

direction de l'environnement et de l'aménagement littoral

Jean-Claude Le Saux, Monique Pommepuy



ifremer

La purification des coquillages

publié dans

Risques sanitaires liés aux coquillages
Dossier S.I.A - pour le F.C.D., Janvier 2003

<http://www.ifremer.fr/envlit/documentation/documents.htm>



La purification des coquillages

Jean Claude Le Saux et Monique Pommepuy (Ifremer)

Plan du chapitre

3.1 Introduction, le contexte réglementaire

Classement des zones de production

Réglementation sanitaire des produits conchylicoles

3.2 La purification des coquillages

Contexte réglementaire

Contexte sanitaire

3.2.1. Règles HACCP

3.2.2. Outils disponibles

Les équipements

La purification en mer propre

Les équipements de désinfection de l'eau de mer

3.3 Performances et limites

3.3.1 Paramètres impliqués dans la purification

3.3.2. Sensibilité des microorganismes à la purification

Sensibilité à l'eau de mer

Sensibilité à la purification

4.4 Conclusions et perspectives

3.1 Introduction : contexte réglementaire

Dans ce chapitre nous aborderons uniquement le cas des coquillages issus des zones de production, c'est à dire les zones d'élevages et les gisements classés. Les coquillages issus de la pêche récréative demeurent un problème identifié, mais légalement ces produits ne peuvent intégrer aucun des circuits commerciaux.

Le contrôle administratif s'exerce sur deux niveaux :

- la zone d'élevage, par un contrôle de la qualité du milieu (eau marine) au travers d'un « biomarqueur » que constitue le coquillage.
- Le coquillage avant commercialisation.

Classement des zones de production conchylicole

Afin de s'assurer de la qualité du produit, les zones de production conchylicole sont classées selon la directive de la communauté européenne du 15/07/91 (91/492/CEE) relative aux règles régissant la production et la mise sur le marché des mollusques bivalves vivants. Cette réglementation édictée en vue d'harmoniser, au sein des états membres, les conditions de mise sur le marché et les normes de salubrité des coquillages vivants, vise à assurer l'égalité des conditions de libre concurrence tout en limitant les risques sanitaires liés à la consommation de cette denrée.

Historiquement, il a été universellement admis que les coquillages répondant au critère "moins de 230 *E. Coli*/100g de chair et de liquide intervalvaire" (ou < 300 Coliformes Fécaux CF/100 g), pouvaient être mis directement sur le marché. La norme adoptée, aussi bien en Europe qu'aux USA, a amené les Etats à classer leurs zones de production selon quatre niveaux de salubrité associés à des usages réglementés : la zone A, produits pouvant être expédiés directement pour la consommation humaine, la zone B, impliquant une purification de la production avant consommation, la zone C où l'élevage est interdit sauf dérogation pour l'élevage et/ou la pêche de juvéniles et la zone D où tous les usages sont interdits.

La transcription en droit français de la directive précitée s'est traduite sous la forme de deux textes réglementaires :

- Le décret n° 94-340 du 28/04/94 relatif aux conditions sanitaires de production et de mise sur le marché des coquillages vivants.
- L'arrêté du 21/05/99 relatif au classement de salubrité et à la surveillance des zones de production et des zones de reparcage des coquillages vivants.

En mars 2001, un nouveau règlement européen directement applicable au sein des états a réactualisé certaines normes relatives aux éléments traces : règlement (CE) N°466/2001 de la commission du 8/03/2001 portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires.

Le classement de la salubrité des zones de production se fait, par groupe de coquillages, disposition qui traduit leur faculté différentielle de se contaminer et de se purifier et sur la base du dénombrement, dans les coquillages, des *Escherichia coli* indicateurs d'une

contamination fécale, mais aussi des teneurs en certains contaminants chimiques présentant un risque sanitaire.

Pour intégrer les variations saisonnières, le classement est réalisé à partir de 26 résultats bactériologiques obtenus sur une période de 12 mois minimum. En fonction de la répartition des données par classe de contamination fécale (Cf Tab I) et des données chimiques (Cf Tab II), le classement est établi par l'autorité préfectorale et conduit à une fréquence de surveillance adaptée.

<i>E. coli</i> (E.C.) / 100g de chair et de liquide intervalvaire	Zones	Exploitation	
Seuils microbiologiques	Classement	Elevage	Pêche Professionnelle gisement naturel
Au moins 90 % des résultats < 230 E.C. Aucun > 1000 E.C.	A	Autorisé (Consommation directe)	Autorisée (Consommation directe)
Au moins 90 % des résultats < 4600 E.C. Aucun > 46000 E.C.	B	Autorisé (Reparcage ou purification)	Autorisée (Reparcage ou purification)
Au moins 90 % des résultats < 46000 E.C.	C	Interdit (sauf dérogation préfectorale)	Autorisée (Reparcage de longue durée – 2 mois minimum) purification interdite
Non A, non B, non C	D	Interdit	Interdite

Tab. I : Critères microbiologiques des zones de production conchylicole

Décret du 28/04/1994 - Arrêté 21/05/1999

Seuils de contamination chimique (mg/kg chair humide)			Zones	Exploitation
Plomb	Cadmium	Mercure	Classement	Pêche & élevage
≤1mg	≤1mg	≤0.5mg	A	Autorisée
>1mg	>1mg	>0.5mg	D	Interdite

Tab. II : Critères chimiques des zones de production conchylicole

Arrêté 21/05/1999 - Règlement CEE du 08/03/2001 (Applicable à compter du 05.04.2002)

Dans le cadre de la surveillance des zones d'élevages et des gisements classés, une surveillance des espèces phytoplanctoniques toxiques et des phycotoxines associées est exercée. La présence éventuelle de ces toxines dans les coquillages à des seuils équivalents ou supérieurs aux normes, conduit les services administratifs à prendre des interdictions de pêche et de commercialisation des coquillages issus des zones, mesures appelées communément « fermetures temporaires de zones ».

