raisons de biosécurité il paraît indispensable que cette quarantaine soit isolée géographiquement de la quarantaine secondaire et du conservatoire.** Les flux d'animaux étant peu importants, l'isolement géographique ne pose pas de problème.

### La quarantaine secondaire

Elle permet la reproduction d'une génération afin de s'assurer que la descendance peut être certifiée sans pathogènes et peut être transférée sans risques dans le conservatoire. Les installations sont plus conséquentes et doivent permettre l'élevage de géniteurs et la réalisation d'élevages larvaires. Le passage préliminaire par une quarantaine primaire est obligatoire.

### Le conservatoire proprement dit

C'est l'étape finale qui permet d'entretenir, générations après générations, les souches et espèces qui y ont été introduites en provenance d'une quarantaine secondaire ou tertiaire. Plusieurs utilisations sont envisageables :

Type 1 - fonctionnement décentralisé : conservation du statut sanitaire



Le conservatoire ne joue que son rôle de conservatoire et les animaux produits ne sont en principe pas utilisés par les écloseries qui gèrent leur propre stock. Les transferts du conservatoire vers les écloseries n'ont lieu qu'en cas de problème (stock insuffisant, problème ayant justifié un vide sanitaire général d'une écloserie et de ses bassins géniteurs ou apparition d'un nouveau pathogène). Le conservatoire devient un sanctuaire.

Type 2 - fonctionnement intermédiaire : fourniture de nauplii ou Pls

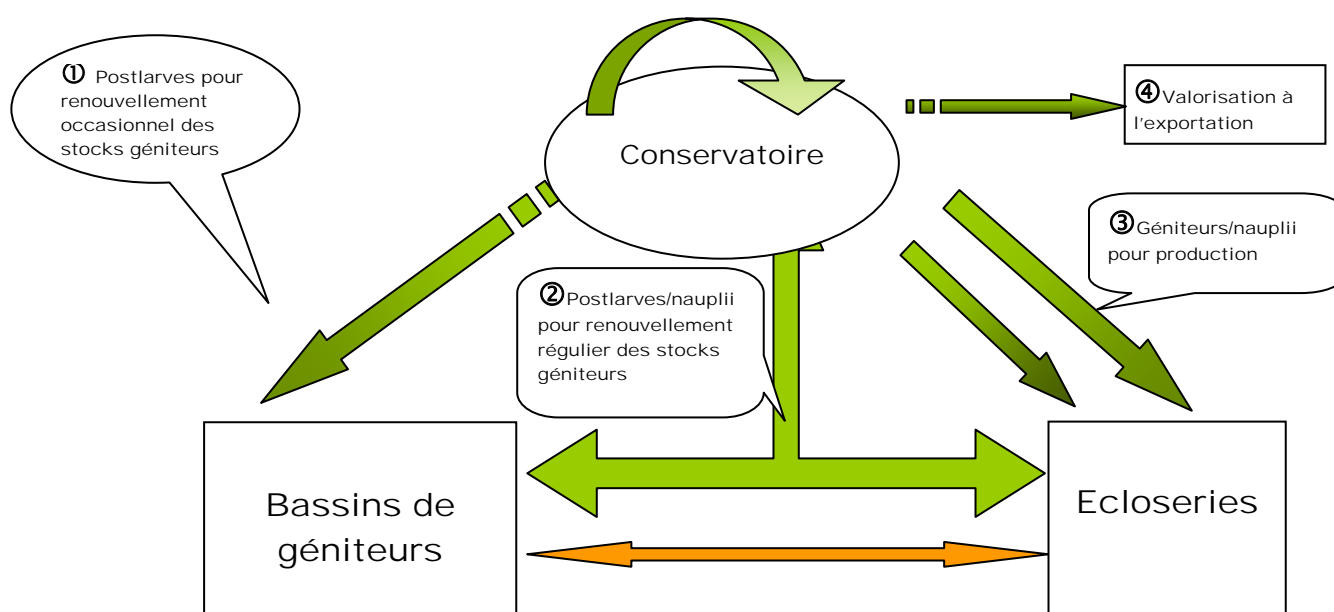
Le conservatoire fournit aux différentes écloseries des lots de nauplii ou de Pls correspondant aux lots de géniteurs qu'elles exploiteront 8 à 12 mois plus tard. Chaque écloserie a le choix entre élever ces larves de façon traditionnelle (en perdant le statut sanitaire initial) ou de les élever jusqu'au stade géniteur avec des techniques de grossissement adaptées au maintien du statut sanitaire.

Type 3 - fonctionnement totalement centralisé : fourniture de géniteurs/nauplii

La structure commune produit des géniteurs suivant un plan de gestion adapté, et avec un cloisonnement entre plusieurs stocks menés en parallèle. Les écloseries utilisent les géniteurs pour produire des animaux destinés à la production. Le conservatoire pourrait également fournir des nauplii aux écloseries afin de remplir leurs bacs de production. L'évolution du statut sanitaire des animaux livrés dépendra des efforts qu'elles déploieront de façon indépendante les unes des autres. Les écloseries ne maintiennent plus leurs propres stocks de géniteurs.

Ce fonctionnement centralisé, peu réaliste car les flux d'animaux sont importants et peuvent poser des problèmes de transport, nécessite des installations importantes et interfère avec les infrastructures des écloseries existantes. Cette solution doit cependant être mentionnée car elle est techniquement réalisable et pourrait correspondre aux besoins de la filière dans un nouveau contexte sanitaire ou organisationnel.

Type 4 - Une valorisation complémentaire du statut sanitaire SPF des animaux du conservatoire peut être envisagée sous la forme d'exportation de géniteurs.



## Le choix des sites

Le choix du site est particulièrement important car il doit correspondre à plusieurs critères, pas toujours en relation directe avec la biosécurité même si celle-ci doit toujours primer. D'une manière générale, plus le projet se trouvera dans un milieu potentiellement contaminant ou contaminable (proximité de bassins d'élevage, d'écloseries, zones de rejets aquacoles)

- Plus les installations devront être protégées et/ou isolées
- Plus les mesures de biosécurité devront être strictes
- Plus les traitements de l'eau devront être poussés

La proximité de la mer est a priori indispensable pour la réalisation d'un pompage et l'approvisionnement fiable en eau de mer des installations, principalement pour le conservatoire dont les besoins en eau pourront être relativement importants.

La localisation en zone d'élevages de crevettes, ne semble pas recommandable pour les installations de quarantaine et du conservatoire qui pourraient être contaminées à la moindre défaillance technique ou humaine.

Le choix de l'isolement géographique, en bord de mer, dans des zones sans élevages et potentiellement non contaminées est intéressant. Il apporte de nombreux avantages dans le fonctionnement quotidien et la sécurité zoosanitaire. Cette solution serait particulièrement adéquate pour le conservatoire, et à un moindre degré pour les quarantaines, indépendamment des problèmes que peuvent poser des flux importants d'animaux.

