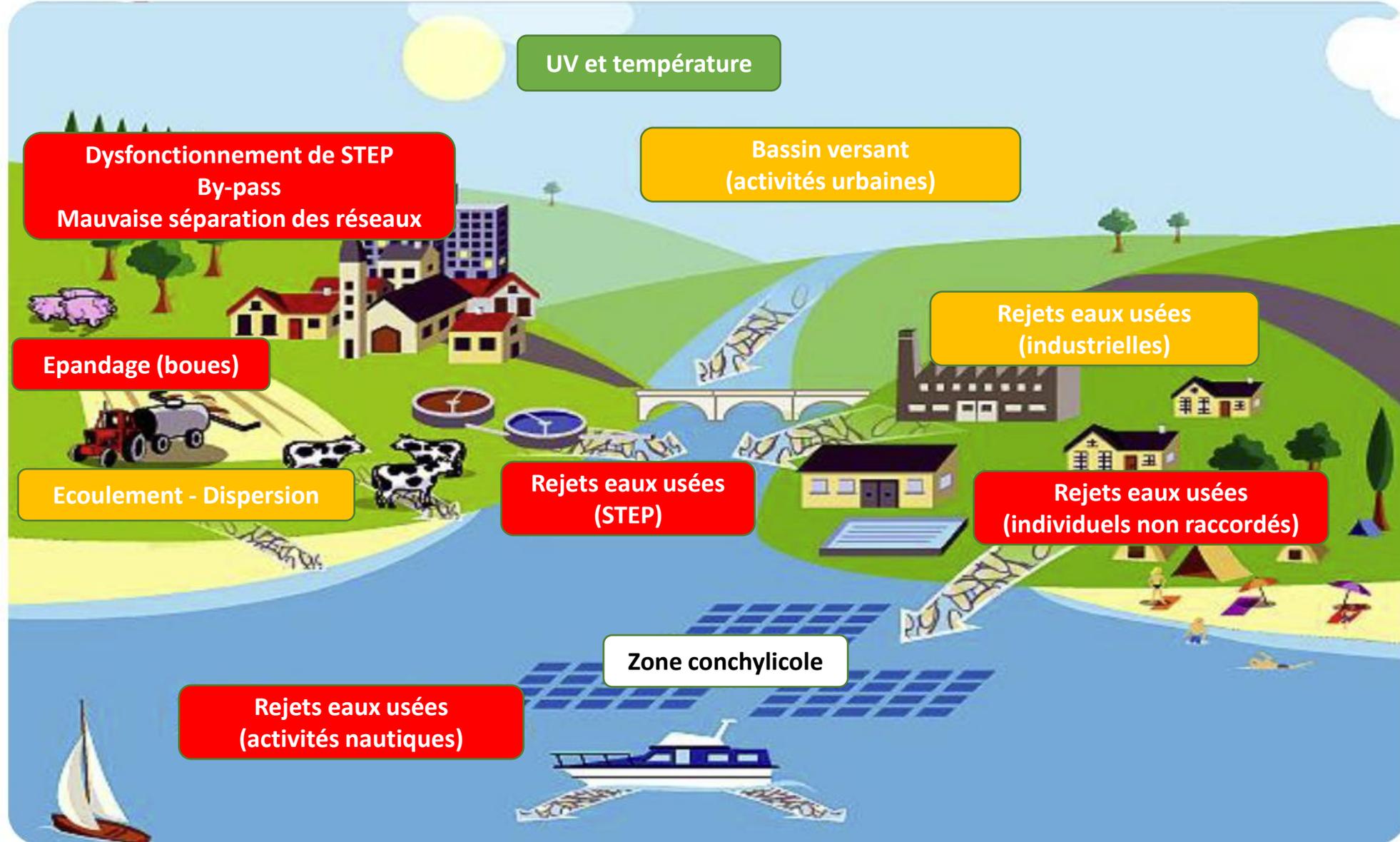


Purification des huîtres contaminées par des norovirus Projets OXYVIR 1 et 2

Table ronde « optimisation de la purification des coquillages »
Salon conchylicole de Vannes - 07/09/23, 14h-15h45

Voies de contamination et inactivation des norovirus (NoV) en zone côtière



Présentation rapide des projets

Projet OXYVIR 1 « Développement d'une méthode d'estimation du caractère infectieux des norovirus dans les coquillages bivalves vivants » (2017-2020, FEAMP)

