

**LABORATOIRE C. S. R. U.**

**LA ROCHELLE - LA TREMBLADE**

**ESSAI DE DECONTAMINATION A L'ECHELLE PROFESSIONNELLE  
DE MOULES RENDUES TOXIQUES PAR LE PHYTOPLANCTON**

**D. MASSON - G. RATISKOL - T. BURGEOT - S. MARGAT**

**MARS 1990.**



## **ESSAI DE DECONTAMINATION A L'ECHELLE PROFESSIONNELLE DE MOULES RENDUES TOXIQUES PAR LE PHYTOPLANCTON**

**D. MASSON - G. RATISKOL - T. BURGEOT - S. MARGAT**

### **INTRODUCTION :**

Les secteurs conchylicoles atteints par les efflorescences phytoplanctoniques toxiques sont fermés par l'Administration dès que le taux de contamination devient dangereux pour la consommation humaine. Cette fermeture peut durer plusieurs mois empêchant les conchyliculteurs de commercialiser leurs produits, ce qui a des conséquences économiques parfois graves. Il n'existe jusqu'à présent aucune possibilité technique de décontaminer ces coquillages en grande quantité et dans des délais économiquement viables.

L'étude entreprise visait à mettre au point une technique permettant aux professionnels de décontaminer des coquillages rapidement (quinze jours ou moins) en milieu contrôlé (bassins).

L'hypothèse testée était que des coquillages placés dans un milieu suroxygéné et enrichi en phytoplancton devraient métaboliser plus rapidement les toxines qu'en milieu naturel.

## METHODOLOGIE :

### 1 - Origine des coquillages :

600 Kgs de moules élevées sur des filières en mer face à la sortie de l'Etang de Thau, cette zone étant fermée pour contamination au Dinophysis .

Tests souris effectués sur les moules :

- le 12 Juin 1989 : 3 unités souris
- le 19 Juin 1989 : 5 unités souris

### 2 - Traitements :

Six bassins sont utilisés dont quatre contenant chacun 1/4 du lot de moules.

**Bassin 1 :** (50 m<sup>3</sup>) création d'un bloom phytoplanctonique sans adjonction de souche qui servira à nourrir les coquillages des bassins 4 et 6.

**Bassin 2 :** (50 m<sup>3</sup>) réserve d'eau décantée

**Bassin 3 :** (15 m<sup>3</sup>) contenant le lot témoin (sans adjonction de nourriture ni d'oxygène).

**Bassin 4 :** (15 m<sup>3</sup>) oxygénation forcée.

**Bassin 5 :** (15 m<sup>3</sup>) adjonction de phytoplancton pour sur alimentation.

**Bassin 6 :** (15 m<sup>3</sup>) sur alimentation et oxygénation forcée.

### 3 - Mode d'oxygénation :

Par pompe immergée : pompage à une extrémité du bassin et rejet à hauteur des coquillages par l'intermédiaire d'un tuyau PVC de plus fort diamètre, créant un appel d'air et donc des microbulles (système Venturi).

#### 4 - Création du bloom phytoplanctonique :

De façon à opérer dans des conditions réalisables par des professionnels, ne disposant pas de souches phytoplanctoniques pour ensemencement, l'intervention s'est limitée à un simple apport de sels minéraux dans l'eau pompée en Seudre.

Cette opération a été effectuée le 19 Juin 1989 dans l'après midi, avec 1000 cc d'engrais 18.46 (18 % Azote Ammoniacal, 46 % anhydride phosphorique).

Un prélèvement d'un litre d'eau a été fait tous les jours à 8 h, afin d'opérer un comptage (voir tableau résultats, annexe 3).

- **Paramètres mesurés :** (voir fiches de prélèvements Journaliers à l'annexe 1 et résultats à l'annexe 2)

\* Température de l'eau :

Par thermomètre enregistreur dans le bassin témoin N°3

Par thermomètre dans les autres bassins à 8 H, 12H et 18H.

\* Salinité de l'eau :

Par prélèvement à 18 H lors du renouvellement complet de l'ensemble des bassins de décontamination (analyse par mémotitrateur au laboratoire).

\* Taux d'oxygène dissous :

Dans l'ensemble des bassins par oxymètre à 8 H - 12 H et 18 H (en continu dans le bassin témoin 3) (analyse en laboratoire par mémotitrateur).

\* Chlorophylle :

Prélèvement tous les jours à 8 H (50 cc) dans les bassins 1 - 3 - 4 - 5 et 6. (extraction à l'acétone et dosage par spectrophotométrie).

\* Charge phytoplanctonique du bassin de bloom :

Tous les matins à 8 H, prélèvement d'un litre d'eau, comptage sur cuve à sédimentation de 10 cc après fixation au lugol et formol, et décantation de 6 H minimum.