L'isolement géographique à l'intérieur des terres, comme pour les installations de Boulouparis, peut aussi être considéré. Ce choix est à recommander pour les quarantaines qui élèvent des animaux dont le statut sanitaire est encore incertain. Il faut alors envisager :

- L'utilisation d'eau de mer artificielle, malgré un coût initial élevé. Ce choix est bien adapté aux quarantaines primaires et tertiaires, et à un moindre degré (volumes utilisés un peu plus importants) pour la quarantaine secondaire. La réutilisation de l'eau usée est possible mais implique des installations de retraitement spécifiques.
- L'utilisation d'eau de mer naturelle et son approvisionnement par camion citerne a montré ses limites (problèmes mécaniques, de personnel, d'oxydation des cuves) et ne paraît pas recommandable bien que biologiquement faisable. Le choix reste cependant bien adapté (à condition d'avoir une logistique d'approvisionnement de l'eau adéquate) aux besoins d'une quarantaine primaire/tertiaire et même, à un moindre degré, secondaire, qui nécessitent peu d'eau, et il offre une grande « biosécurité ».

	Bord de mer dans zones d'élevage			Bord de mer hors zones d'élevage			Intérieur des terres		
	Q 1aire	Q 2aire	Conserv.	Q 1aire	Q 2aire	Conserv.	Q 1aire	Q 2aire	Conserv.
Logistique Approvisionnement eau de mer	😊	😊	😊	😊	😊	😊	😊	😐	😞
Qualité de l'eau	😐	😐	😐	😊	😊	😊	😊	😊	😊
Biosécurité	😞	😞	😞	😐	😐	😊	😊	😊	😊
classement	3 <sup>ème</sup>	3 <sup>ème</sup>	3 <sup>ème</sup>	2 <sup>ème</sup>	2 <sup>ème</sup>	1 <sup>er</sup>	1 <sup>er</sup>	1 <sup>er</sup>	2 <sup>ème</sup>

Le tableau ci-dessus résume les risques associés à chaque type d'installation, dans différents contextes et pour les principaux critères discutés, le critère biosécurité étant

le plus important. Le bord de mer hors zones d'élevage serait le mieux adapté pour le conservatoire, alors que la quarantaine primaire (et tertiaire) se situerait à l'intérieur des terres. La quarantaine secondaire serait, elle aussi, positionnée à l'intérieur des terres mais la logistique de l'approvisionnement en eau peut conduire à la construire en bord de mer hors zone d'élevage. La solution alternative, dans un souci d'économie, serait de localiser les quarantaines sur le site du conservatoire ; elle est cependant potentiellement porteuse de problèmes dus à la proximité du conservatoire (mouvements de personnels, de matériel) et qui peuvent mettre en péril la biosécurité. La répartition des installations sur 1, 2 ou 3 sites, augmente proportionnellement les investissements et les coûts de fonctionnement, mais sécurise de plus en plus complètement le dispositif.

## Approvisionnement/traitement de l'eau de mer

Le succès des élevages qui sont menés dans des installations biosécurisées dépend largement de la qualité de l'eau utilisée mais aussi de la fiabilité de son approvisionnement et de son traitement avant et après utilisation.

### Eau de mer naturelle

La taille des installations de stockage et traitement va dépendre des volumes utilisés, volumes qui dépendent à leur tour de l'importance des élevages et des objectifs retenus. Les principes restent cependant les mêmes et peuvent être appliqués, indépendamment des besoins, au conservatoire ainsi qu'aux quarantaines. Le choix d'un site dans une zone littorale éloignée des sources potentielles de contamination (ports, fermes aquacoles, zones agricoles ou d'élevage, agglomération urbaine, rivière) permet de limiter les traitements primaires (décantation, filtration) et d'éviter les variations de qualité (salinité) ou l'apparition de toxines et de polluants.

Ainsi, certains conservatoires installés dans des zones particulièrement isolées comme ceux des deux compagnies présentes sur le site du Natural Energy Laboratory of Hawaii Authority sur l'île d'Hawaii, n'utilisent pas de traitement particulier avant l'utilisation de leur eau de pompage (eau de surface à - 10 m et eau de profondeur à - 1000m).

L'isolement et la localisation des conservatoires sont donc des éléments stratégiques qui peuvent permettre de réduire considérablement les investissements liés au traitement de l'eau tout en assurant une biosécurité optimale.

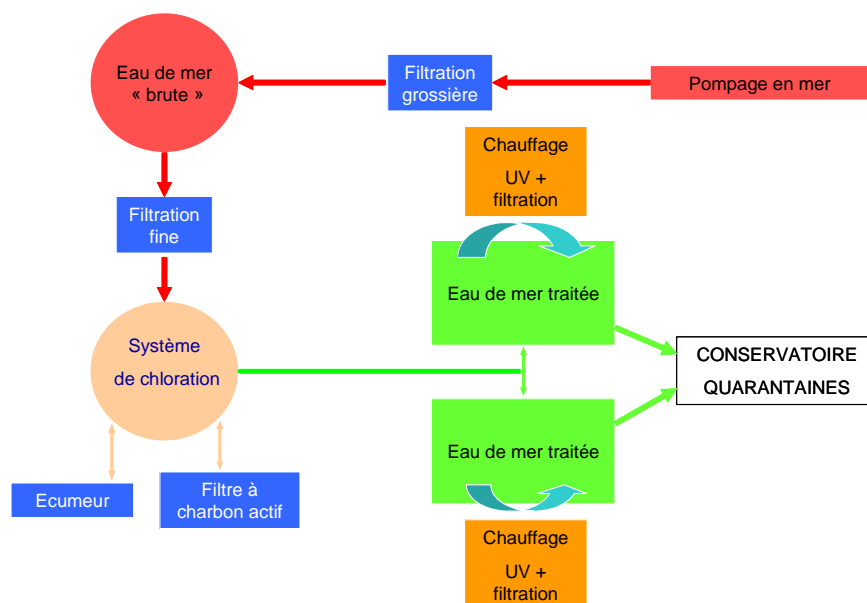
En dehors de ces cas très particuliers (mais que l'on pourrait trouver dans les Iles ou dans certains sites sur la côte Est de la Grande Terre), différentes étapes et certaines précautions sont à respecter pour le traitement de l'eau de mer avant son utilisation. L'importance des installations et les précautions à prendre sont à moduler en fonction des sites et des risques potentiels :

- 1) Localisation du pompage à l'extérieur des zones d'élevage biosécurisées mais à l'intérieur d'une zone sécurisée.
- 2) Besoin d'une capacité de stockage d'eau de mer non traitée (« brute ») pour éviter d'interrompre l'alimentation en cas de problèmes climatiques (baisse de salinité, eaux très chargées en particules) ou techniques (pannes de pompage, d'approvisionnement par camion .....). L'eau de mer, avant d'être stockée, est filtrée par un filtre à tambour (gros volumes) ou un filtre à billes, sable dont la taille et les caractéristiques dépendent des volumes à traiter mais aussi de la taille et de la densité des particules.
- 3) Passage de l'eau de mer « brute » dans une citerne ou une cuve fermée où elle est traitée. Pour une meilleure efficacité il est recommandé de filtrer l'eau avant son

traitement. Puis traitement de l'eau de mer par chloration-déchloration, et passage par un écumeur et sur charbon actif. L'utilisation d'ozone peut également être considérée mais la technicité de sa mise en œuvre efficace peut poser des problèmes de maintenance en routine.

- 4) L'eau traitée est ensuite envoyée vers une citerne/cuve fermée de stockage. L'eau est recirculée à l'intérieur du volume de stockage avec passage sur filtration fine et UV. Le préchauffage de l'eau peut être réalisé à ce niveau (l'utilisation de réchauffeurs solaires peut être recommandée). La présence de 2 unités de stockage (ou une citerne avec 2 compartiments) permettrait d'assurer la maintenance des installations.