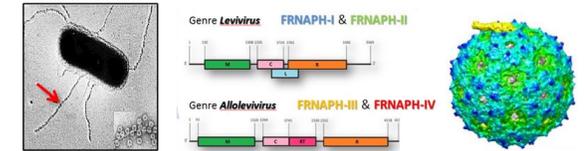
Projet OXYVIR 2 « Discrimination des norovirus infectieux et non infectieux dans les huîtres » (2021-2023, FEAMP)

Objectif : valider l'utilisation des bactériophages ARN F-spécifiques infectieux pour estimer la présence de norovirus infectieux dans les huîtres

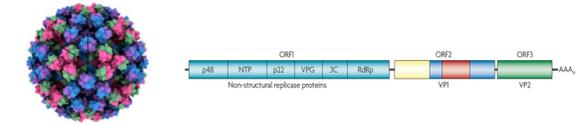


Bactériophages ARN-F spécifiques du groupe II : indicateur de l'infectiosité des norovirus

- ✓ **Origine entérique et structure similaire** des FRNAPH et des norovirus
- ✓ **Génomes FRNAPH-II > génomes norovirus** dans les **eaux usées brutes et traitées**
- ✓ **Persistants dans l'environnement**
- ✓ **Comparaison des génomes de FRNPAH et de norovirus :**
 - **Dégradation faible et similaire** des génomes de FRNAPH et de norovirus dans **l'environnement et lors de la dépuration des huîtres**
 - **Corrélation démontrée** entre la présence des génomes de FRNAPH-II et de norovirus dans les huîtres (n > 100 lots)
- ✓ **Survie similaire partiellement démontrée** des FRNAPH infectieux et des norovirus infectieux dans les huîtres :
 - Résultats des 15 restes de repas incriminés dans des épidémies à norovirus
 - Critère FRNAPH infectieux utilisé en routine par des ostréiculteurs (pas de retour client négatif)
 - Comparaison de la survie à échelle laboratoire peu concluant via la technique des poissons zèbres



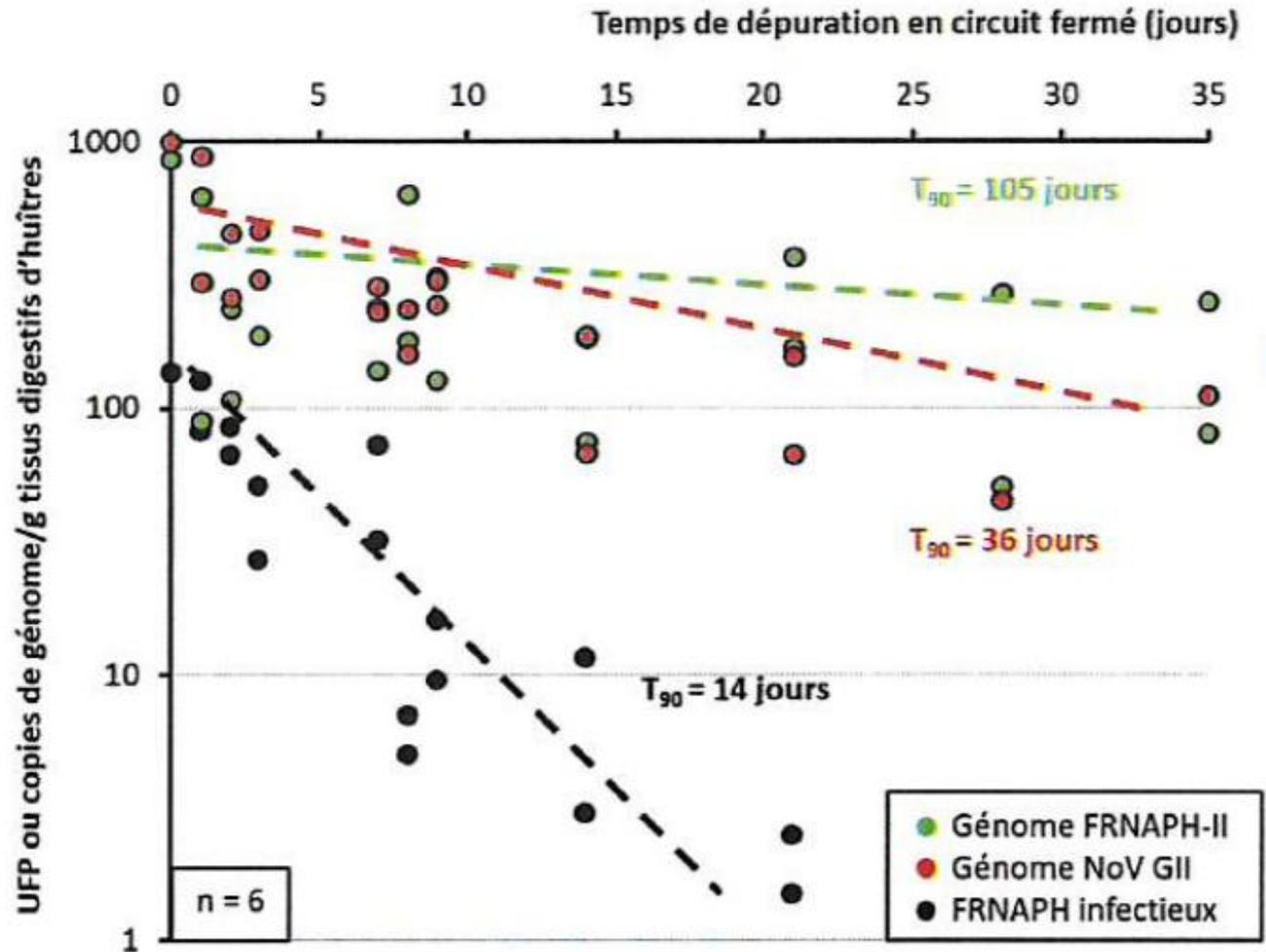
Structure des bactériophages ARN F-spécifiques