\* Coquillages en décontamination :

- Prélèvement d'un Kg de moules (dans tous les bassins) tous les trois jours et sur le lot à l'arrivée, pour test DSP sur souris.
- <sup>m</sup>Émuciation et prélèvement de 30 g d'hépatopancreas (sur place).
- Extraction de la toxine, injection aux souris, mesure du temps de survie (laboratoire de La Rochelle).

**RESULTATS :**

***Evolution des paramètres physico-chimiques :***

- Température : elle reste très forte, située entre 22°C et 27,8°C; ceci explique en partie la faible survie des coquillages (voir plus bas).
- Oxygène dissous : son taux est satisfaisant dans le bassin 1, quasi nul dans les bassins 3 et 5.
- Salinité : elle reste stable entre 33 et 35 %.

***Chlorophylle :***

Sous forme de traces en début d'étude, son taux important dans le bassin de "bloom" correspond aux comptages phytoplanctoniques effectués sur cuve.

### **Comptage "bloom":**

La température élevée de l'eau et l'apport de sel nutritif a conduit indirectement à une prolifération de tintinidés (protozoaires), de dinoflagellés (non toxiques) puis à la création d'un bloom de *Nitzschia* au bout de sept jours ( $25.10^5$  cellules/litre).

### **Tests souris : (V. fig. I et II, et tableaux I à IV)**

Une décontamination faible est observée entre le 15 et le 19 Juin (J + 1 à J + 5), mais s'amplifie très nettement entre le 19 et 25 Juin (J + 5 à J + 11).

Du fait de l'hétérogénéité des lots regroupés dans le bassin 2 dès le 25 Juin, la décontamination stagne jusqu'à la fin de l'étude (J + 18).

La décontamination moyenne (tous bassins confondus) confirme cette tendance. Dix jours ont permis une diminution du nombre d'unités souris de 3,8 à 1,72, ce taux restant supérieur aux normes admissibles fixées (0,5 unités souris).

### **DISCUSSION :**

La conduite de cette étude a été sérieusement perturbée par la survie des coquillages en bassin. La forte température de l'eau, la basse salinité observée et le manque d'oxygénation de l'ensemble des bassins ont débouché sur une perte d'environ 30 à 40 % des coquillages.

L'origine des moules a également joué : celle-ci provenaient de filières en mer Méditerranée, non habituées à une émergence prolongée, et non lavées, la vase dont elles étaient recouvertes n'ayant été éliminée qu'en partie, pour éviter de fatiguer les animaux en les dégrappant.

L'ensemble des moules a donc été transféré dans le bassin n° 2; dès le 21 Juin. Une oxygénation intensive (quinze minutes par heure, puis en continu du 24 au 26 Juin) et une alimentation avec l'eau chargée en phytoplancton ont permis de poursuivre cette étude, dans des conditions moins favorables toutefois.

La prolifération du phytoplancton escomptée dans le bassin n° 1 ne s'est réalisée qu'en fin d'étude. Le choix de départ (pas d'apport de souches de cultures) a sérieusement ralenti l'apparition d'un "bloom".

Les résultats positifs de cette étude sont :

- une confirmation des études qui tendent à montrer une diminution de la contamination d'autant plus rapide que cette dernière est élevée au départ.

- une mise au point des tests souris effectués à différentes concentrations afin d'amener le temps de survie, au plus proche de 24 H (harmonisation des méthodes en vue de meilleures corrélations des résultats obtenus par les autres laboratoires).

Les enseignements à tirer pour les études suivantes sont :

- une amélioration des systèmes d'oxygénation
- la mise en route du bloom phytoplanctonique doit être envisagée plusieurs jours avant le départ de l'étude. L'ensemencement par souches reste à étudier pour fournir éventuellement des recettes simples aux professionnels.

- un test de comportement de bloom avec oxygénation et apport de sels nutritifs s'avérera sans doute nécessaire.

- une estimation de la vitesse de consommation du phytoplancton par les coquillages permettrait d'évaluer les fréquences et les qualités de phytoplancton nécessaires à une suralimentation des coquillages.

- il est indispensable d'assurer une oxygénation minimale, dans les bassins qui ne sont pas suroxygénés afin d'éviter les pertes. En effet, les moules mortes induisent beaucoup plus facilement que les huîtres la perte de leurs voisins.

- une étude bibliographique poussée des conditions optimales d'obtention de "bloom" phytoplanctonique devrait conduire à l'élaboration d'une fiche technique pour les professionnels si ce mode de décontamination se révèle utilisable.

## CONCLUSION :

Cette brève expérimentation ne constituait de toute manière qu'une première tentative de travailler à la décontamination à l'échelle professionnelle.