Les différentes étapes du traitement de l'eau de mer sont résumées dans le schéma ci-après :



## Eau de mer artificielle

L'utilisation d'eau de mer artificielle, même si l'expérience de la quarantaine de Boulouparis a montré l'importance du choix du fournisseur, de la qualité des ingrédients et de la présentation des sels (en mélange prêts à l'emploi ou en différents lots à mélanger), est une solution alternative intéressante pour les quarantaines primaire et tertiaire. Ces quarantaines qui ne sont utilisées qu'épisodiquement et pour des durées limitées à quelques mois, ont des besoins en eau assez limités si l'on prend pour base le taux de 5% de renouvellement par jour obtenu à Boulouparis.

Le traitement de l'eau est alors limité à la préparation de l'eau de mer artificielle dans des bacs spécifiques à l'intérieur de l'enceinte biosécurisée.

L'utilisation de cette eau pourrait également être appliquée à la quarantaine secondaire car le nombre d'animaux en élevage n'est pas non plus très important même si les élevages durent plus longtemps. L'expérience du conservatoire de Boulouparis a montré qu'il était possible d'élever des animaux jusqu'à la taille de pré-géniteurs en eau de mer artificielle mais la phase finale ayant été réalisée avec de l'eau de mer naturelle traitée nous n'avons pas une réponse complète. Cependant des quarantaines secondaires appartenant à des compagnies privées fonctionnent en routine avec de l'eau de mer artificielle et élèvent et reproduisent avec succès différentes espèces de pénéides (*L. stylirostris*, *L. vannamei*, *Penaeus japonicus* et *P. monodon*, Wyban communication personnelle)

## Utilisation de l'eau de mer

### Les circuits de recirculation

La recirculation de l'eau apparaît comme incontournable dans des installations biosécurisées. Elle se justifie principalement par :

- La nécessité de limiter les effluents issus des quarantaines primaire/tertiaire et secondaire et de les traiter avant leur rejet afin de ne pas risquer de contaminer le milieu extérieur avec des pathogènes exotiques ;
- Le coût et la complexité du traitement/fabrication de l'eau avant son utilisation ;
- Le besoin de thermoréguler les élevages.

Le fait de recirculer l'eau des élevages, sans aller jusqu'aux systèmes sans échanges d'eau, permet de limiter considérablement les besoins en eau tout en assurant une qualité relativement constante de l'eau. Les systèmes de recirculation permettent de travailler par modules indépendants et même par unité à l'intérieur d'un même module. Par exemple, dans une zone de maturation des géniteurs, le système de recirculation peut être général, ou bien chaque bac peut avoir son propre système.

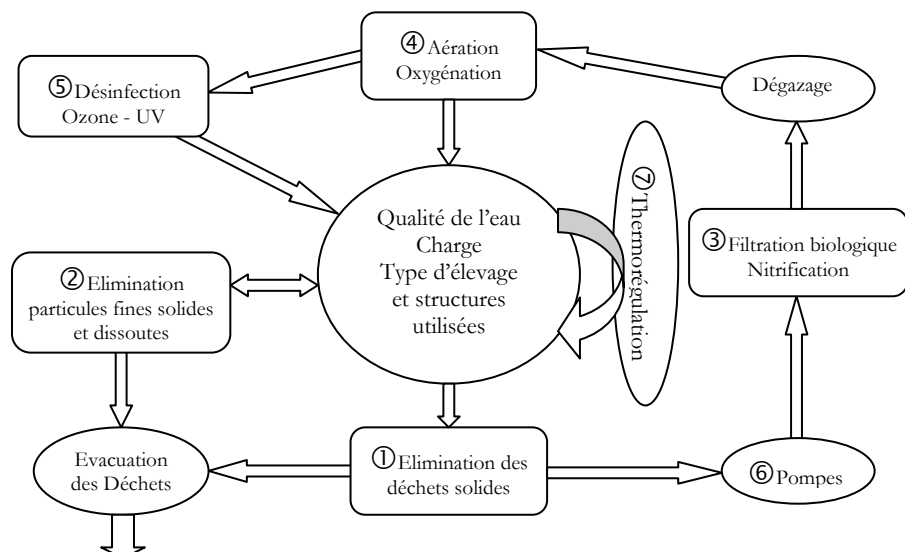
De nombreux exemples montrent qu'il est possible de réaliser l'élevage de géniteurs, la reproduction et l'élevage larvaire en eau claire recirculée sans que les résultats soient affectés (Ogle et Lotz 2001 ; Gandy et Samocha 2003, Otoshi *et al.* 2003).

Les quarantaines qui fonctionnent chez différents fournisseurs de géniteurs de crevettes pénéides, en amont de leurs conservatoires, sont toutes équipées avec des systèmes de recirculation.

### Les différents composants d'un système de recirculation

Les différents composants d'un système de recirculation varient principalement en fonction de la densité d'élevage (plus ou moins de déchets produits), du type d'élevage (la reproduction a besoin d'une eau de meilleure qualité) et du type de structure d'élevage. Dans tous les cas le contrôle du taux d'oxygène et de la température restent des éléments clés qui contribuent au succès des élevages.

On peut schématiser les composants d'un système de recirculation de la manière suivante (modifié d'après Timmons *et al.* 2001) :



Plusieurs solutions sont possibles pour chaque étape :

① Déchets solides : Les cadavres et autres gros déchets sont généralement concentrés dans les bacs d'élevage et enlevés par siphonage. Les autres déchets sont principalement des restes alimentaires, des fèces et des agglomérats bactériens dont la taille est supérieure à 20-30 $\mu$ .

Les particules sont caractérisées par leur taille et leur densité. Le système de filtration visant à les éliminer devra prendre en compte ces caractéristiques mais aussi leur abondance.

Les filtres à billes en polyéthylène (bead filter) sont particulièrement efficaces grâce à leur charge électro-négative qui « attire » les particules. On peut également utiliser des filtres à cartouche ou à poche filtrante.

Les filtres à sable ne sont pas recommandés car, à moins d'effectuer plusieurs backwash par jour, ils se colmatent d'autant plus vite que la charge en composés organiques de l'eau est élevée. On peut remplacer le sable par un autre support plus adapté.

Les filtres à tambour sont aussi un bon choix.

② Particules fines et dissoutes : ce sont des éléments inférieurs à 30 $\mu$ , des substances organiques dissoutes, des algues, des bactéries ou d'autres molécules. Leur élimination par filtration est rendue difficile par le colmatage des supports et peu efficace par des moyens conventionnels mécaniques.

La méthode la plus répandue est celle de l'écumeur (foam ou protein fractionator, protein skimmer) grâce à la formation d'écume qui adsorbe les particules et molécules. L'injection d'ozone améliore le procédé et aide au contrôle des bactéries, protozoaires et même des virus.

③ Filtration biologique : elle permet d'éliminer les déchets azotés produits par les crevettes mais aussi par la décomposition de l'aliment non consommé, de la nourriture ou les cadavres.