Structure des NoV

FRNAPH inclus dans les réglementations australiennes et américaines pour contrôler la qualité microbiologique des coquillages

Purification des huîtres contaminées par des norovirus



UFP : Unité Formant Plage (FRNAPH infectieux).

Lors de la dépuraison des huîtres à échelle industrielle (tests chez Spéciales Gillardeau) :

- Profils de dépuraison similaires entre génomes de FRNAPH-II et génomes de norovirus
- Présence de génome viral **ne prédit pas toujours** la présence de particules infectieuses pour un virus données (cas des FRNAPH)
- Résultats confirmés par d'autres publications (CEFAS notamment) : Lowther et al., 2019; Younger et al. 2020; Gyawali et al. 2021

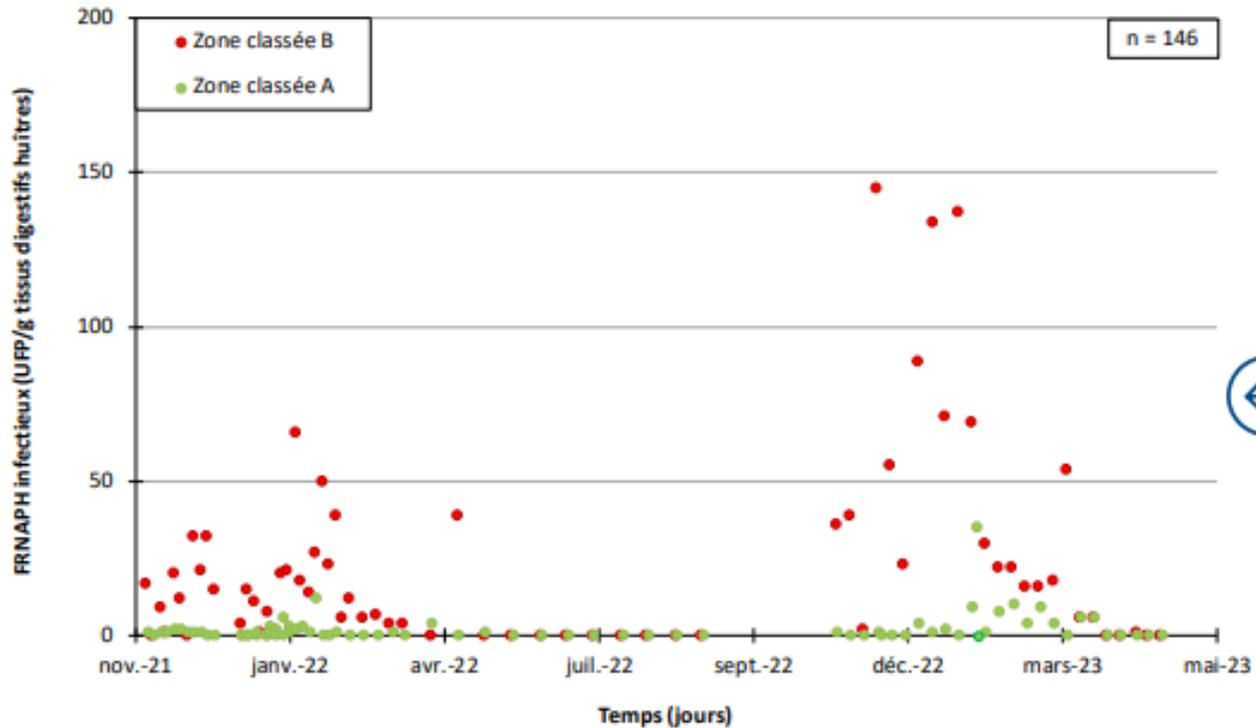
En conclusion

Validation scientifique robuste du critère « FRNAPH infectieux » comme indicateur de l'infectiosité des norovirus dans les coquillages toujours en cours

Néanmoins

- Intégration de l'indicateur dans les procédés internes d'entreprises tels que Spéciales Gillardeau : purification des huîtres jusqu'à extinction du signal FRNAPH infectieux pour libération des lots sur le marché => pas de retours clients négatifs
- Pour des huîtres significativement influencées par une pollution fécale d'origine virale : durée de purification nécessaire de 15 à 20 jours

Détermination d'un seuil en FRNAPH infectieux dans les huîtres



Confirmation de l'impact du classement sanitaire : pollution d'origine fécale supérieure en zone B par rapport à une zone A

Saisonnalité de la pollution, confirmant le besoin d'une surveillance uniquement de novembre à avril sur des zones à risque norovirus

=> Etude relancée pour la saison hivernale 2023-2024

Déterminer un seuil sanitaire en FRNAPH infectieux pour la protection du consommateur lors de la consommation d'huîtres (lien FRNAPH et norovirus infectieux)

50 UFP/g seuil fixé en Australie pour la fermeture et l'ouverture des zones de production conchylicole