La décontamination rapide observée au début corrobore les résultats d'études similaires et milite en faveur de la suroxygénation et peut être de la suralimentation. L'étude est donc à reprendre dans des conditions plus favorables et avec des coquillages plus résistants en bassins (moules de la façade Atlantique).

## Travaux similaires :

- *Cinétiques de décontamination en milieu contrôlé de moules toxiques (DSP). Premiers résultats (BARDOUIL, MASSELIN, BOHEC DERO, 89-02 MR)*

- *Toxicité des moules étude de la décontamination PSD et DSP in vitro et in situ 1986. (P. LASSUS et J.P. BERTHOME).*



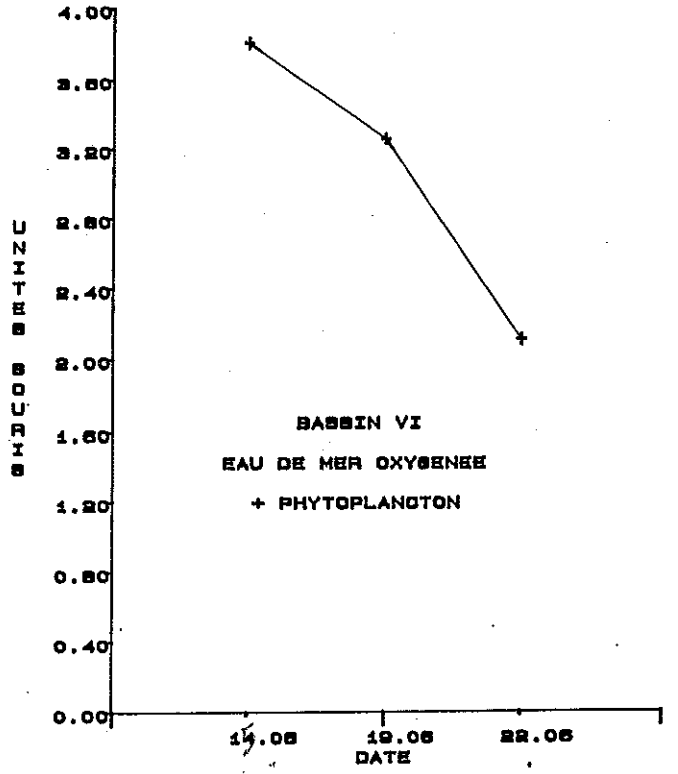
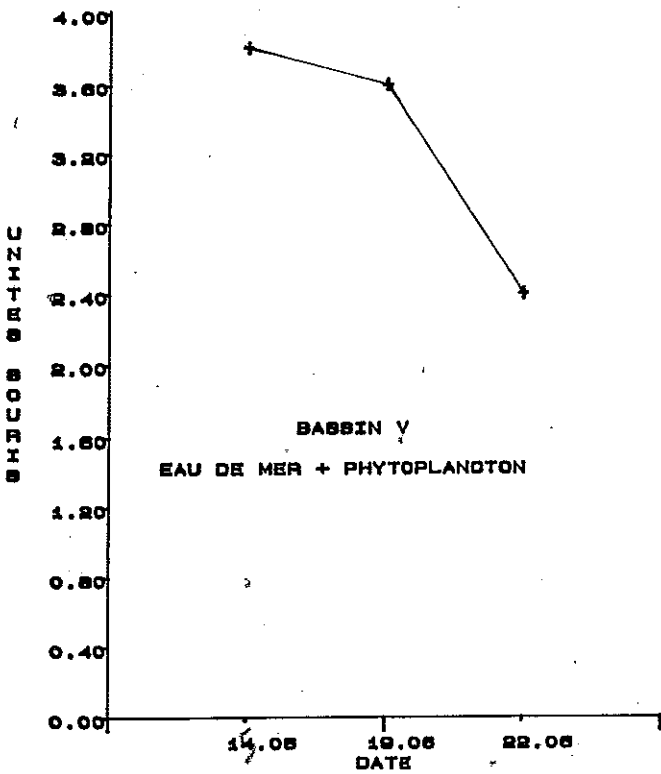
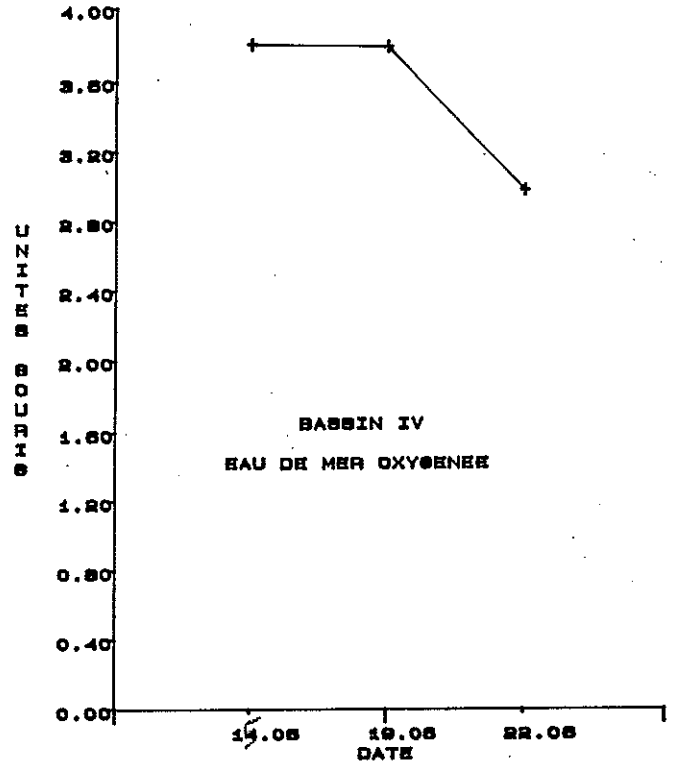
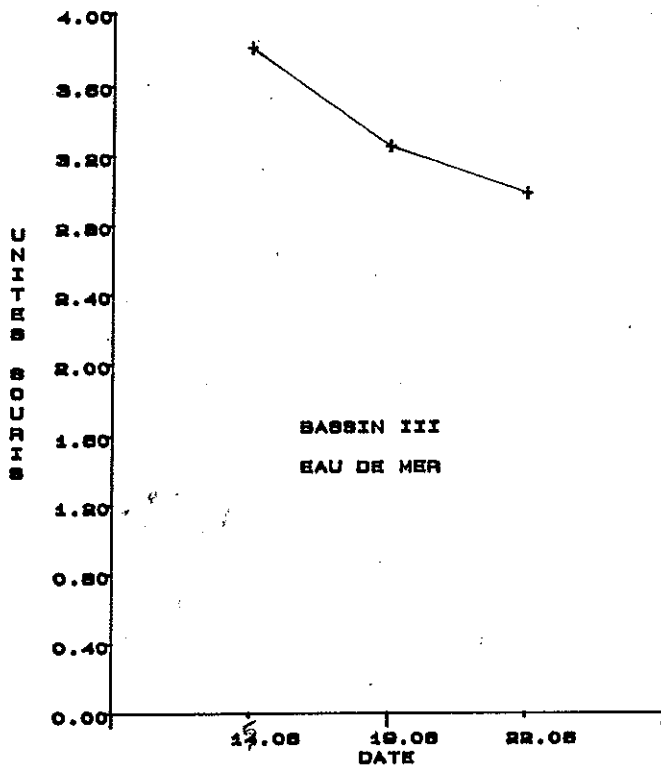
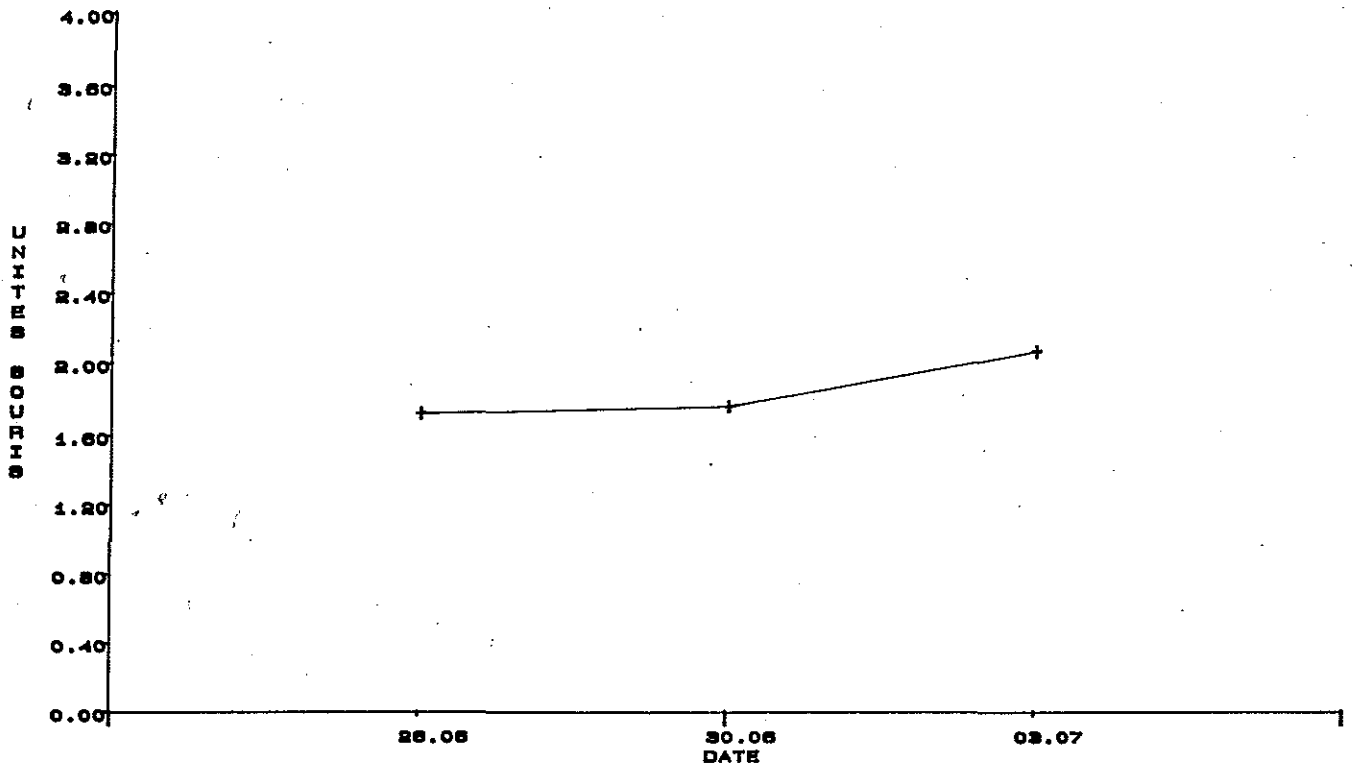