Les bactéries nitrifiantes sontensemencées ou colonisent naturellement (mais plus ou moins rapidement) les supports du filtre. Ces bactéries autotrophes transforment  $\text{NH}_3$  ou  $\text{NH}_4^+$  en  $\text{NO}_2^-$  puis en nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ). Les nitrates sont peu toxiques mais doivent être éliminés soit en réalisant des changements d'eau, soit en incluant dans le système une boucle anaérobie qui permet le développement de bactéries hétérotrophes qui produisent de l'azote gazeux.

Il existe de nombreux types de filtres biologiques dont l'efficacité dépend avant tout du type d'élevage (plus ou moins intensif), du besoin ou non de dégazer l'eau et aussi de la place disponible.

④ Aération : Le maintien, par des moyens mécaniques, de la concentration en oxygène dissous à des valeurs proches de la saturation est très important dans les systèmes de recirculation où la production d'oxygène par des algues est quasi inexistante. L'air aide également à l'homogénéisation des masses d'eau, à l'oxydation des déchets organiques et à la désaturation de l'eau en  $\text{CO}_2$  ou en azote par exemple.

L'utilisation de compresseurs et des pierres de bullage est parfaitement adaptée pour les élevages avec une biomasse inférieure à 1kg/m<sup>3</sup>. Les surpresseurs peuvent également permettre d'aider à la circulation des fluides grâce au système d'air-lift. Lorsque les biomasses sont plus élevées, il peut être nécessaire de positionner des aérateurs à venturi (type AIRE-O<sup>2</sup>) qui injecte de l'air dans l'eau ou des brasseurs (type paddle wheel).

⑤ Désinfection : les systèmes de recirculation sont un véritable milieu de culture pour les bactéries, pathogènes ou non, les protozoaires, les champignons et même les virus. La propreté des installations et des différents accessoires reste la base de l'hygiène des élevages mais n'est pas suffisante.

Les radiations ultraviolettes (UV) sont le meilleur moyen de désinfecter l'eau des élevages. Pour une efficacité optimale, l'eau qui passera par les rayons UV devra être la plus limpide possible (pas turbide ni colorée). Différents types de lampes sont disponibles en fonction des débits. On choisira des lampes à mercure à basse pression, en surévaluant les besoins et en prévoyant des changements de lampes tous les 6 mois.

⑥ Pompes : elles sont indispensables pour faire circuler l'eau dans les différents éléments des circuits même si, dans certains cas, les systèmes de circulation par air-lift peuvent être suffisants.

Le choix des pompes se fera en fonction des éléments en aval. On devra privilégier le débit plutôt que la pression ou la force d'aspiration. Les pompes centrifuges à corps en matière « plastique » sont bien adaptées.

⑦ Thermorégulation : elle pourra s'avérer nécessaire, particulièrement pour chauffer l'eau, à certaines époques de l'année et pour la reproduction. Plutôt que d'envisager des systèmes généraux pour l'ensemble des installations, il vaudrait mieux prévoir des systèmes « en ligne » sur les circuits de recirculation.

Les installations de quarantaine ou du conservatoire pouvant contenir plusieurs unités différentes, chacune avec son ou ses propres systèmes de recirculation, l'accent doit être mis sur la standardisation du matériel utilisé afin de faciliter l'entretien et le remplacement des composants usagés.

Afin de mieux visualiser tous les éléments qui ont été décrits précédemment, il est possible de consulter sur le web les catalogues de certains fournisseurs spécialisés en aquaculture aux USA <http://www.aquaticeco.com> ou en Australie <http://www.aquasonic.com.au>

## Le traitement des effluents

Deux cas sont à considérer :

1. les effluents des quarantaines : les animaux en élevage n'ayant pas encore acquis un statut sanitaire « sans pathogènes connus », les effluents sont potentiellement porteurs de pathogènes et doivent donc être traités afin de les désinfecter. La chloration reste un moyen privilégié, facile à mettre en œuvre, et qui, si il est bien appliqué, assure une désinfection totale.  
La localisation des quarantaines à l'intérieur des terres est une précaution supplémentaire. Si les quarantaines sont en bord de mer, les mesures de désinfection devront être particulièrement strictes.  
Ces mesures prennent tout leur sens lorsque les animaux sont importés et potentiellement porteurs de pathogènes exotiques à la Nouvelle-Calédonie. Elles peuvent également se justifier dans le cas d'un zonage zoosanitaire afin d'éviter d'introduire un pathogène existant dans la zone d'origine des animaux et inexistant dans la zone de quarantaine.
2. les effluents du conservatoire : les animaux en élevage sont a priori indemnes de pathogènes. Le traitement des effluents se limitera alors au contrôle des paramètres de la qualité de l'eau (demande en oxygène, charge organique, turbidité) afin de ne pas altérer le milieu côtier. Cependant, certains produits chimiques (chlore, antibiotiques) pouvant être utilisés dans le conservatoire, il est préférable de prévoir un bassin de stockage des effluents avant leur

libération dans le milieu naturel. Ce bassin peut également s'avérer utile en cas de mortalités inexplicables dans le conservatoire ; et, dans l'attente des résultats des diagnostics, peut servir à désinfecter les effluents.



## Les installations : principales contraintes et schémas

Les installations devront être conçues et réalisées en ayant toujours à l'esprit qu'elles doivent permettre d'assurer la biosécurité des élevages d'une manière simple mais efficace. Elles doivent notamment faciliter la mise en œuvre des protocoles d'élevage, de désinfection et les mesures préventives dans le cadre des bonnes pratiques d'élevage. Les schémas des pages suivantes ne sont donc fournis qu'à titre indicatif, les détails particuliers (canalisations, circulation des personnes, traitements de l'eau de mer, ...etc.) et les dimensionnements devant être étudiés plus précisément lors de l'élaboration du projet.

