

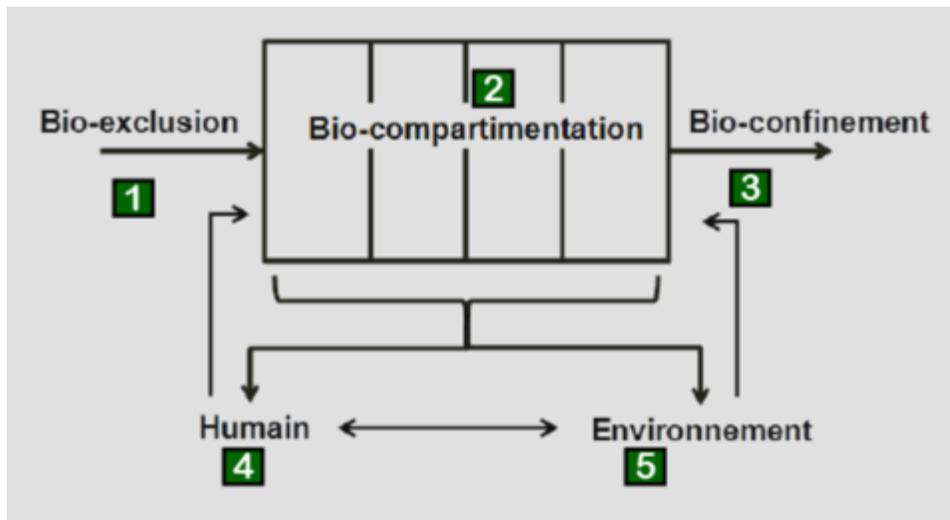
Mesures de biosécurité et inactivation des organismes pathogènes au sein d'installations conchylicoles

Christophe Stavrakakis
Plateforme Mollusques Marins de Bouin



Définition de la biosécurité

Mesures préventives et réglementaires visant à réduire les risques de diffusion et transmission de maladies infectieuses chez l'homme, l'animal et le végétal afin de :



1- Limiter l'introduction d'agents pathogènes

2- Limiter la dissémination au sein de l'unité d'élevage

3- Limiter la dissémination en dehors de l'unité d'élevage

4- Prévenir le risque de bio-contamination des humains

5- Prévenir toute bio-contamination environnementale

Bonnes pratiques zoo-sanitaires
Maîtrise de la qualité de l'eau

Les objectifs de la bio-sécurisation d'installations conchylicoles

Protéger les élevages de toute contamination

- Inactiver les pathogènes par la **désinfection de l'eau** en amont (OsHV-1, *Vibrio aestuarianus*, ...)
- Impact de la qualité de l'eau entrante (matières en suspension, matières organiques dissoutes, micro et macrofaune, ...)

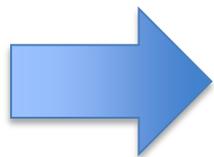
Désinfecter les effluents pour éviter la propagation d'une infection

- Inactiver les pathogènes
- Prise en compte de la qualité des effluents (fèces, pseudo-fèces, cellules micro-algales, débris, ...)

Préserver la biodiversité locale

- Inactiver les gamètes et larves d'huîtres (production d'huîtres tétraploïdes)
- Inactiver les cellules micro-algales « non endémiques »

La bio-sécurisation via la maîtrise de la qualité de l'eau



Etudes de procédés de traitement des eaux en conditions proches des conditions de fonctionnement d'une structure d'élevage fermée

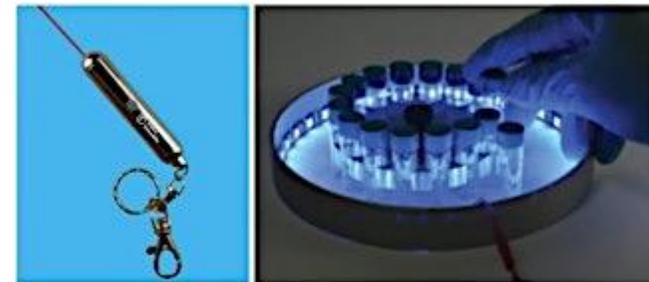
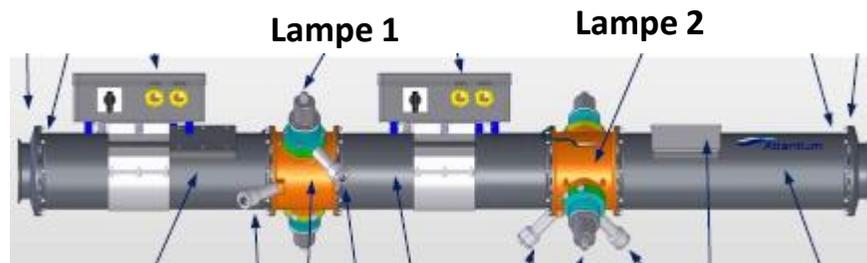
Chloration : en tant que méthode classique / de référence (*Ifremer*)