FIGURE 1

LOTS MELANGES DANS BASSIN UNIQUE



DECONTAMINATION MOYENNE

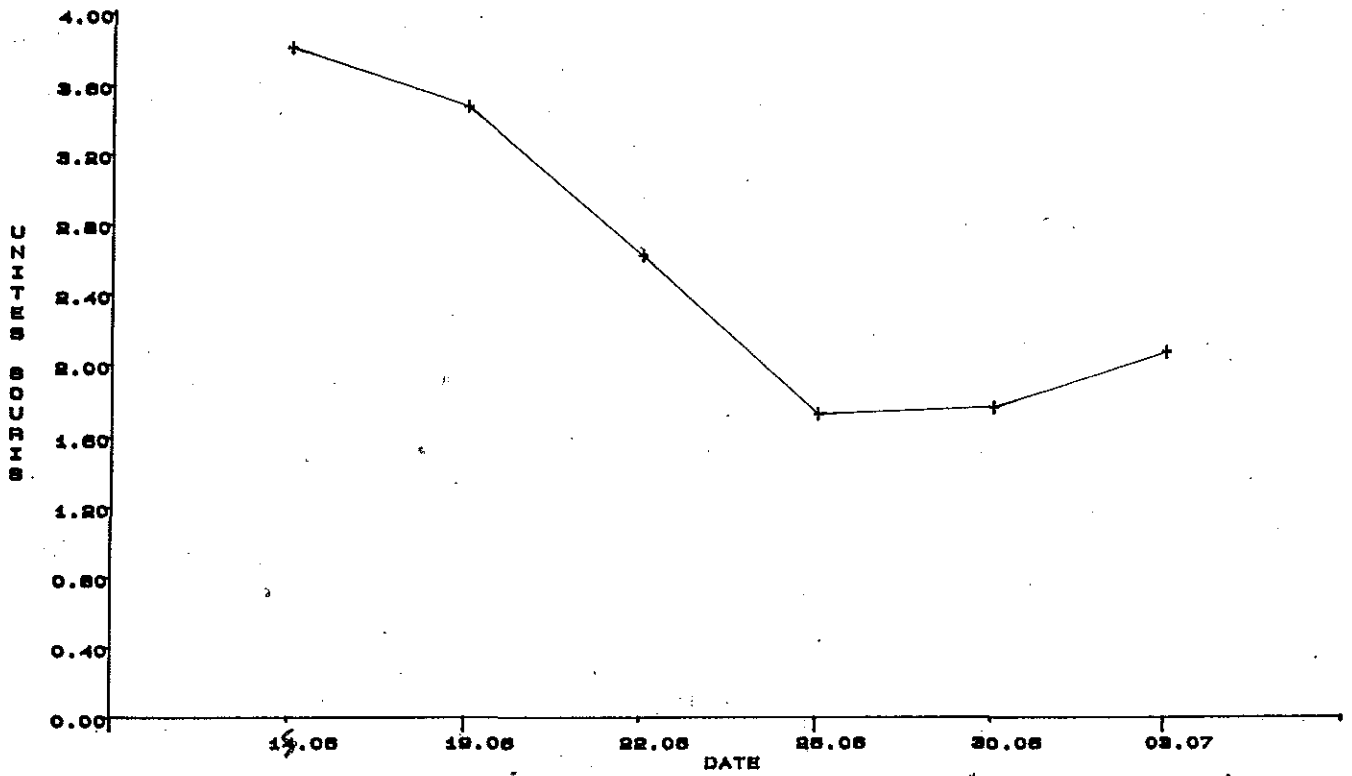


FIGURE A

Lieu prélèvement	Date prélt.	Date Analyse	Poids Hp extrait g	Concentration Hp [g/ml tween injectée	Poids souris g	Heure piqûre	Heure létale	Temps Survie en H	Temps Survie Corrigé en mn TS Moyen x FC x d	Bilan	Unité Souris (U.S)
Lot de référence	15/06	16/06	60	[2,5]	20,2	11H42	12H48	1H06	81'x1x0,5 = 40,5'	+	4,06
					20,5	11H41	12H36	0H55			
					19,7	11H40	12H22	0H42			
Bassin 3 à To	"	16/06	"	[1,25]	22,4	12H41	14H21	1H40	140'x0,88x $\frac{1}{4}$ = 30,8'	+	4,76
					22,8	12H42	15H01	2H19			
					22,2	12H44	19H10	6H21			
"	"	16/06	"	[0,8]	23,4	12H50	15H48	2H58	299'x0,9x $\frac{1}{6}$ = 44,85'	+	<u>3,81</u>
					19	11H48	16H15	4H24			
					20,5	11H49	17H00	5H11			
"	"	16/06	"	[0,6]	19,6	11H47	21H00	9H13	384,4x1x $\frac{1}{8}$ = 48,05'	+	3,67
					20,5	14H35	-	-			
					21	14H36	-	-			
"	"	16/06	"	[0,4]	20,5	16H08	-	-	-	-	-
					20,1	16H09	-	-			
					20,1	16H09	-	-			
"	"	20/06	"	[0,5]	20,3	15H44	20H45	4H59	340'x1x $\frac{1}{10}$ = 34	+	4,37
					19,9	15H45	22H20	6H40			
					19,6	15H46	21H05	5H19			
"	15/06	21/06	"	[0,416]	21,3	9H45	23H00	13H15	740x0,96x $\frac{1}{12}$ = 59,2	+	3,25
					20	9H46	20H20	10H34			
					21,5	9H46	1H00	15H14			
"	"	21/06	"	[0,31]	19,3	12H16	-	-	-	-	-
					20,4	12H17	-	-			
"	"	5/07	"	[0,37]	22,5	10H19	-	-	-	-	-