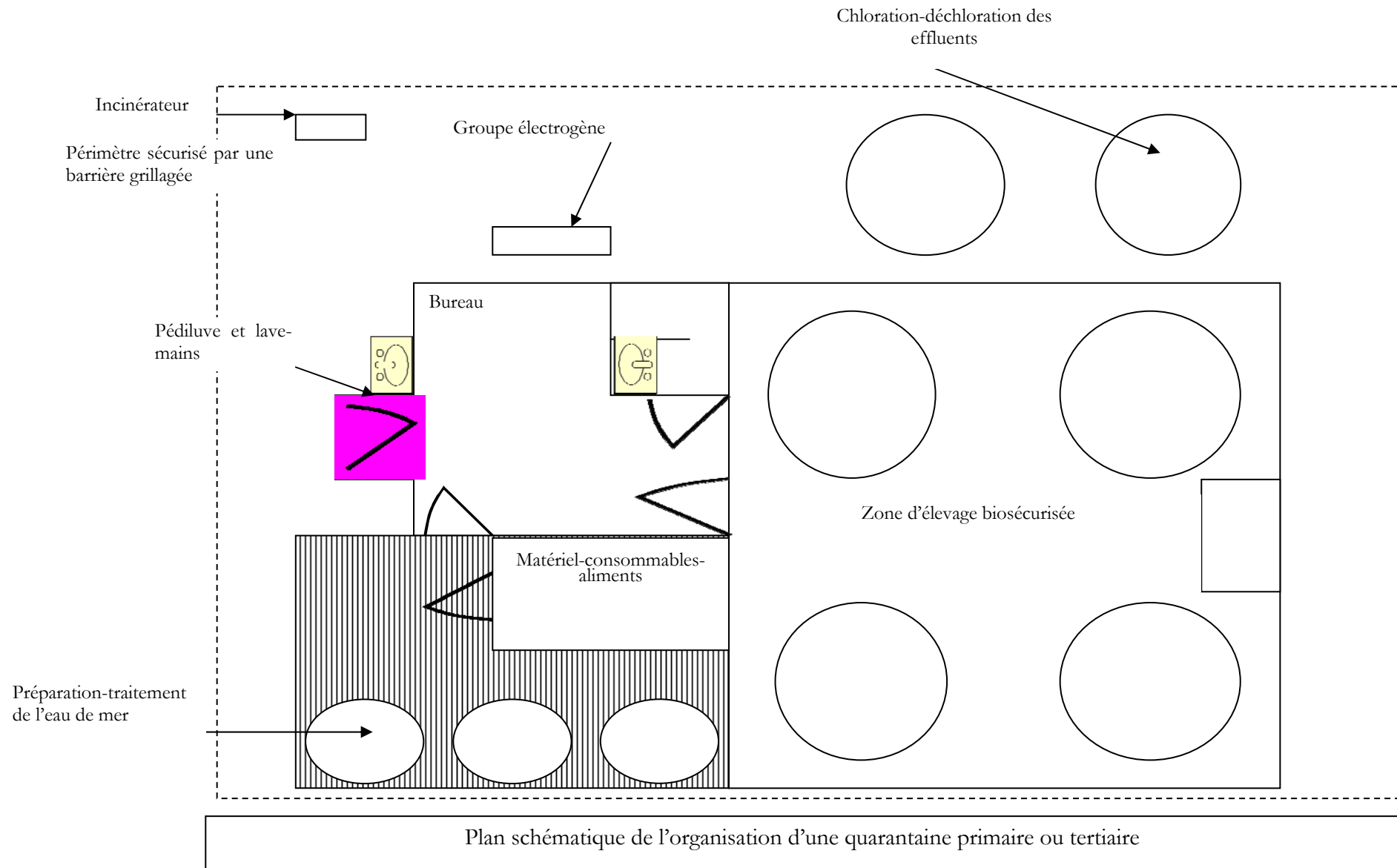
### La quarantaine primaire/tertiaire

Comme il a été dit antérieurement, cette quarantaine est principalement dédiée à l'élevage d'animaux durant la période de diagnostics permettant de vérifier leur statut sanitaire. Elle peut également servir à la désinfection de crevettes avant un transfert vers une zone indemne d'un certain type de pathogène.

Les lots d'animaux transitant par cette quarantaine étant d'une seule espèce et d'une même provenance, il n'est pas nécessaire de partitionner physiquement les installations en plusieurs modules indépendants les uns des autres. Les installations de la quarantaine qui ont été utilisées à Boulouparis pour l'importation des crevettes en provenance de Hawaï sont un exemple de ce que pourrait être une quarantaine 1<sup>ère</sup> ou 3<sup>ème</sup>. Les insuffisances ou améliorations qui avaient été notées alors sont prises en compte dans la proposition.

On retiendra comme éléments essentiels, outre la localisation à l'intérieur des terres :

- la clôture autour du bâtiment
- les cuves de traitement des eaux usées à l'extérieur du bâtiment
- un incinérateur pour les déchets à l'extérieur du bâtiment
- un groupe électrogène à l'extérieur du bâtiment
- une zone de traitement de l'eau de mer naturelle ou de fabrication de l'eau de mer artificielle à l'extérieur du bâtiment sous un auvent mais non accessible directement
- un local de stockage du matériel + sels + aliment sous un auvent mais non accessible directement
- un pédiluve et un lavabo pour la désinfection des personnes et objets à l'extérieur du bâtiment et avant l'entrée dans le bureau/laboratoire qui gère l'accès aux zones de préparation de l'eau de mer et d'élevage



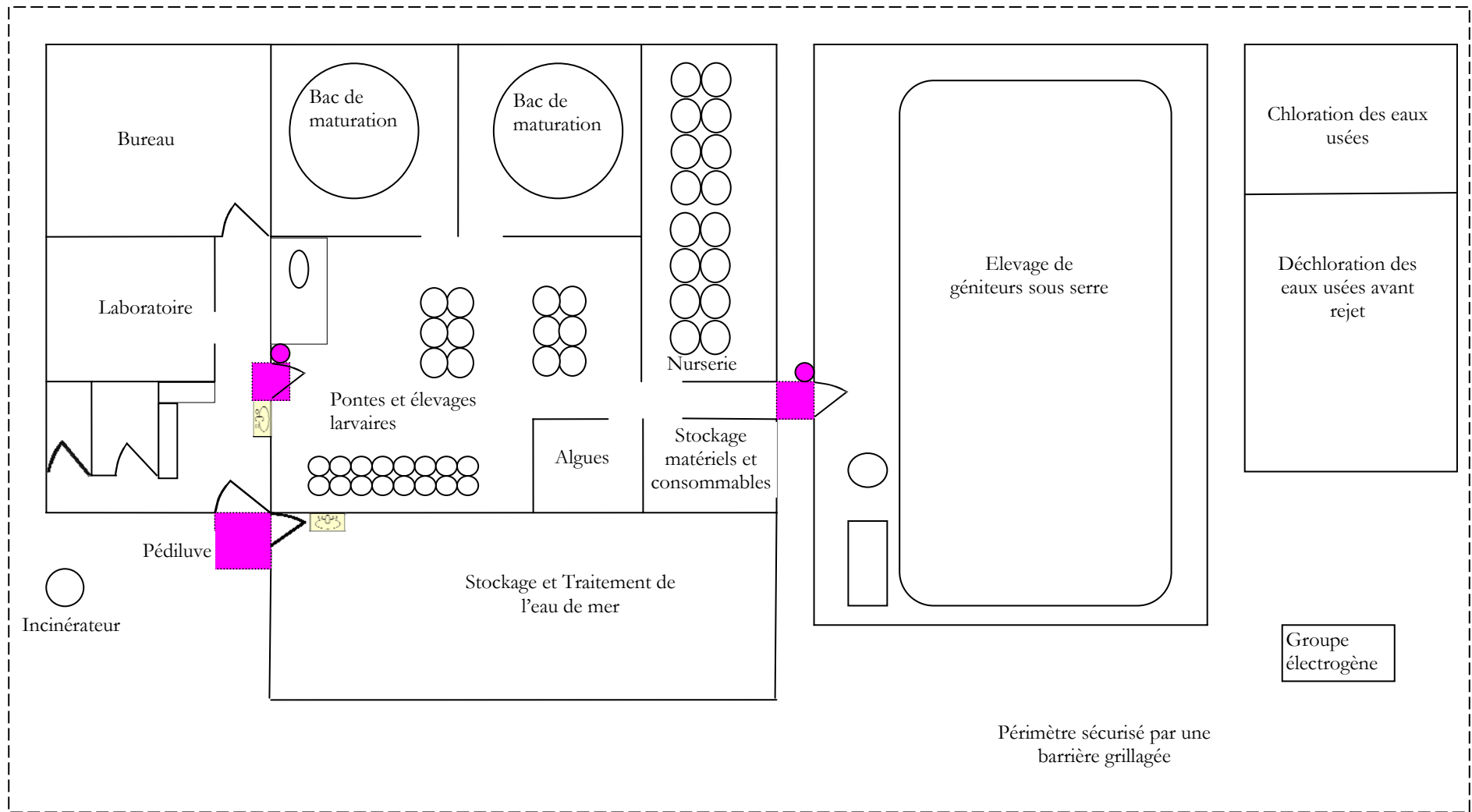
## La quarantaine secondaire

Cette quarantaine est destinée à reproduire les crevettes issues de la quarantaine primaire. Les installations doivent donc permettre de réaliser non seulement l'élevage de géniteurs mais aussi la maturation, les pontes, l'élevage larvaire et la nurserie. Les contrôles sanitaires doivent confirmer que la descendance est indemne de pathogènes avant qu'elle puisse être transférée dans le conservatoire.