Ozonation : aquaculture, grands aquariums (*Ifremer*)

Filtration membranaire : industrie, stations de traitement des eaux (*Ifremer*)

Irradiation UV : aquaculture, majoritairement avec lampes Basse Pression (*Atlantium*, *Ifremer*, *IRTA*)

Irradiation laser : technologie émergente pour l'inactivation d'agents pathogènes (*UCC*)



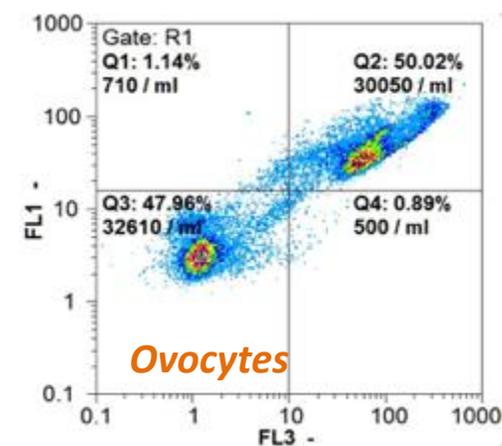
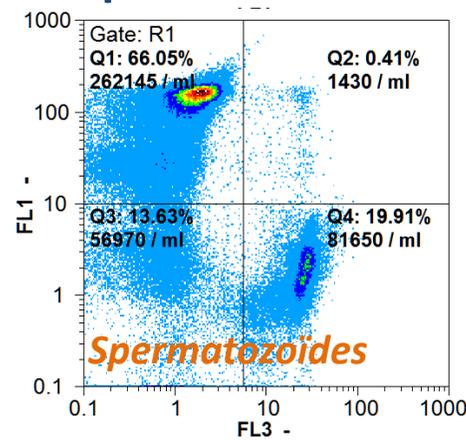
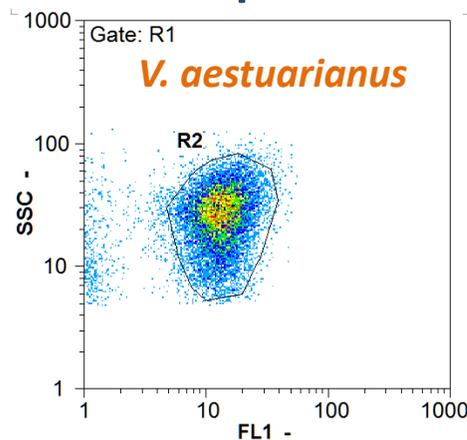
La bio-sécurisation via la maîtrise de la qualité de l'eau



Développements de méthodes d'analyses pour l'évaluation des performances des procédés étudiés

La Cytométrie de flux

- Bactéries pathogènes
- Gamètes
- Cellules microalgues



La PCR quantitative

- Herpes virus OsHV-1

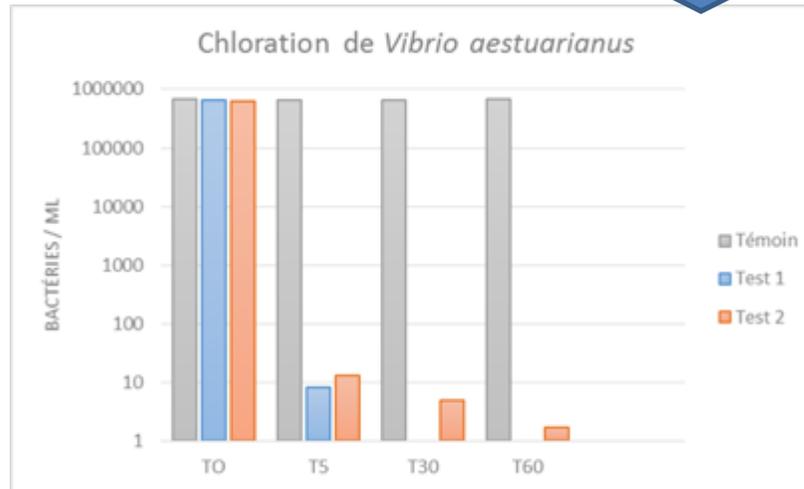
Les tests biologiques

- Gamètes (tests de fécondations croisées)
- Larves (remise en élevage)
- Herpes virus (tests de virulence et suivi de la mortalité)
- Tests microbiologiques (remise en culture) pour *Vibrio aestuarianus*



La chloration

Chloration				
	OsHV-1	Vibrio aestuarianus	Gamètes	Larves 24h-48h
Performances	Non évalué	+++	+++	++
Dose requise	-	10 mg/l chlore actif	10 mg/l chlore actif	10 mg/l chlore actif