					22,2	10H21	-	-	-	-	-

\* TS = Temps de survie \* FC : Facteur correction pondérale \* d : dilution

TABLEAU 1

TABLEAU 2

Lieu prélèvement	Date prélt.	Date Analyse	Poids Hp extrait g	Concentration Hp [g/ml] [ Tween injectée	Poids souris g	Heure piqûre	Heure létale	Temps Survie en H	Temps Survie -Corrigé en mn TS Moyen x FC x d	Bilan	Unité Souris (U.S)		
BASSIN n° 3	19/06	20/06	30	[1,25]	18,8	12H04	14H48	152'	117 117'x1,06x 4	1 = 31'	+	4,76	
					18,7	12H05	13H21	76'					
					19	12H04	14H10	124'					
	19/06	"	"	"	[0,6]	20,6	14H40	21H00	6H20	484'x1x 8	1 = 60,5	+	3,25
						20	14H41	21H30	6H49				
						19,6	14H41	2H00	11H19				
	"	21/06	"	"	[0,416]	21,6	9H49	-	-	-	-	-	-
						21,9	9H50	10H00	+				
						22,1	10H30	-	-				
	"	21/06	"	"	[0,31]	21,2	10H31	-	-	-	-	-	-
						21,2	14H39	-	-				
						22,3	14H38	-	-				
	"	22/06	"	"	[0,35]	21,6	14H39	-	-	-	-	-	-
						20,3	10H02	-	-				
						20,1	10H00	-	-				
	"	28/06	"	"	[0,37]	20,7	10H01	-	-	-	-	-	-
						22,3	10H24	-	-				
						21,7	10H23	2H00	+				
"	5/07	"	"	[0,4]	22,3	10H24	-	-	-	-	-	-	
					21,7	10H23	2H00	+					
					19,7	10H12	19H00	8H48					808,6'x1,02x 12
20,5	10H11	2H00	15H49										
18,3	10H11	2H00	15H49										
"	28/06	"	"	[0,37]	19,7	9H40	-	-	-	-	-	-	
					22,9	9H39	-	-					
					19,7	9H41	-	-					
"	5/07	"	"	[0,5]	22	10H28	-	-	-	-	-	-	
					21,3	10H29	-	-					