Réglementation sanitaire des produits conchylicoles

Cette réglementation en complément du classement sanitaire des zones de production s'articule autour de 2 textes (cf Tabl. III) :

- Arrêté du 2 juillet 1996 fixant les critères sanitaires auxquels doivent satisfaire les coquillages vivants destinés à la consommation humaine immédiate, modifié par l'Arrêté du 25 novembre 1999.
- Règlement européen du 8 mars 2001 portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires.

Critères microbiologiques	< 230 <i>E.coli</i> / 100g de chair et de liquide intervalvaire	A.02/07/1996
	Absence de <i>Salmonella</i> / 25g de chair	
	Virus En l'absence de technique de routine pour la recherche de virus et de la fixation de normes virologiques, le contrôle sanitaire se fonde sur le dénombrements des bactéries fécales.	

Critères chimiques	Pb < 1 mg/kg chair humide	R.CE 08/03/2001
	Cd < 1 mg/kg chair humide	
	Hg <0.5 mg/kg chair humide	
Critères relatifs aux contaminants biologiques	PSP < 80 µg / 100g de chair	A.02/07/1996
	DSP résultats négatifs par tests biologiques	A.02/07/1996
	ASP <20 µg / g de chair	A.25/11/1999

Tab. III : Critères sanitaires des produits conchylicoles

Arrêté modifié du 02/07/1996 – RCE du 08/03/2001

Dans ce contexte réglementaire, il apparaît aujourd'hui, au vu des techniques opérationnelles et des équipements professionnels, que la notion de purification concerne exclusivement l'aspect microbiologique des coquillages.

3.2 la purification des coquillages

Contexte réglementaire

Dans le contexte réglementaire pré-cité, seuls les coquillages en provenance des zones classées A peuvent être commercialisés directement pour la consommation humaine.

Les coquillages en provenance des zones B nécessitent un traitement de purification. Pour l'origine C, c'est une opération de reparcage dans une zone de qualité satisfaisante pour une durée minimum de 2 mois qui est réglementairement demandée, opération complétée éventuellement par une purification. Du fait de l'absence de zones de reparcage, classées à cet usage exclusif et sous certaines conditions, cette pratique n'est pas usitée.

L'opération de purification consiste à immerger des coquillages vivants dans des bassins alimentés en eau de mer naturellement propre ou rendue propre par un traitement approprié, pendant le temps nécessaire à l'élimination des contaminants microbiologiques pour les rendre aptes à la consommation humaine immédiate.

La purification est principalement utilisée pour les coquillages du groupe 2- bivalves fouisseurs et du groupe 3 – bivalves non fouisseurs.

Selon les systèmes, les temps de purification varient de deux à plusieurs jours. En France le principe retenu est celui des 48 heures, temps semble-t-il suffisant pour limiter le nombre de bactéries, le but de la purification étant d'obtenir des produits conformes à la norme (< 230 *E. coli* /100 g).

Contexte sanitaire

La contamination des coquillages est liée à l'arrivée, dans les eaux côtières, de rejets domestiques ou agricoles non suffisamment traités. Ces rejets sont souvent sporadiques et dus soit à de mauvais fonctionnement des structures d'épuration (rupture de réseaux, panne de pompes de relevage, sous capacité de traitement en été, by-pass d'eaux brutes..), soit à des actions non conformes à la réglementation (épandage agricole sauvage...), soit enfin à des conditions météorologiques exceptionnelles (pluies d'orage l'été, crues en hiver simultanée à une vive eaux...). Dans ces conditions, différents polluants dont des microorganismes potentiellement pathogènes pour l'homme, peuvent être déversés.

Ces risques sont appréciés par la présence d'*Escherichia coli*, indicateur de contamination fécale. Cependant des coquillages répondant aux normes de salubrité ont été impliqués dans des TIACs liés aux coquillages, montrant que cette bactérie peut disparaître plus rapidement qu'un pathogène "vrai". En matière de TIACs les principaux risques sont liés, en Europe, à la présence de bactéries (essentiellement des Salmonelles) et des virus entériques (essentiellement les norovirus et le virus de l'hépatite A). Pour l'Europe le risque de présence de Vibrios et en particulier de *V. Parahaemoliticus* dans des produits d'importation n'est pas nul (il semble négligeable actuellement dans les coquillages élevés dans les eaux côtières européennes) . Cependant, nous ne traiterons pas de purification de ce pathogène, car étant donné qu'il s'agit d'une espèce adaptée à l'eau de mer, il n'existe aucune structure de purification efficace pour l'éliminer.

Dans ce chapitre, nous nous intéresserons à quatre microorganismes et à leur comportement vis à vis de la purification : *E. coli*, *Salmonella*, les virus et les bactériophages. Ce dernier groupe, est appelé vraisemblablement et très rapidement (fin 2003) à figurer dans les critères de purification des coquillages comme indicateur viral.