Comme pour la quarantaine primaire, un seul lot d'animaux est élevé à la fois dans ces installations. Les installations d'élevage doivent cependant permettre d'élever plusieurs (16) familles, par exemple dans le cas où les animaux en quarantaine sont destinés à initier un programme de sélection génétique, ou tout simplement pour mieux structurer une population. L'espace peut être modulé en fonction du nombre de familles à élever si l'on choisit d'en élever un plus grand nombre.

On retiendra comme éléments essentiels :

- la clôture autour du bâtiment
- les bassins avec « liners » pour le traitement des eaux usées à l'extérieur du bâtiment
- un incinérateur pour les déchets à l'extérieur du bâtiment
- un groupe électrogène à l'extérieur du bâtiment
- un zone de stockage et traitement de l'eau de mer naturelle ou de fabrication de l'eau de mer artificielle à l'extérieur du bâtiment sous un auvent et accessible après passage dans un pédiluve + lavage de mains. Cette zone contient également le stockage des sels si ils sont utilisés
- un pédiluve et un lavabo pour la désinfection des personnes et objets à l'extérieur du bâtiment et avant l'entrée dans le bureau/laboratoire qui gère l'accès aux zones d'élevage. Un vestiaire est prévu afin de pouvoir changer de vêtement avant l'entrée dans la zone d'élevage
- l'accès à la zone d'élevage se fait après passage dans un 2<sup>ème</sup> pédiluve
- la zone d'élevage comprend :
  1. 2 salles de maturation, chacune avec un bac de maturation équipé d'un système de régulation thermique et de recirculation
  2. une salle pour les pondeurs et les bacs d'élevage larvaire
  3. une salle pour les algues
  4. une pièce de stockage de matériel, consommables et aliments
  5. une salle pour la nurserie jusqu'au marquage
  6. un bassin sous serre pour l'élevage des géniteurs équipé de son système de recirculation



Plan schématique de l'organisation d'une quarantaine secondaire avec ses différents composants.

## Le conservatoire

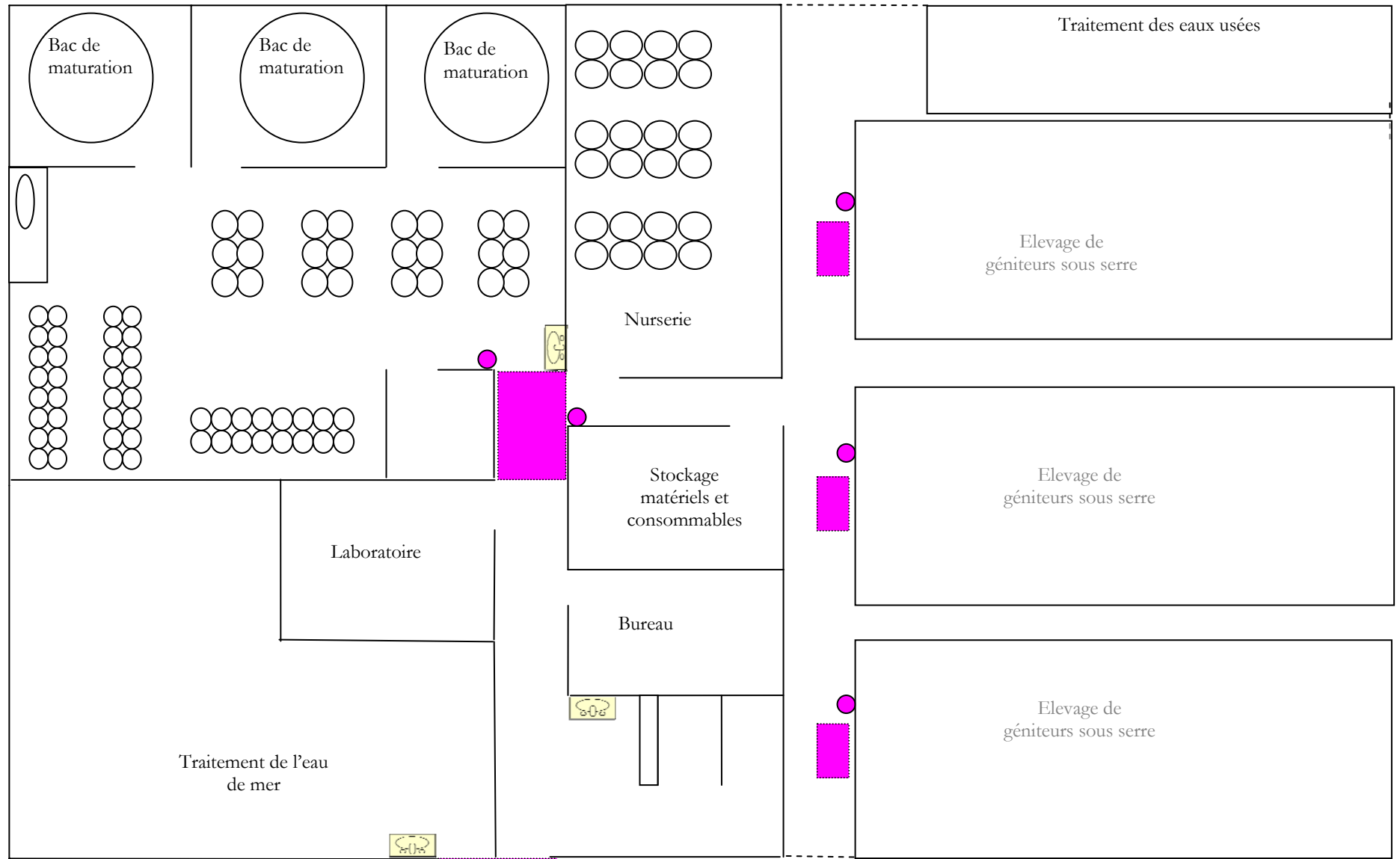
Le conservatoire est destiné à recevoir au moins un lot de crevettes et à le reproduire d'une façon pérenne une fois par an. Si l'on reste dans ce schéma, le conservatoire peut être une copie des installations de la quarantaine secondaire, mais avec une unité réduite pour le seul traitement des eaux usées contenant des produits devant être neutralisés ou éliminés avant leur rejet dans le milieu extérieur.

Pour le cas où plusieurs souches ou espèces ou différents lots d'une même souche seraient élevées dans le conservatoire, les installations devront être agrandies pour les salles de maturation, d'élevage larvaire et nurserie. Chaque espèce, souche ou lot devra également disposer de son propre bassin d'élevage.