Lieu prélèvement	Date prélt.	Date Analyse	Poids Hp extrait g	Concentration Hp [g/ml Tween] injectée	Poids souris g	Heure piqûre	Heure létale	Temps Survie en H	Temps Survie Corrigé en mn TS Moyen x FC x d	Bilan	Unité Souris (U.S)	
BASSIN n°4	19/06	22/06	30	[0,35]	21,9	14H42	-	-	-	-	-	
					20,5	14H42	-	-				
					21,1	14H43	2H00	-				
	"	28/06	"	[0,45]	19,1	10H04	2H00	-	-	-	-	-
					21	10H04	-	-				
	"	5/07	"	[0,6]	23	10H26	2H00	-	-	-	-	-
					22,9	10H25	-	-				
	19/06	11/07	"	[0,85]	21,4	11H53	14H30	2H37	307'x0,9x 6	1 = 46'05	+	3,8
					2,8	11H53	18H50	6H57				
	22/06	26/06	"	[0,416]	22,6	10H14	-	-	-	-	-	-
					19,7	10H15	-	-				
					18,5	10H15	-	-				
	"	28/06	"	[0,45]	20	9H50	-	-	-	-	-	-
					21,3	9H45	-	-				
					19,4	9H44	-	-				
"	5/07	"	[0,6]	21,9	10H51	-	-	-	-	-	-	
				20,7	10H51	-	-					
22/06	24/07	"	[1,25]	27,5	10H50	13H40	2H50	355x0,81x 4	1 = 72	+	2,99	
				24,8	10H50	19H30	8H20					

TABLEAU 3

Lieu prélèvement	Date prélt.	Date Analyse	Poids Hp extrait g	Concentration Hp [g/ml [ Tween ] injectée	Poids souris g	Heure piqûre	Heure létale	Temps Survie en H	Temps Survie Corrigé en mn TS·Moyen x FC x d	Bilan	Unité Souris (U.S)
BASSIN N°5	19/06	22/06	30	[0,35]	21,1	14H45	10H45	20H00	-	+	-
					20	14H46	-	-			
					20,5	14H46	-	-			
	19/06	28/06	"	[0,45]	21,7	10H06	-	-	-	-	-
					20,7	10H06	-	-			
	19/06	11/07	"	[0,55]	22,6	11H57	-	-	-	-	-
					22,7	11H57	-	-			
	19/06	21/07		[1,25]	19	11H40	14H20	2H40	195x1,03x $\frac{1}{4} = 50,2$	-	3,59
	20	11H40	15H35	3H55							
	22/06	26/06	30	[0,416]	19,7	10H19	-	-	15H42	1217'x1,02x $\frac{1}{12} = 103,45$	-
20,5					10H18	2H00	24H12				
	28/06	"	[0,45]	18,3	10H18	10H30	(27/6)				
18,6				9H53	-	-					
21,5				9H52	-	-					
					21,4	9H53	-	-			

TABLEAU 4

Lieu prélèvement	Date prélt.	Date Analyse	Poids Hp extrait g	Concentration Hp [g/ml [ tween ] injectée	Poids souris g	Heure piqûre	Heure létale	Temps Survie en H	Temps Survie Corrigé en mn TS Moyen x FC x d	Bilan	Unité Souris (U.S)
BASSIN N°6	19/06	22/06	30	[0,35]	20,4	14H48	11H15	20H22	-	+	-
					16,2	14H49			-	-	
		11/07	"	[0,55]	21,5	12H00	-	-	-	-	-
					20,8	12H00	-	-	-	-	-
	19/06	21/07	"	[1,25]	23	11H35	14H26	2H51	$257 \times 0,94 \times \frac{1}{4} = 60$		<u>3,25</u>
					20	11H36	17H00	5H34			
	22/06	26/06	"	[0,416]	19,6	10H23	2H00	15H37	$936 \times 1,03 \times \frac{1}{12} = 80,34$	+	278
					18,3	10H25	2H00	15H35			
					20,5	10H24	-	-			
	"	28/06	"	[0,45]	20,7	9H56	-	-	-	-	-
				21	9H55	-	-	-	-	-	
				21,5	9H56	-	-	-	-	-	
22/06	11/07		[0,85]	22,7	12H02	2H00	13H58	$840' \times 0,88 \times \frac{1}{5,88} = 127,7$	+	<u>2,12</u>	
				23,2	12H02	2H00	13H58				