3.2.1 Règles HACCP

Le Comité National de la Conchyliculture (CNC) et la Confédération des Industries des Traitements des Produits des Pêches Maritimes (CITPPM) ont réalisé un document complet "***Le Guide des Bonnes Pratiques Hygiéniques pour la Purification et l'Expédition des coquillages vivants***", Février 2001). Dans ce guide très complet, on retrouve les différentes phases de préparation des coquillages pour la mise en marché. L'élaboration du guide est basée sur les principes de l'HACCP (Analyse des dangers potentiels, points critiques pour leur maîtrise). Il rappelle les principales exigences de la réglementation en matière d'hygiène et propose des mesures complémentaires permettant d'assurer la salubrité des coquillages au moment de leur mise en marché. Il est recommandé de se référer au document CNC pour avoir une vue exhaustive du sujet, seuls quelques points importants concernant la purification étant évoqués ici.

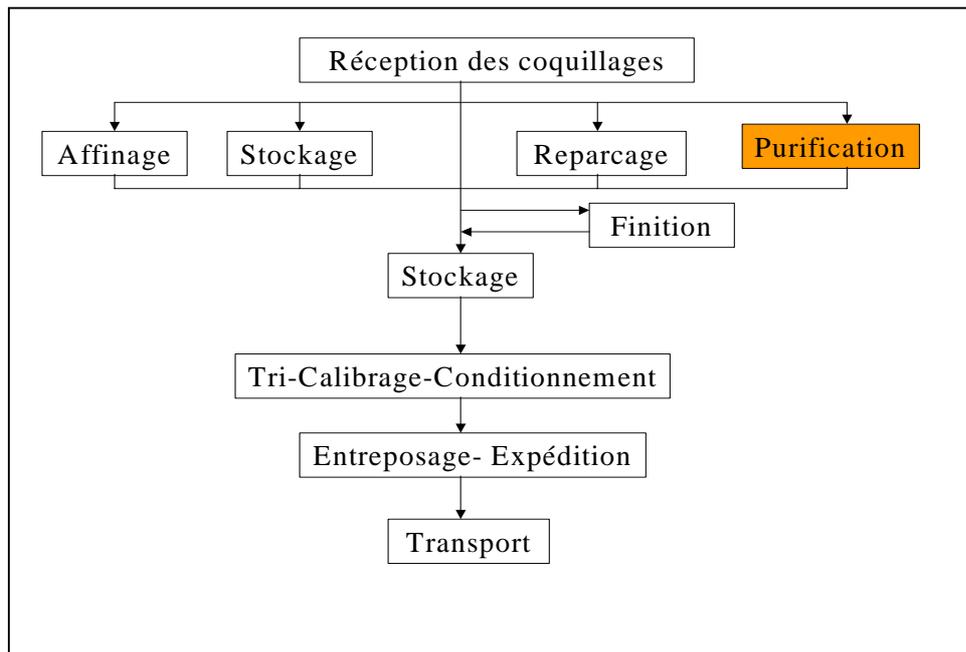


Fig. 1 Les principales étapes de mise sur le marché des coquillages vivants

Source : Guide des bonnes pratiques hygiéniques pour la purification et l'expédition de coquillages vivants . CITPPM.CNC 10.02.2001.

Pour la maîtrise de l'opération de purification, il faut apprécier :

- **les limites et dangers susceptibles d'interférer sur la qualité de la purification :**
 - Comme rappelé précédemment, la purification ne permet pas la décontamination des coquillages contaminés par les métaux lourds et/ou les phycotoxines, il y a donc des limites à la purification.
 - Le classement sanitaire des zones de production ne peut garantir que les produits en élevage possèdent systématiquement, 365 jours par an, le niveau correspondant à ce classement. L'importance du niveau initial de la contamination bactériologique du coquillage est donc à prendre en compte.
- **les principaux facteurs maîtrisant l'efficacité de la purification :**
 - La qualité initiale de l'eau de mer d'approvisionnement des bassins de purification est importante.
 - Si au vu de la qualité sanitaire de l'eau de mer d'approvisionnement, un traitement est requis, il existe cependant des limites des procédés de traitement de l'eau de mer.
 - Les capacités conchyloles de traitement des bassins de purification doivent être en adéquation avec les tonnages commercialisés par l'établissement.
 - Les équipements annexes (débit de recyclage, aération) doivent être modulables en fonction des espèces et des volumes de coquillages traités.
 - La durée du traitement de purification est à respecter.