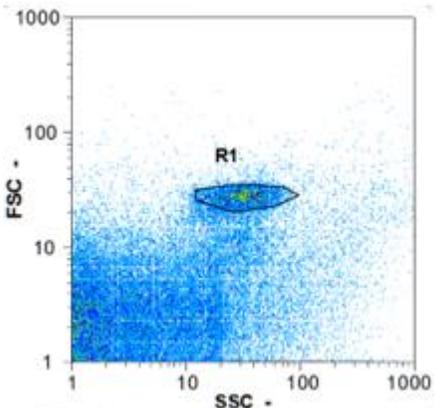


5 log d'abattement après 5 minutes de traitement, soit un rendement d'inactivation de 99,999 %

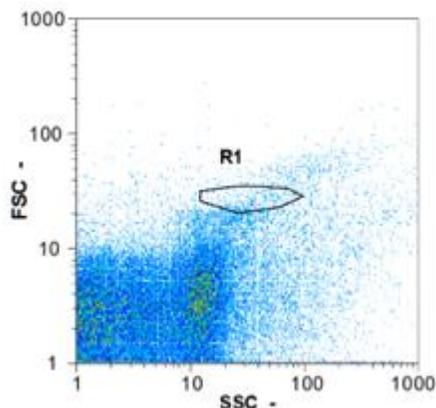
L'ozonation

Ozonation

	OsHV-1	<i>Vibrio aestuarianus</i>	Gamètes	Larves 24h-48h
Performances	+++	+++	+++	++
Dose requise	1 mg/l O ₃	1 mg/l O ₃	1 mg/l O ₃	1 mg/l O ₃

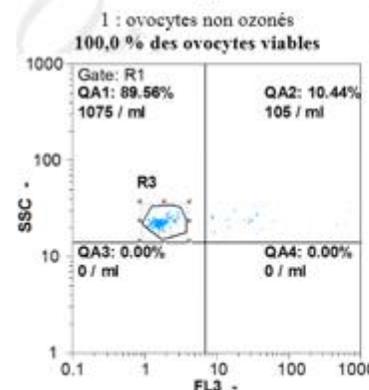
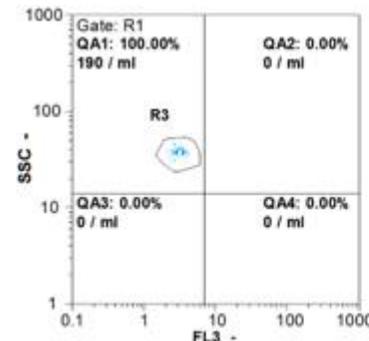


1 : spermatozoïdes non ozonés

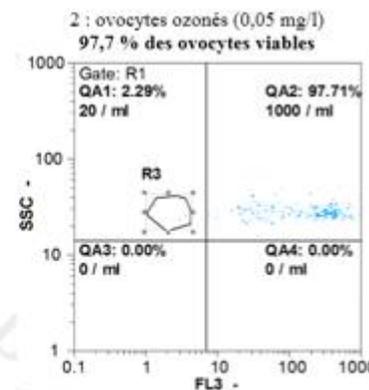
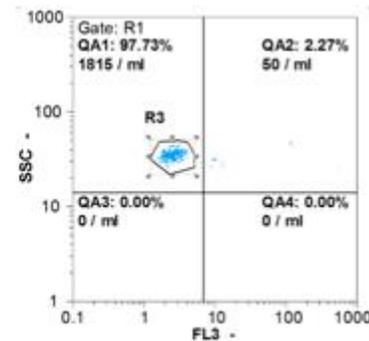


2 : spermatozoïdes ozonés (0,06 mg/l)

Cytométrie en flux pour vérifier les performances de traitement



3 : ovocytes ozonés (0,4 mg/l)
89,6 % des ovocytes viables



4 : ovocytes ozonés (0,7 mg/l)
2,3 % des ovocytes viables

→ Spermatozoïdes et ovocytes : inactivation complète dès 1 mg/l d'ozone, confirmée par la réalisation de fécondations croisées