TABLEAU 5

Lieu prélèvement	Date prélt.	Date Analyse	Poids Hp extrait g	Concentration Hp [g/ml tween] injectée	Poids souris g	Heure piqûre	Heure létale	Temps Survie en H	Temps Survie Corrigé en mn TS Moyen x FC x d	Bilan	Unité Souris (U.S)
BASSIN	26/06	29/06	30	[1,25]	23	11H29	2H00	14H31	$766,48 \times 0,88 \times \frac{1}{4} = 191,6$	+	<u>1,72</u>
					22,7	11H29	2H00	14H31		+	
UNIQUE	"	"	"	[0,8]	23,3	11H31	-	-	-	-	-
					23,4	11H31	2H00	+		+	
"	"	"	"	[0,6]	23,2	11H33	-	-	-	-	-
"	"	"	"	[0,6]	22,6	11H32	-	-	-	-	-
	26/06	5/07	"	[0,9]	21,1	10H54	2H00	15H06	$842,5 \times 0,91 \times \frac{1}{5,55} = 151,81$	+	3,41
					21,9	10H54	2H00	15H06		+	
	30/06	5/07	"	[1]	20,6	10H10	2H00	950	$950 \times 0,95 \times \frac{1}{5} = 180,5$	+	<u>1,77</u>
					20,5	10H11	2H00	949		+	
	3/07	5/07	"	[1]	22	10H15	-	-	-	-	-
	"	11/07	"	[1,5]	21,4	10H16	-	-	-	-	-
	"	11/07	"	[1,5]	22,3	11H45	13H40	1H55	$195' \times 0,91 \times \frac{1}{3,33} = 53,3$	+	3,41
					21,9	11H45	15H42	3H58		+	
	3/07	17/07	"	[1,25]	26,9	9H32	2H00	16H28	$665' \times 0,81 \times \frac{1}{4} = 134,66$	+	<u>2,08</u>
					26,4	9H33	15H15	5H43		+	

TABLEAU 6



## DECONTAMINATION DINOPHYSIS

DATE :

	bassin	8 H	12 H	18 H
Température	1			
	2			
	3			
	4			
	5			
	6			
Salinité eau renouvelée	/	/	/	.
Oxygène	1			
	2			
	3			
	4			
	5			
	6			

**PRELEVEMENTS :**

- chlorophylle : tous les jours à 8H (50 cc) dans les bassins 2 - 3 - 4 - 5
- phytoplancton : tous les jours à 8H (1 litre) dans bassin 1
- moules : 1 kg les : 15 19 - 22 - 26 - 30/06 et 3/07 dans bassins 2 - 3 - 4 - 5 - 6

ANNEXE N° 1

## ANNEXE 2

date	bassin heure	TEMPERATURE (°C)						OXYGENE (ml)					
		B1	B2	B3	B4	B5	B6	B1	B2	B3	B4	B5	B6
18-Juin	18h	25.2			21.6	21.5	21.4	6.2		6.0	6.1	6.2	6.2
19-Juin	8h	22.0		21.2	20.5	20.2	21.2	4.1		0.0	3.9	0.0	3.0
	12h			23.0						1.3			
	18h	26.0		25.0	26.0	25.0	25.0	5.1		5.5	0.0	0.3	3.4
20-Juin	8h	23.5		22.0	22.0	22.0	22.0	4.2		1.0	4.4	1.7	5.7
	12h			24.5						1.2			
	18h			25.0					7.0	6.0			
21-Juin	8h		24.0					2.2	0.0				
	12h		24.5					4.6	4.5				
	18h		27.0						2.6				
22-Juin	8h		22.6						1.8				
	12h		22.6						4.0				
	18h		25.5						3.8				
23-Juin	8h	22.9	22.0					3.9	4.0				
	12h		22.0						4.4				
	18h		24.5						3.6				
24-Juin	14h		25.6						6.2				
	19h	27.7	25.9					4.8	3.5				
25-Juin	8h		22.5						3.2				
	18h	27.8	26.8					6.2	4.1				
26-Juin	8h								3.8				
	12h	25.0	22.8					3.4	4.9				
27-Juin	8h								3.4				
	12h	24.1	22.6					8.2	5.5				
28-Juin	8h								4.2				
	13h	21.2	20.7					5.9	5.4				
29-Juin	8h								3.8				
	12h								4.2				
30-Juin	8h								3.2				
	14h	21.3	20.8					5.4	4.8				
1-Juillet	8h								3.2				
	12h								4.3				
2-Juillet	8h								2.6				
	18h	23.5	22.7					6.2	5.8				
3-Juillet	8h								4.2				
	12h								5.4				
4-Juillet	8h												
	12h								4.6				

RELEVES PARAMETRES PHYSICO CHIMIQUES

COMPTAGES DANS BASSIN 1 (BLOOM) en cellules/litre

groupe	date	19/06	20/06	23/06	26/06	29/06
Diatomées		1 500	4 100	1 200	25 10 <sup>5</sup>	20 10 <sup>4</sup>
	-Mélosira				-Nitzschia	idem
	-Chaétocéros		idem	idem		
	-Nitzschia					
Dinoflagellés		9 000	2 000	1 500	18 10 <sup>5</sup>	3 10 <sup>4</sup>
	-Scripsiella					
	-Protopéri- dium sp		idem	idem	idem	idem
	-Prorocentrum micans					
Autres		10 500	10 700	140 000	0	0
	-Tintinides		idem	idem		

Annexe n°3