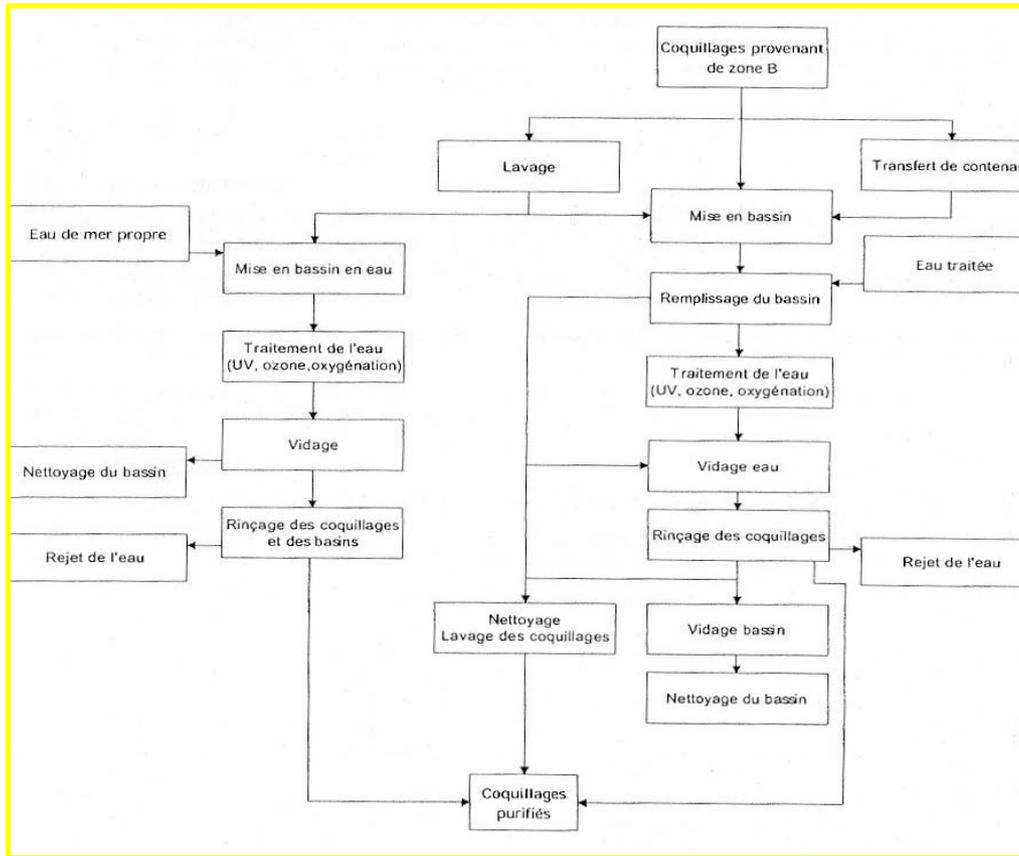


Fig. 2 Les principales étapes de la purification des coquillages

Source : Guide des bonnes pratiques hygiéniques pour la purification et l'expédition de coquillages vivants . CITPPM.CNC 10.02.2001.

La prise en compte de ces principaux points critiques est fondamentale pour une bonne purification des coquillages. Pour une parfaite maîtrise de la qualité sanitaire des produits, la démarche HACCP intervient tout au long des étapes de mise sur le marché des coquillages vivants, de la réception des produits à l'établissement jusqu'à la commercialisation pour la consommation directe.

3. 2. 2 Outils disponibles

Le principe général de la purification est présenté dans la figure ci-dessous:

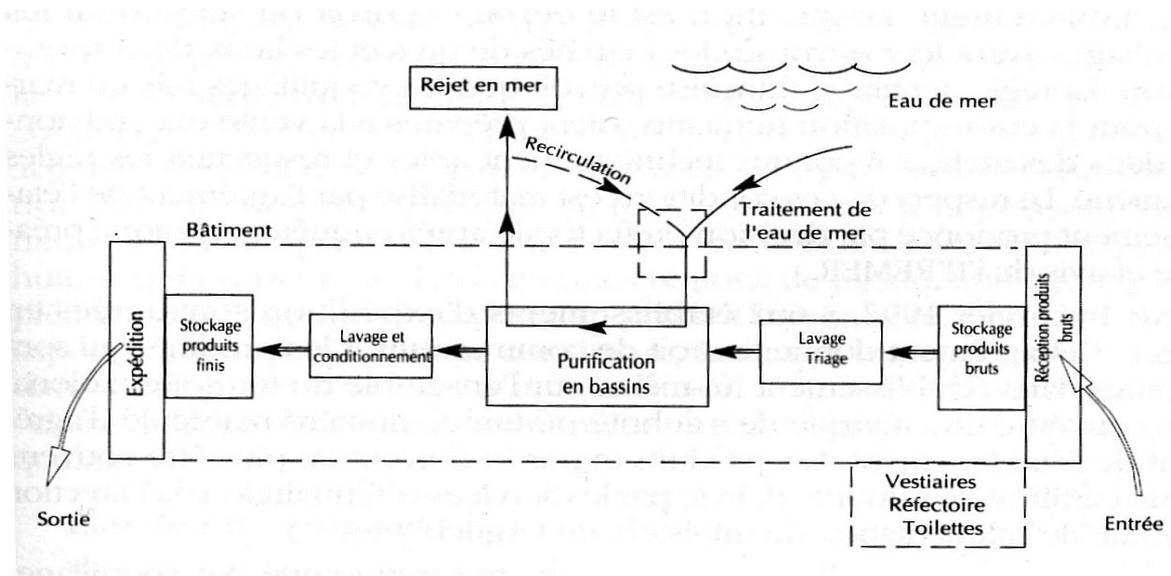


Fig. 3 : Principe général de la purification (d'après Furfari S.A. 1966)

La purification correspond à l'entreposage de coquillages en bassin insubmersible alimenté en eau de mer propre ou rendu propre par un traitement bactéricide, durant un temps suffisant pour stimuler l'auto-épuration des coquillages.

La purification est obligatoire pour les coquillages élevés ou stockés en provenance de zones de classe B.

Les équipements

Les bassins les plus couramment utilisés sont en béton, peu profonds (0.80 /1m), avec pente pour l'évacuation totale des eaux. Ils sont alimentés en direct du milieu ou par l'intermédiaire de réserve permettant une décantation des matières en suspension. Deux systèmes sont utilisés :

- un circuit ouvert (alimentation permanente)
- un circuit fermé (re-circulation de l'eau).