La filtration membranaire

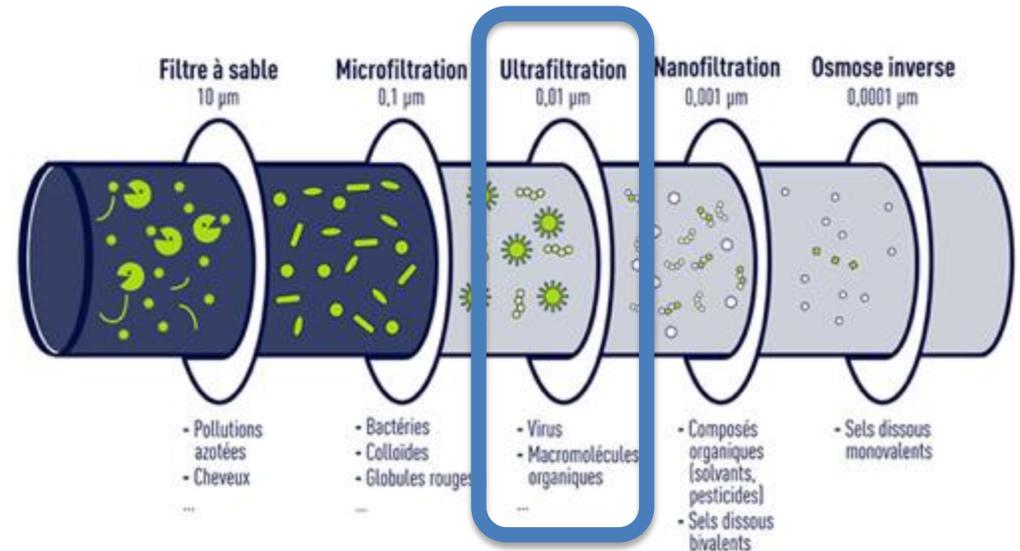
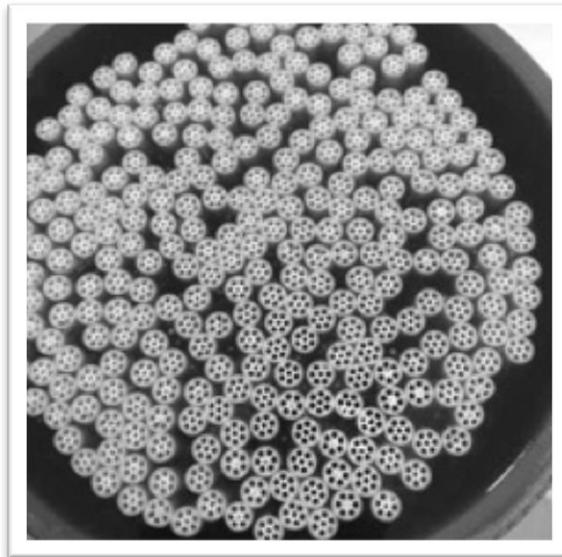
Membrane : barrière mince qui, par l'application d'une différence de pression, arrête ou laisse passer des substances entre les deux milieux qu'elle sépare



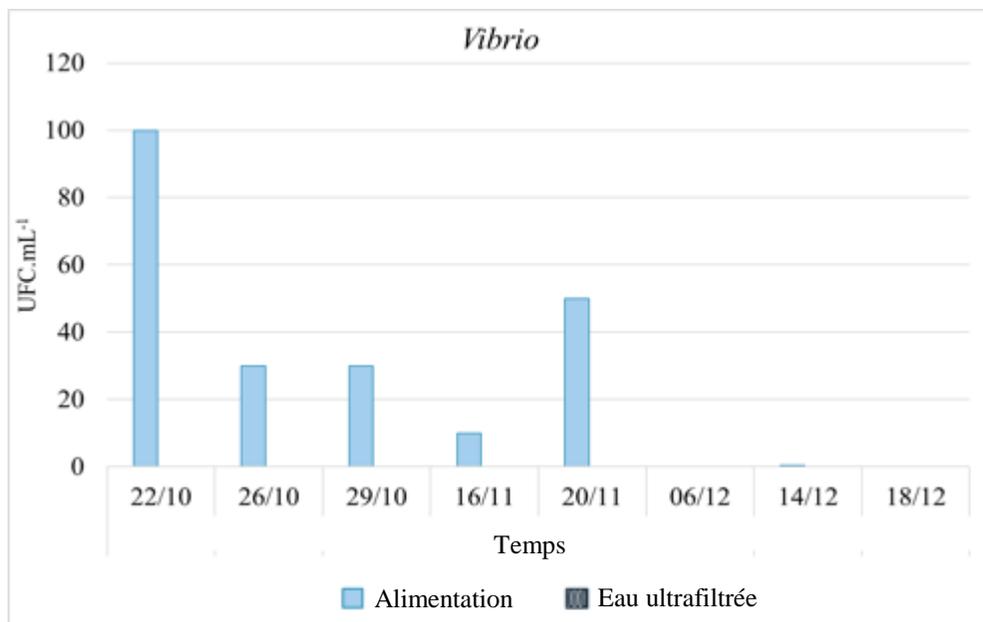
Traitement en continu, pas d'utilisation de réactif