Etude de la détoxification naturelle de moules méditerranéenne contaminée par des toxines lipophiles – Projet DETOX

Table ronde « optimisation de la purification des coquillages »
Salon conchylicole de Vannes - 07/09/23, 14h-15h45



Présentation rapide des projets

Projet DETOX « Détoxification des coquillages contaminés par des biotoxines marines »
(2020-2023, FEAMP)

- 1 Synthèse bibliographique sur les procédés d'élimination des microalgues et biotoxines marines dans l'eau de pompage et sur les procédés de détoxification des coquillages
- 2 Rédaction d'un protocole de détoxification
- 3 Etudes pilotes sur 3 sites => étude de la cinétique de détoxification naturelle des coquillages

Objectif : réunir des résultats robustes et positifs en faveur de la détoxification de coquillages contaminées par des biotoxines marines

COMITÉ
NATIONAL
DE LA
CONCHYLICULTURE



Conclusions de la synthèse bibliographique axées sur les toxines lipophiles

Absorption des toxines dissoutes négligeable => traitement de l'eau de mer nécessaire seulement pour abattre les cellules algales toxiques

Filtration par berge ou eau souterraine bonne alternative à la filtration de sable suivie d'une filtration par cartouche ou ultrafiltration par fibre creuse

Temps de demi-vie pour l'AO entre 7 et 35 jours selon les conditions pour les moules en conditions contrôlées pour la détox en bassin/labo :

- Élimination plus rapide dans les moules et les huîtres de l'acide domoïque et des saxitoxines par rapport à l'AO
- Age des moules influence peu le taux de détoxification
- Température accélère le taux de détoxification (température minimale de 12°C assure un minimum d'activité métabolique des mollusques bivalves)
- Indépendamment de l'espèce animale étudiée et de la toxine détoxifiée => apport en nourriture non-toxique peut accélérer de manière significative la détoxification

Pour une future expérimentation : **tester un apport en nourriture non toxique et conduire l'expérimentation sur une durée au moins de 10 à jours pour les moules et les huîtres**