Les équipements annexes et indispensables sont constitués de systèmes d'aération de l'eau des bassins et de systèmes de re-circulation interne, permettant d'adapter débit et oxygénation aux espèces et aux volumes de coquillages traités.

Purification en eau de mer propre

L'équipement de première génération de type proche de Reynolds N (Simplified depuration.1955) est systématiquement utilisé par les établissements professionnels. Il consiste en un simple bassin insubmersible aéré.

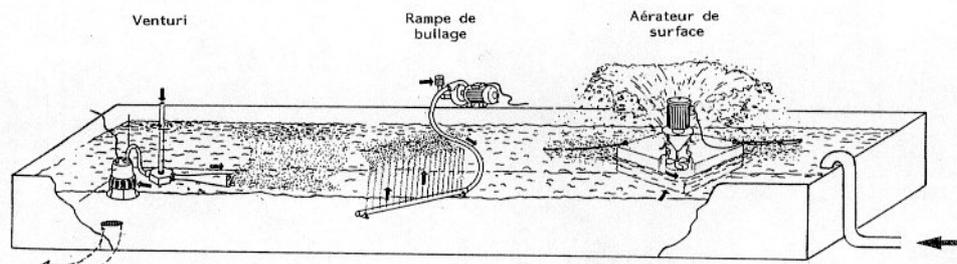


Fig.4 Procédés d'aération les plus couramment utilisés en bassin insubmersible.

Source : Lesne.J Coquillages et santé publique Du risque à la prévention. 1992

Ce type d'équipement donne des résultats satisfaisants en terme de décontamination par rapport au germe indicateur de contamination fécale : *E. coli*. Les services compétents préconisent une stabulation d'au moins 48 heures.

A partir de cette base, plusieurs adaptations ont été apportées dont principalement :

- La re-circulation permanente complémentaire à l'aération : un flux lamellaire traverse le bassin, permettant l'évacuation des fécès, pseudo fécès et autres déchets libérés par les coquillages.
- Le système d'écumage de l'eau de mer : Ce procédé retire la matière organique et les particules fines de l'eau en les concentrant dans l'écume. L'écume ainsi obtenue est transférée en dehors du bassin de purification.

Les équipements de désinfection de l'eau de mer

Dans le cadre de l'obligation de traitement de l'eau de mer d'approvisionnement, deux types de procédés sont utilisés :

- les procédés chimiques de désinfection par l'ozone ou le chlore.
- Les procédés physiques de désinfection par les ultra-violets.

Pour les deux procédés chimiques, anciennement les plus utilisés, le principe de la désinfection de l'eau est basé sur l'action bactéricide du brome contenu dans l'eau de mer. Pour les ultra-violets, c'est l'utilisation du rayonnement germicide des lampes UV, basses ou haute pression. A ce jour, la désinfection aux ultra-violets est largement utilisée par les établissements conchylicoles. La pratique de ce procédé, particulièrement lors de l'alimentation à partir d'eaux estuariennes, nécessite un équipement annexe constitué d'un filtre pour éliminer le maximum de matières en suspension, et ainsi augmenter le pouvoir germicide du rayonnement.

Pour une parfaite maîtrise des différents lots de coquillages à purifier, il est préférable que la structure de purification s'articule autour de plusieurs modules indépendants, chaque bassin pouvant ainsi recevoir des lots de coquillages de qualité sanitaire et de provenance différenciées.

En conclusion, l'opération de purification exige de l'opérateur, une parfaite connaissance des risques sanitaires, une rigueur importante tout au long de la procédure complétée d'un contrôle continu des installations.

3. 3. Performances et limites

3. 3.1 Paramètres impliqués dans la purification

La purification des coquillages est basée sur le principe que le coquillage immergé dans une eau propre va "dégorger" naturellement les contaminants qu'il a pu séquestrer dans ses tissus et en particulier dans son système digestif. La spécificité de la contamination est liée au fait que les coquillages peuvent concentrer plusieurs dizaines de fois, bactéries et virus présents dans l'eau environnante. Ces microorganismes s'accumulent préférentiellement dans les tissus digestifs et semblent plus facilement assimilés par le coquillage s'ils sont associés à des particules ou des fécès.

Une étude bibliographique concernant la purification des coquillages a été précédemment réalisée¹. Les principales conclusions de cette revue concernant les mécanismes de concentration et d'élimination des virus par les coquillages sont les suivantes :

- L'accumulation des microorganismes dans les coquillages est très rapide (quelques heures). Les virus par leurs propriétés physico-chimiques ont tendance à s'adsorber ou s'agréger entre eux ce qui favorise le phénomène de concentration par les coquillages. La concentration du coquillage est plusieurs dizaines de fois supérieure à celle de l'eau dans laquelle elle est immergée.
- La charge bactérienne et virale varie fortement d'un individu à l'autre, au sein d'un même groupe. Ainsi sur un même lot (ou dans une même assiette) certains coquillages peuvent être sains et un seul contaminé.
- Les microorganismes pathogènes strictement humains ne pénètrent pas dans les tissus et restent essentiellement dans le tractus digestif, en particulier dans la glande digestive et le pancréas. Les résultats d'études expérimentales suggèrent que les pathogènes faiblement attachés aux tissus (contamination récente), s'éliminent plus vite lors de la purification, que ceux profondément enfouis et attachés aux parois et diverticules intestinaux (contamination ancienne).