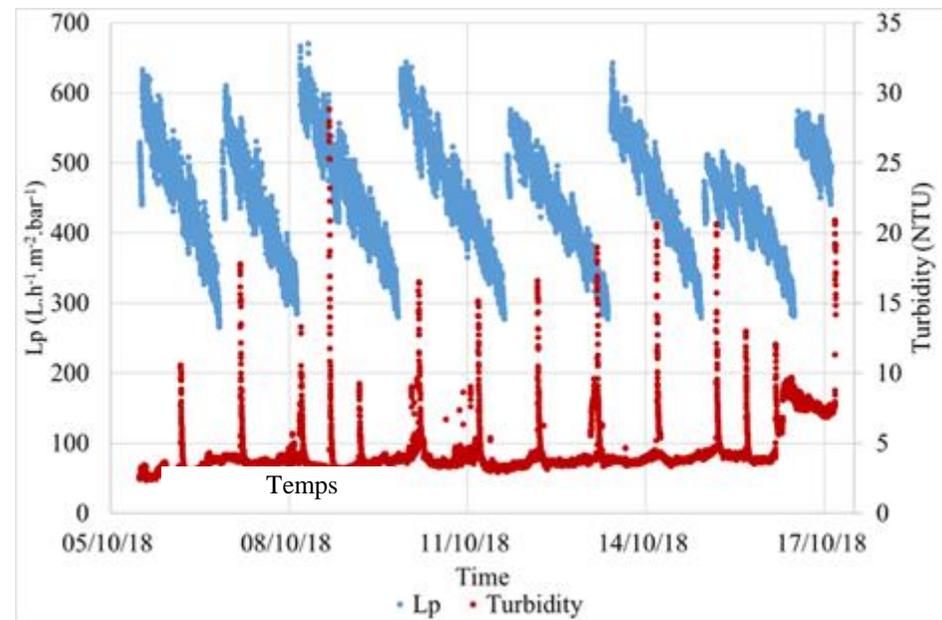
Accumulation de particules à la surface de la membrane : **colmatage**



La filtration membranaire : rétention de bactéries du genre *Vibrio*



Concentration en *Vibrio* < seuil de détection
quelle que soit la concentration dans l'alimentation



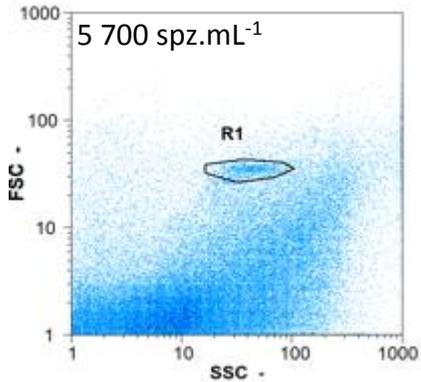
$J = 60 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ et $t_{\text{filtration}} = 60 \text{ min}$
1 rétrolavage essoré tous les 5 rétrolavages

➔ La protection des huîtres vis-à-vis de ces bactéries potentiellement pathogènes, est validée à **échelle semi-industrielle**

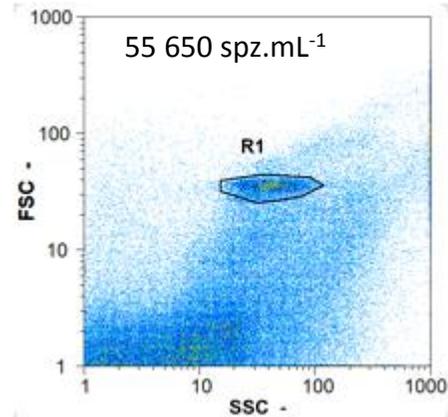
➔ La stabilité du procédé est validée face au colmatage généré par la filtration d'eau de mer