Un conservatoire élevant 3 lots distincts de crevettes pourrait être schématisé de la façon suivante (cf. page 28-29), en supposant que les lots ne sont pas reproduits simultanément. Ce schéma ne prend en compte que les fonctionnements de type 1 et 2 du conservatoire (cf. page 24) :

- Type 1 : fonctionnement décentralisé visant à conserver le statut sanitaire des animaux et non pas à fournir des nauplii, Pls ou géniteurs aux fermes et/ou écloséries
- Type 2 : fonctionnement intermédiaire avec en plus du type 1, la fourniture de nauplii ou Pls aux écloséries pour les renouvellements de leurs stocks de géniteurs

Un conservatoire de type 3 qui fournirait des nauplii ou des Pls aux fermes pour la production, devrait se doter d'installations beaucoup plus conséquentes qui seraient fonction de la demande. Cette option n'est pas envisagée dans le présent document. Elle pose en plus des problèmes de logistique de transport car les flux d'animaux sont importants.



Plan schématique de l'organisation d'un conservatoire avec ses différents composants

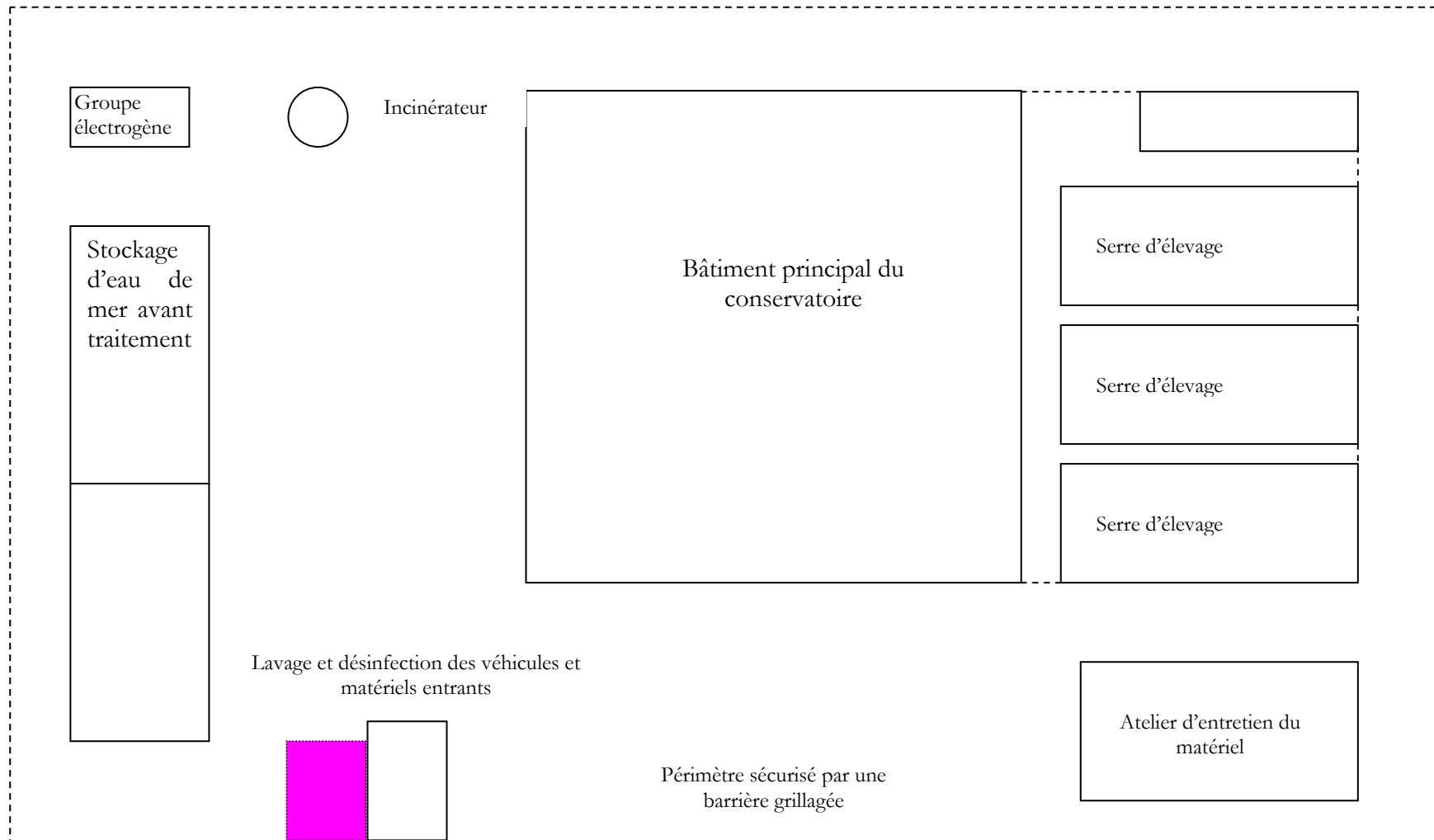


Schéma de distribution des annexes techniques du conservatoire

## Conclusion

Les travaux réalisés pour transformer la quarantaine en conservatoire se sont déroulés sur plusieurs mois tout en maintenant les crevettes en élevage jusqu'à la taille de reproducteurs et en respectant les précautions sanitaires garantissant leur statut "libre de pathogènes". Les essais de reproduction ont permis d'obtenir de nombreuses pontes mais les élevages larvaires ont été limités, principalement à cause de la qualité de l'eau de mer utilisée.

Parmi les principaux enseignements de ces élevages on retiendra les points suivants :

- besoin d'une thermorégulation aussi bien dans les élevages de géniteurs que pour les pontes et les élevages larvaires;
- nécessité de disposer d'une source fiable d'approvisionnement et de transport d'eau de mer de qualité;
- besoin de renforcer la purification de l'eau recirculée, principalement au niveau du traitement antibactérien;
- nécessité de prévoir des espaces de travail et des installations spécifiques à chaque étape du cycle d'élevage : élevage des géniteurs, maturation, ponte, élevage larvaire et prégrossissement;
- faisabilité des élevages en utilisant de l'eau de mer artificielle ou naturelle traitée par chloration;
- importance de la formation du personnel tant pour la maintenance des installations et le suivi des animaux que pour le respect des contraintes imposées par la biosécurité.

L'expérience acquise et une revue bibliographique permettent de proposer les éléments essentiels qui devront être pris en compte pour la définition d'une stratégie de sécurisation des souches de crevettes en Nouvelle-Calédonie et la mise en place de structures biosécurisées permettant d'accompagner le développement de la filière crevette calédonienne. Ces structures, quarantaines et conservatoire, devront s'inscrire dans un plan global d'organisation de la production afin de répondre au mieux aux attentes et contraintes des professionnels. Elles permettront également de développer sur le long terme des plans de sélection génétique indispensables pour améliorer la productivité des élevages.