Rôle de certains paramètres sur l'efficacité de la purification

les principaux paramètres jouant un rôle important sur la purification sont présentées ci-dessous :

- ***La température*** commande la physiologie du coquillage et de ce fait joue un rôle important dans l'efficacité de la purification du coquillage. En effet indirectement, la teneur en oxygène, la présence de nourriture, la salinité interviennent sur l'état physiologique et donc sur la vitesse de pompage, le transit intestinal et l'émission de fécès par l'animal. Ainsi à basse température (< à 14°C), les coquillages ont une activité

¹ G. Brest *et al.*, 2001, Purification virale des coquillages, contrat DGAL/CNC, 41 pages.

physiologique très diminuée et des fonctions de re-largage faibles. Par contre à des températures plus élevées, (18-22°C) les résultats montrent une élimination plus rapidement des virus.

- **La salinité** comme le paramètre précédent, affecte les fonctions de pompage et des changements de salinité peuvent entraîner des périodes d'acclimatation qui défavorisent la rapidité de la purification (une variation de 10 % suffit à réduire la filtration).
- **Le taux d'oxygène dissous** est d'une manière générale très important. La demande en oxygène des coquillages en bassin est très élevée, surtout si la charge est importante, d'où la nécessité des systèmes d'oxygénation (type Ventury ou autres). Il est recommandé que des valeurs supérieures à 2mg/ml soient maintenues pendant toute la durée de la purification, cela va limiter aussi les phénomènes de mortalité.
-
- **Le taux de filtration** joue un rôle extrêmement important sur la purification. Il peut varier d'une huître à l'autre, d'un coquillage à l'autre, il doit être favorisé en ajustant les paramètres précités pour que l'activité physiologique soit la plus active possible.
- la **turbidité** semble jouer un rôle modéré dans la purification : à faible taux elle pourrait être favorable (aliment pour le coquillage). Mais à forte concentration les matières en suspension empêchent la pénétration des Ultra-Violet, dans l'eau et ainsi leur action de désinfection est amoindrie.
- **L'alimentation en algues** peut avoir certains effets positifs sur la purification en accélérant le transit intestinal, mais seulement lorsque les températures ne sont pas trop basses.
- **La circulation de l'eau** est également un facteur déterminant, puisque qu'elle accroît indirectement la teneur en oxygène dissous nécessaire à un bon état physiologique de l'animal.
- **La concentration initiale en microorganismes** : les résultats montrent que plus le coquillage est contaminé, plus la purification sera longue et souvent inefficace pour certains microorganismes.
- L'efficacité et la rapidité de la purification dépend **du type de virus ou de bactéries** qui contamine le coquillage.

Pour conclure, la purification s'avère efficace sur des coquillages actifs. L'augmentation de température, l'oxygénation, la circulation des eaux, accélèrent la physiologie des coquillages qui filtrent plus et donc se purifient plus vite. Si l'on se réfère aux dernières expériences publiées, à 20°C, après une purification de quatre jours, les virus ne seraient plus détectés, alors qu'ils sont encore présents après 5 jours à 6°C. Ces résultats doivent être pondérés en rappelant que plus la contamination est ancienne et élevée, et plus la décontamination est difficile.

3. 3. 2. Sensibilité des microorganismes à la purification

Comme nous l'avons indiqué ci-dessus, L'efficacité de la purification va dépendre du type de virus ou de bactéries qui contamine le coquillage. Quels sont-ils ? Les risques sanitaires liés à la consommation des coquillages sont essentiellement liés à quelques bactéries et virus :

- **Pour les bactéries** ce sont essentiellement les Salmonelles. Elles sont souvent incriminées dans des TIACs liées à la consommation de moules en été. Le problème de cette contamination peut être du à une contamination initiale, accrue par des problèmes de conservation du coquillage dans des conditions désastreuses après l'achat ou le ramassage de loisir (exemple de moules mises dans un coffre de voiture sans protection thermique, la voiture restant au soleil). En ce qui concerne les *Listéria*, elles peuvent être présentes dans des coquillages contaminés, mais il n'existe jusqu'à présent aucune preuve de leur implication dans des TIACs liées aux coquillages.
- **Pour les virus** : parmi les nombreux virus pathogènes impliqués dans des gastro-entérites (entérovirus, rotavirus, astrovirus, norovirus) et dans d'autres pathologies (virus de l'hépatite A), le risque sanitaire le plus important est lié à la présence du Virus de l'hépatite A (VHA) et aux norovirus. Le VHA, a été souvent impliqué dans des hépatites liées à la consommation d'huîtres, cette pathologie est grave d'autant que la population européenne est actuellement très peu immunisée contre ce virus. Les seconds, les norovirus, donnent des gastro-entérites bénignes, survenant en hiver (novembre-mars) après consommation d'huîtres. Les norovirus, sont une vaste famille, avec deux génogroupes (Norwalk-like et Sapporo-like), leur classification est récente, on peut donc les trouver sous diverses appellations telles que : calicivirus, virus de Norwalk, Norwalk-like virus...

Afin de pallier à l'inefficacité d'*E coli* à rendre compte du risque viral, certains auteurs ont proposé d'utiliser **les bactériophages et en particulier les F+RNA spécifiques** pour "mimer" la contamination virale et ainsi prévenir le risque. Ces phages, appartenant à la famille des *Liviridae* sont des virus de bactéries et de ce fait ils possèdent des caractères proches des virus : taille, structure, spécificité d'hôte, résistance aux produits chimiques, à l'eau de mer etc. Par ailleurs leur détection utilisant des méthodes plus facile que pour les virus, ils ont servi de modèles de virus dans de nombreuses études concernant la désinfection des eaux ou la purification.