La filtration membranaire : rétention de gamètes

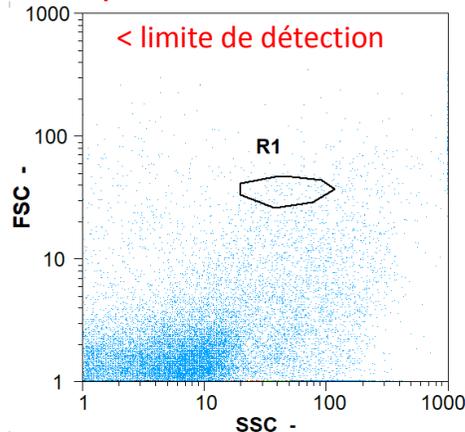
Avant filtration



Rétrolavage

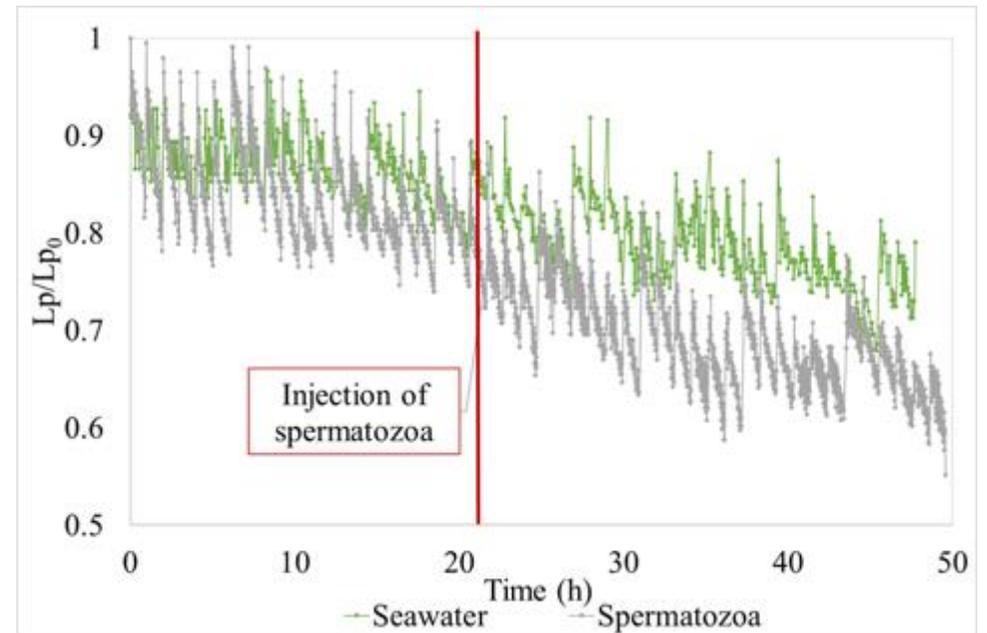


Après ultrafiltration



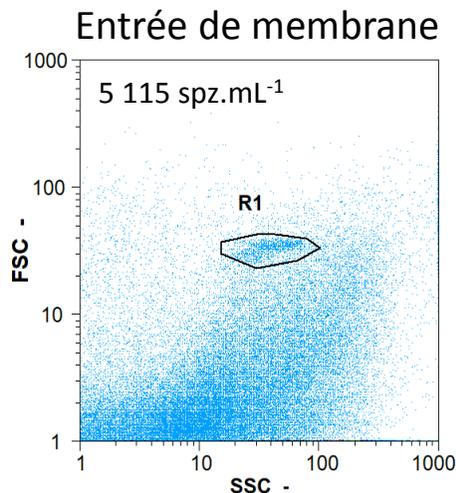
Suivi de la stabilité du pilote

Colmatage modéré lors du traitement
Récupération des performances initiales



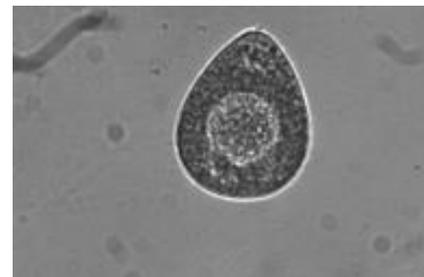
La filtration membranaire : rétention de gamètes

Spermatozoïdes
Spermatozoïdes
détruits par les
RLess



Ovocytes

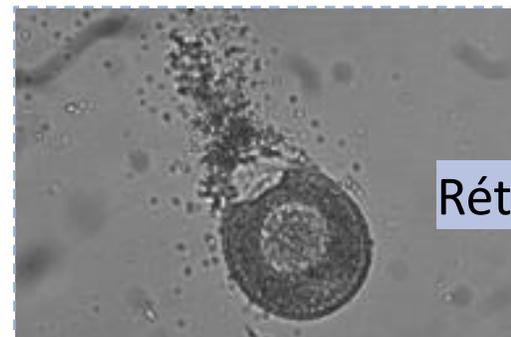
50 % des ovocytes endommagés après un RLess



Entrée de membrane



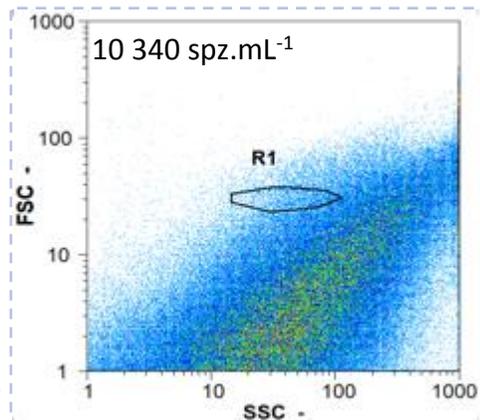
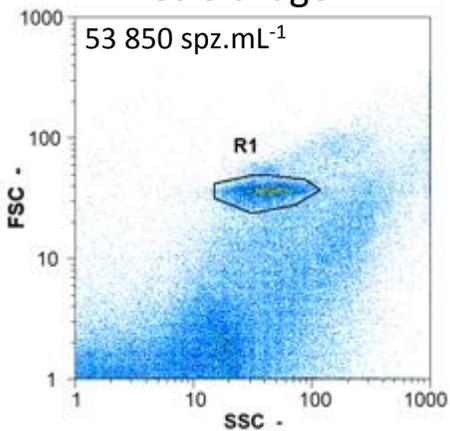
Rétrolavage