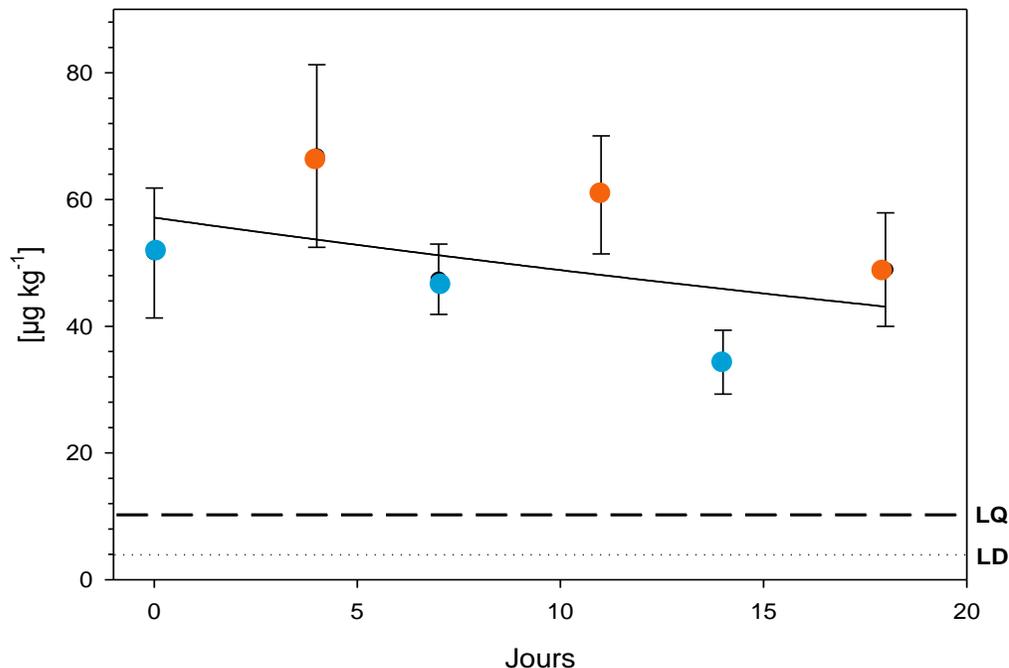
Résultats de l'expérimentation sur des moules méditerranéennes contaminées par des toxines lipophiles (TL) à Leucate

Durée : 19 jours (février 2022)

6 prélèvements de 10 lots de 50 individus

Analyses coquillages en TL par le LDA 13

Leucate (*M. galloprovincialis*)
[$\mu\text{g AO}_{\text{total}}$ eq. kg^{-1} chaire totale]
J0 = 4 février 2022



J0 : concentrations en TL < résultats REPHYTOX (entre 310,8 et 257,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ lors de la pêche des moules)

Différentiel de résultats entre les **prélèvements congelés (J0, J7 et J14)** et les **prélèvements non congelés (J4, J11 et J18)**.

Détoxification lente : temps de demi-vie de 45 jours pour toutes les données, **de 25 jours pour J0, J7 et J14** et de **32 jours pour J4, J11 et J18**.

Temps de demi-vie : temps nécessaire pour que la contamination en toxines dans le coquillage diminue de moitié.

Explications :

- Différence concentrations J0 : variabilité naturelle de la zone ou stress engendré par la mise en bassin avec évacuation des toxines contenues dans l'estomac des coquillages
- Longue période de contamination (début du bloom en décembre 2021), assimilation des toxines dans les tissus digestifs des coquillages => phase de détoxification lente

Conclusions et perspectives

Améliorations du protocole :

- Travailler avec une population d'étude homogène
- Durée minimale de l'expérimentation : 15 à 20 jours
- Echantillonner au minimum 7 lots de 30 animaux par prélèvement
- Utiliser des pallox/géobox comme bassin de détoxification à disposer chez les professionnels
- Ajouter la condition « alimentation des coquillages »
- Analyses en toxines lipophiles du matériel d'étude sur parc lors de la montée du bloom toxique
- Débuter l'expérimentation de détoxification au maximum 2 semaines après le début du bloom si la contamination est suffisamment élevée (au-dessus du seuil sanitaire) et persiste dans le milieu



Poursuite des recherches sur la détoxification des coquillages contaminés par des biotoxines marines avec étude de la faisabilité économique d'un tel procédé pour les entreprises conchylicoles.

COMITÉ
NATIONAL
DE LA
CONCHYLICULTURE

MERCI DE VOTRE ATTENTION !

Contact : a.laine@cnc-france.com