Les microorganismes pré-cités n'ont pas tous la même résistance à la purification. Ceci est du soit à des raisons mécaniques (taille, adhésion aux parois intestinales du coquillage), soit à des raisons biologiques, certains microorganismes ayant une plus ou moins forte *sensibilité à l'eau de mer* et aux conditions hostiles du milieu. On peut les classer ainsi :

1. Sensibles : *E coli*, (coliformes fécaux, thermotolérants), *Listeria*
2. Assez sensibles : Salmonelle, les bactériophages,
3. Peu sensibles: les virus entériques,
4. Résistants : *Vibrio*

Sensibilité à l'eau de mer

Le tableau ci-dessous rapporte la sensibilité des microorganismes à l'eau de mer. Elle est exprimée en T90 (temps calculé en heure), nécessaire pour diminuer d'un facteur dix la concentration de la bactérie ou du virus dans l'eau. On peut constater que par rapport à

d'autres pathogènes, *E. coli* est moins résistant qu'une Salmonelle, un bactériophage ou un virus.

Microorganisme	Eau de mer 18-22°C
<i>Listeria monocytogenes</i> ¹	22-39
<i>Escherichia coli</i> ^{2,3}	5-35
<i>Salmonella panama</i> ¹	13-72
<i>Cryptosporidium</i> ⁶	48-96
Poliovirus-1 ^{4,6}	10-72
Phage (F+RNA) ⁴	60-76
Hépatite A virus ^{4,5}	72-300
Astrovirus ⁵	384-432

1. Montfort *et al*, 2000 ; 2. Salomon and Pompepy, 1991 ; 3. Troussellier *et al*, 1998;
4. Callahan *et al*, 1995 ; 5. Bosch *et al*, 1996 ; 6. Johnson *et al*, 1996

Tab. IV : Survie des microorganismes en mer : T90, temps - exprimé en heure- nécessaire pour que leur concentration du microorganisme diminue dans l'eau de mer d'un facteur dix (minimum - maximum).

Sensibilité à la purification

De nombreuses études ont été réalisées sur la purification des coquillages vis à vis de l'indicateur de contamination fécale *Escherichia coli*, ou sur l'ensemble de la famille représentative d'une contamination fécale (coliformes fécaux, coliformes thermotolérants). Moins nombreux sont les travaux concernant les autres microorganismes (Salmonelles, bactériophages et virus).

Escherichia coli

La majorité des Etats Européens considèrent 48 heures, le temps suffisant pour limiter le nombre de bactéries, le but de la purification étant d'obtenir des produits conforme à la norme (< 230 *E. coli* /100g). La plupart des travaux réalisés sur le sujet montrent qu'en effet, si les règles HACCP sont respectées, les produits issus de ces temps passés en bassins respectent les normes de mise en marché.

Salmonelles

La purification, lorsqu'elle est réalisée correctement, semble s'avérer efficace vis à vis du risque bactérien, preuve en est la baisse de salmonelloses ou typhoïdes ces quinze dernières années en Europe. On considère d'une manière générale que 48 heures sont suffisantes pour éliminer cette bactérie. Le risque est estival et en grande partie lié à la consommation de moules. Les conditions de stockage et de conservation avant la vente et la consommation sont importantes vis à vis du maintien de la qualité du produit.

Virus des gastro-entérites et de l'hépatite A

Pour les virus entériques, l'efficacité de la purification telle qu'elle est pratiquée aujourd'hui est assez réduite. Ces dernières années des coquillages répondant aux normes bactériennes ont été à l'origine de toxi-infections alimentaires (TIAC) sévères (hépatite A) ou bénignes (gastro-entérites virales). Des travaux réalisés à l'étranger sur des volontaires et sur des épisodes

diarrhéiques montrent que des coquillages passés en purification peuvent être à l'origine de gastro-entérites virales.

Les études concernant l'efficacité de la purification sur les virus sont récentes et en nombre limitées. La majorité des résultats concerne des expériences faites en laboratoire sur des coquillages artificiellement contaminés. D'une manière générale les résultats montrent que les virus sont éliminés plus lentement que les bactéries. L'élévation de la température de l'eau du bassin (20°C) est favorable à la décontamination virale des huîtres. Cependant, même dans ces conditions, il faudrait plusieurs jours pour s'assurer de la qualité sanitaire du coquillage. Lorsque la température de l'eau de mer est très basse (<14°C) les virus entériques peuvent persister dans le coquillage plusieurs semaines et pour le VHA, plusieurs mois (détection par RT-PCR)²

Bactériophages

Utilisé comme modèle de virus, le bactériophage F+RNA spécifique a donné lieu à de récentes études tendant à valider des conditions favorables à la décontamination virale : les travaux ont été essentiellement réalisés par des équipes anglaises (Cefas) et françaises (Ifremer) . Le tableau IV et la figure 5 présentés ci-dessous montrent la sensibilité de *E. coli* et du bactériophage à la désinfection.

Température	<i>E.coli</i>	F+RNA spécifique
8-10 °C	48 heures	> 10 jours
15°C	< 48 heures	~ 8 jours
20°C	< 48 heures	~ 6 jours
25°C	< 48 heures	2 - 5 jours

Tab. V : Effet de la température sur la persistance dans des huîtres d'*E coli* et du bactériophage F+RNA spécifique (indicateur viral).