Rétrolavage essoré

Rétrolavage

Rétrolavage essoré

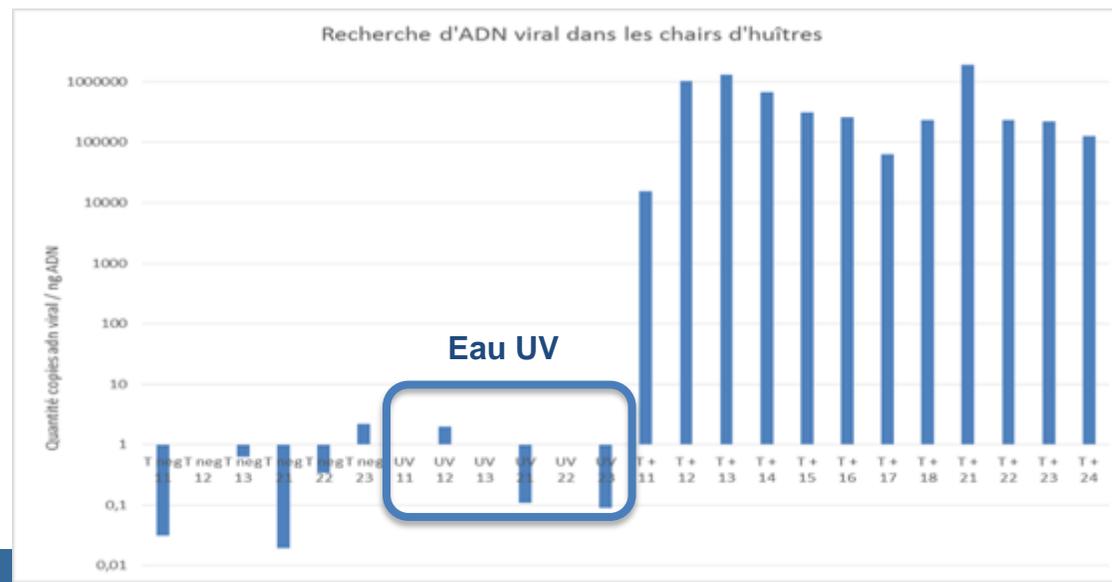


L'irradiation UV basse pression

Emission monochromatique : longueur d'onde germicide de 253,7 nm

Rayonnement UV basse pression				
	OsHV-1	<i>Vibrio aestuarianus</i>	Gamètes	Larves 24h-48h
Performances	+++	+++	++	++
Dose requise	Minimum 42 mJ/cm ²			

→ Recherche d'ADN viral (dans les tissus d'huîtres stabulées dans l'eau traitée)

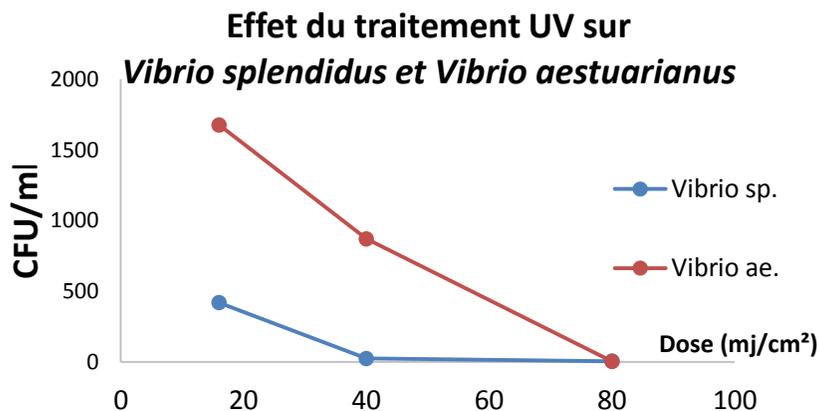


L'irradiation UV moyenne pression pour la protection des élevages

Atlantium / Ifremer

Inactivation de *Vibrio splendidus* et *Vibrio aestuarianus*

- Conditions expérimentales :
 - Concentration testées : 10^5 bactéries/ml
- Suivi :
 - Remise en culture des prélèvements de 10 ml filtrées sur filtres $0,22\mu$ sur milieu spécifique TCBS Agar (48h à 20°C)



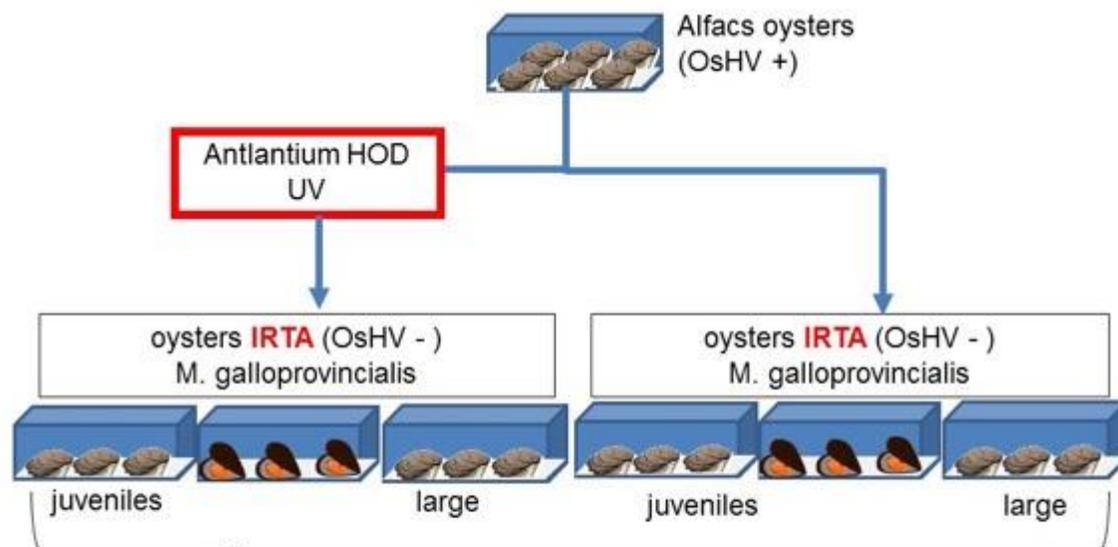
Dose (mj/cm ²)	Inactivation (log)
16	3
40	4
80	5