## Références bibliographiques

- FAO (2003). Health management and biosecurity maintenance in white shrimp (*Penaeus vannamei*) hatcheries in Latin America. FAO Fisheries Technical Paper n° 450, 62pp.
- Gandy R.L., Samocha T.M. (2003). Reproductive performances of Gulf Brown Shrimp in a closed recirculating system. *Hatchery International* 4(2), 28-29.
- Garrett E. S., Jahncke M.L., Martin R. E. (2000). Applications of HACCP principles to address food safety and other issues in aquaculture: an overview. *Journal of Aquatic Food Production Technology* 9, 5-20.
- Goarant C. (2000). Epidémiologie et facteurs de virulence des bactéries du genre *Vibrio* responsables de mortalité de crevettes d'élevage en Nouvelle-Calédonie. Perspectives de lutte. Thèse de doctorat de l'Université de Polynésie Française, 174 pp.
- Goarant C., Ansquer D, Herlin J, Domalain D., Imbert F., De Decker S. (2006). "Summer Syndrome" in *Litopenaeus stylirostris* in New Caledonia: Pathology and epidemiology of the etiological agent, *Vibrio nigripulchritudo*. *Aquaculture*, 253, 105-113.
- Henning O.L., Arce S.M., Moss S.M., Pantoja C.R., Lightner D.V. (2005). Development of a specific pathogen free population of the Chinese fleshy prawn, *Fenneropenaeus chinensis*. Part II. Secondary quarantine. *Aquaculture*, 250, 579-585.
- Jahncke L.L., Browdy C.L., Schwarz M.H., Segars A., Silva J.L., Smith D.C., Stokes A.D. (2001). Preliminary application of hazard analysis critical control points (HACCP) principles as a risk management tool to control exotic viruses at shrimp production and processing facilities. pp 279-284. In Browdy C.L., Jory D.E. editors. The New Wave, Proceedings of the special session on sustainable shrimp culture. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA.
- Lightner D.V. (2003); Exclusion of specific pathogens for disease prevention in a shrimp biosecurity program. pp 81-116. In Lee C.-S. and O'Bryen P.J. editors. Biosecurity in Aquaculture production systems : exclusion of pathogens and other undesirables. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA.
- Lightner D.V., Malher L. (1999). Disease control and quarantine strategies in new caledonian aquaculture. Rapport de mission, Direction de l'Economie Rurale, Gouvernement de la Nouvelle-Calédonie. 51 pp.
- Ogle J.T., Lotz J.M. (2001). A zero exchange maturation system for marine shrimp. pp. 76-83. In Browdy C.L., Jory D.E. editors. The New Wave, Proceedings of the special session on sustainable shrimp culture. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA.
- OIE (2003). Manuel de Diagnostic pour les Animaux Aquatiques. 4<sup>ème</sup> édition. OIE, Paris, France. 358 pp.
- Otoshi C.A., Arce S.M., Moss S.H. (2003). Growth and reproductive performances of broodstockshrimp reared in a biosecure recirculating system versus a flow-through pond. *Aquaculture Engineering* 29, 93-107.
- Pantoja C.R., Song X., Xia L., Gong H., Wilkenfeld J., Noble B., Lightner D.V. (2005). Development of a specific pathogen-free (SPF) population of the Chinese fleshy prawn, *Fenneropenaeus chinensis*. Part I. Disease pre-screening and primary quarantine. *Aquaculture*, 250, 573-578.

- Saulnier D., Avarre J.-C., Le Moullac G., Ansquer D., Levy P., Vonau V. (2000). Rapid and sensitive PCR detection of *Vibrio penaeicida*, the putative etiological agent of Syndrome 93 in New Caledonia. *Dis. Aquat. Org.* 40, 109–115.
- Subasinghe R. P., Bondad-Reantoso M. G. (2006). Biosecurity in aquaculture : international agreements and instruments, their compliance, prospects and challenges for developing countries. pp 9-16. *In Scarfe A. D., Lee C.-S. and O’Byren P. J. editors. Aquaculture biosecurity : prevention, control and eradication of aquatic animal disease. Blackwell Publishing Ltd, Iowa, USA.*
- Timmons M.B., Ebeling J.M., Wheaton F.W., Summerfelt S.T., Vinci B.J. (2001). Recirculating aquaculture systems. Cayuga Aqua Ventures, Ithaca, NY, USA, 650 pp.
- Weirich C.R., Segars A., Bruce J.F., Browdy C.L. (2003). Development and implementation of biosecurity protocols and procedures at the Waddell Mariculture Center. pp 139-156. *In Lee C.-S. and O’Byren P.J. editors. Biosecurity in Aquaculture production systems : exclusion of pathogens and other undesirables. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA.*
- Weppe M., Bonami J.R., Lightner D.V., Aquacop (1993). Demostracion de las altas cualidades de la cepa de *Penaens stylirostris* (AQUACOP SPR 43) resistente al virus IHHN. pp 229-232. *In Escuela Superior Politecnica del Litoral (ed.), Memorias del 1<sup>er</sup> congreso ecuatoriano de acuicultura, Guayaquil, Ecuador.*
- Wyban J.A., Swingle J.S., Sweeney J.L., Pruder G.D. (1992). Development and performance of high healthshrimp using specific pathogen free (SPF) broodstock *Penaens vannamei*. pp 254-260. *in J.A. Wyban editor. Proceedings of the special session on shrimp farming. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA.*

## Annexe 1

### *Procédures pour le traitement de l'eau de mer brute :*

Remplissage des 2 cuves à partir du camion citerne grâce à une pompe et à un tuyau flexible.

Une jauge externe permet de lire le volume d'eau à traiter.

Ajout de chlore : 170 g/m<sup>3</sup> d' Hypochlorite de Calcium à 70% (120 ppm) préalablement dissous dans un seau et réparti entre les 2 cuves. Cette dose permet d'avoir environ 20 mg de chlore résiduel présent dans l'eau cuve après au moins deux heures de temps de contact.

Mise en route de la pompe qui recircule l'eau chlorée en passant au travers du filtre cartouche. L'eau est pompée au niveau du fond de la cuve 2 et rejetée dans la cuve 1, les deux cuves étant reliées entre elles au niveau du fond.

12 heures (ou plus) après la chloration, la vanne 3 voies permet de faire passer l'eau dans l'écumeur. Une partie du flux peut continuer à passer par le filtre à cartouche si l'eau n'est pas assez limpide.

Ajout de thiosulfate de sodium pour neutraliser le chlore actif restant. Ne disposant pas de moyen de quantification du chlore, une dose de « sécurité » est utilisée : 170g/m<sup>3</sup> (normalement il faudrait 2,85g /g de chlore actif, soit 342g/m<sup>3</sup> pour neutraliser le chlore initialement mis ; cependant, avec le temps, la recirculation, la matière organique puis le passage dans l'écumeur, la concentration en chlore actif diminue énormément et ne justifie pas l'emploi de doses trop fortes de thiosulfate).

Deux heures après l'addition de thiosulfate, le tuyau permettant d'envoyer l'eau dans la cuve d'eau traitée est connecté au système. Le débit est limité à 6-8 l/mm, débit recommandé pour le passage de l'eau au travers du filtre au charbon actif.

L'eau dans la cuve de stockage est à son tour traitée avec de l'EDTA (5ppm) et une solution commerciale pour l'élimination de chloramines ou autres résidus éventuels résultant de la chloration de l'eau de mer.

Une pompe permet de recirculer l'eau à l'intérieur de la cuve mais aussi d'alimenter les bacs d'élevage à l'intérieur du conservatoire.

Système centralisé de traitement de l'eau de mer avec filtre de 100 microns, filtre au charbon actif et écumeur