On notera que dans l'expérience rapportée sur la figure 5, les huîtres répondant aux normes de salubrité (< 230 *E. coli*) étaient fortement chargées en bactériophages. Ces derniers, ont persisté dans le coquillages pendant plusieurs jours. L'effet de la purification en eau réchauffée à 25°C - avec forte aération et circulation d'eau - a été plus rapide que pour les huîtres immergées dans de l'eau de mer à température ambiante (15°C).

² RT-PCR : détection du génome du virus, ne présupant pas de son infectiosité , mais de sa présence.

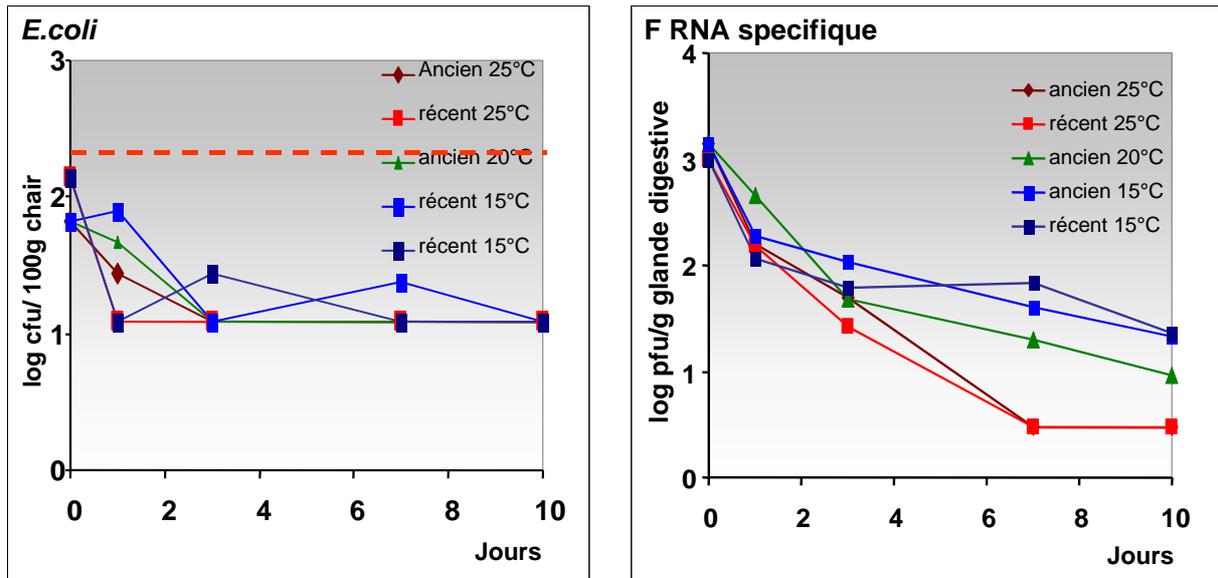


Fig. 5 : Cinétique de purification des huîtres naturellement contaminées pour *E. coli* et les bactériophages F+ RNA spécifique.

Pour conclure, la purification des coquillages est dépendante de différents facteurs :

- L'état physiologique du coquillage, (mais aussi l'espèce) joue un rôle prépondérant sur la concentration et la purification. Des facteurs tels que la température, l'oxygénation, la turbidité, la salinité et la circulation de l'eau peuvent stresser l'animal et par-là même modifier son rendement de filtration et d'élimination. Pendant la purification, les coquillages doivent être placés au moins 48 heures dans un bassin d'eau de mer équipé d'un système de circulation. L'efficacité du procédé est basée sur le fait que l'eau de mer contient des aliments assimilables par le coquillage. Au bout de deux jours ce dernier s'est "purgé" de son contenu stomacal : ceci n'est pas vrai pour les virus qui persistent du fait de leur résistance à l'eau de mer. Certaines études ont évalué à 14 jours le temps nécessaire pour l'élimination des virus. Ce temps dépend de la température.
- Les bactériophages et les virus sont éliminés plus lentement qu' *E. coli* (expériences faites à partir d'huîtres naturellement contaminées, non reportées ici). Les expériences montrent par ailleurs que des huîtres contenant du virus, passées 48 heures en purification, n'éliminent que quelques pour cent de ces virus (alors que 95 % des bactéries fécales sont éliminées).

3.4 Conclusions et perspectives

Les toxi-infections alimentaires liées aux coquillages représentent environ 7-10% des TIACs. Afin de limiter ce nombre des mesures doivent être prises, elles concernent essentiellement :

1. L'application stricte des règles HACCP de la récolte à la mise en bourriche

2. L'amélioration des outils de purification est actuellement nécessaire, en effet les équipements devraient être conformes à la quantité de produits traités (taille des bassins par exemple) et équipés pour permettre une purification optimale et assurer ainsi la qualité des produits.
3. La reconquête de la qualité du milieu marin. En effet les études montrent les limites de la purification des coquillages. Obtenir un produit sain à partir de coquillages contaminés passés en purification est un pari sanitaire aléatoire. Des pathogènes tels que les virus peuvent persister dans l'animal après purification. L'allongement des temps de purification ou le réchauffement des eaux pour améliorer la purification est actuellement proposé. On peut se demander, si cette réglementation devait être appliquée, l'effet tant sur la qualité du produit que sur son coût.