Dose (mj/cm ²)	Inactivation (log)
16	2
40	3
80	5

L'irradiation UV moyenne pression pour la dépuraction de coquillages

Atlantium (Israel) / Institute of Agrifood Research and Technology, IRTA (Spain)

Inactivation du virus OsHV-1



Samples collected post-exposure at 0, 8, 24, 48 and 72hrs

½ of each animal sampled, fixed in 100% EtOH → OsHV DNAP PCR

½ of each animal sampled, fixed in RNeasy → RT-qPCR (3 host genes + 3 viral genes)

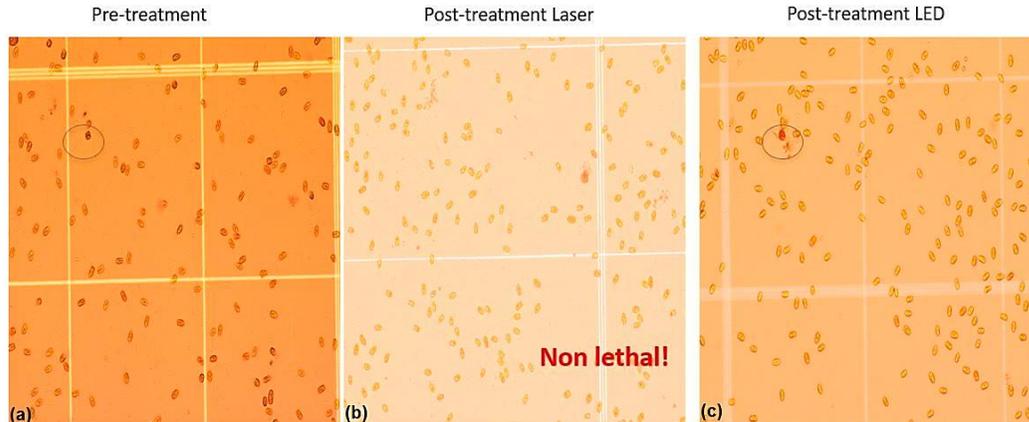
Pas d'ADN viral détecté en aval du système UV HOD, stabilité des conditions de fonctionnement

Thérapie photodynamique antimicrobienne pour l'inactivation d'agents pathogènes

University College Cork, UCC (Ireland)

Inactivation du virus OsHV-1 au sein des cultures de microalgues fourrages grâce à l'irradiation par des sources laser ou LED bleues

Inactivation de la bactérie *Vibrio spp* dans l'eau de mer



<i>Vibrio spp.</i>	LED Curcumin (n = 3)	LED Eosin Y (n = 3)	Laser MB (n = 3)	Control (n = 3)
% prevalence Pre-treatment	67 % (2/3)	100% (3/3)	100% (3/3)	100% (3/3)
% prevalence Post-treatment	67 % (2/3)	67 % (2/3)	0% (0/3)	100% No aPDT conducted

Pas d'impact négatif de l'irradiation laser sur une culture de la microalgue *Tetraselmis suecica*

Inactivation totale par la technologie Laser

Conclusions

- **Plusieurs techniques disponibles avec leurs limites, dont le choix dépend de l'objectif du traitement (type de cible, débit, qualité d'eau, traitement amont ou aval, ...)**
- **Les traitements oxydatifs de type chloration / ozonation** produisent des sous-produits de désinfection en matrice eau de mer dont certains sont connus pour être toxiques pour les organismes aquatiques (ex.: bromoforme)
- **L'irradiation UV** est limitée par la qualité de l'eau à traiter mais montre des performances satisfaisantes pour l'inactivation des agents pathogènes de l'huître creuse *Crassostrea gigas*. Les systèmes équipés de lampes moyenne pression et autorégulés permettent de mieux maîtriser les conditions de désinfection
- **La filtration membranaire**, connue dans d'autres secteurs, semble garantir une meilleure sécurisation des élevages en amont et en aval mais impose la gestion des eaux de rétrolavage
- **L'irradiation laser** permet d'inactiver les agents pathogènes ciblés dans le projet au sein des cultures de microalgues fourrages et dans l'eau, mais le développement de cette technologie reste à réaliser pour des applications en conditions réelles.

Merci de votre attention

