PROJET NOVLESS

–

Efficacité de la technologie « colonne à dépression » pour extraire les particules virales (norovirus) de l'eau et des coquillages

–

Porteur de projet :

Syndicat Mixte du Bassin de Thau

Partenaires du projet :

Comité Régional de Conchyliculture de Méditerranée, ColDep, IAGE, Station Méditerranéenne de l'Environnement Littoral, Laboratoire Vétérinaire du Département de l'Hérault

Financeurs du projet :

DLAL FEAMPA, Région Occitanie, Département de l'Hérault, Sète Agglopôle Méditerranée

PROJET COFINANCE PAR LE FONDS EUROPEEN POUR LES AFFAIRES MARITIMES, LA PECHE ET L'AQUACULTURE

Table des matières

1 Contexte et objectifs 1

1.1 Contexte général 1

1.2 TIAC à norovirus en France et implication sur le bassin de Thau 1

1.3 Points marquants pour le bassin de Thau 2

Un mécanisme de contamination invariant 2

Un site vulnérable soumis au changement climatique 2

La crise 2025–2026 : l'épisode le plus long jamais enregistré à Thau 2

Un impact économique cumulé et une filière fragilisée 3

1.4 Le procédé VAL AQUA (COLDEP) 3

1.5 Détection des norovirus : méthodes de référence 3

1.6 Objectifs du travail 4

2 Protocoles : Méthodes, analyses et traitements statistiques 4

2.1 Site d'expérimentation et déroulement des expérimentations 4

2.2 Unité pilote 4

2.3 Récupération et concentration des norovirus 5

2.4 Détection/dénombrement des NoV 5

2.5 Contamination des coquillages 5

2.6 Expérimentations système ColDep 6

Vérification du fonctionnement du pilote 6

Eau + NoV 6

Coquillages + NoV 6

Contrôles 7

Concentrats issus de l'extraction VAL 7

2.7 Physico-chimie 7

2.8 Analyse et traitements statistiques 7

2.9 Adaptations au protocole 7

3 Résultats 9

3.1 Eau + NoV (Eau_NoV – durée 120 min) 9

3.1.1 Contamination initiale 9

3.1.2 Cinétique de décroissance 9

3.1.3 Analyse statistique 9

3.2 Huître + NoV (Huître_NoV – durée 540 h) 10

3.2.1 Vérification de la contamination initiale (bassin CONTA) 10

3.2.2 Cinétique de dépuration — matrice : chair des huîtres 11

3.2.3 Analyse statistique — matrice : chair des huîtres 11

3.2.4 Mesure complémentaire — matrice : eau des bassins 12

3.3 Analyse par groupe génomique NoV GI et NoV GII 13

3.3.1 Eau_NoV : effet VAL significatif sur GI et GII, avec dominance de GII 13

3.3.2 Huître_NoV : GII quasi-exclusif, GI indétectable dans près de 60 % des échantillons VAL 14

3.4 Extraction des norovirus de l'eau contaminée et Bilan de matière 14

3.5 Estimation de la mortalité dans les expérimentations Huîtres + NoV 15

4 Discussion, Conclusions, Perspectives *16*
4.1 Efficacité du dispositif VAL sur les norovirus libres en eau de mer **16**
4.2 Limites du dispositif VAL sur les norovirus bioaccumulés dans les huîtres **16**
4.3 Réflexion réglementaire : qu'impliquent ces résultats ? **17**
4.3.1 Le VAL ne constitue pas une procédure de purification accélérée au sens réglementaire 17
4.3.2 Niveaux de contamination élevés, décroissance lente : un enjeu sanitaire réel 17
4.3.3 Une voie réglementaire alternative : l'action préventive sur l'eau 17
4.4 Perspectives d'application : dimensionnement et déploiement du dispositif VAL **18**
4.4.1 Usages en systèmes fermés ou semi-fermés 18
4.4.2 Éléments de dimensionnement 18
4.4.3 Scénario d'unité collective : fixe ou mobile ? 18
4.5 Limites de l'étude et perspectives de recherche **19**
5 Conclusions *21*
6 Bibliographie *22*

Liste des figures

Figure 1 – Évolution de la charge totale en norovirus (copies/L) dans les bassins CTRL et VAL au cours de l'expérience Eau_NoV (données agrégées Manipe 1 + Manipe 2 ; moyenne ± écart-type des réplicats échantillons ; axe X en minutes ; échelle logarithmique). 10

Figure 2 – Évolution de la charge totale en norovirus dans les bassins CTRL et VAL au cours de l'expérience Huître_NoV (données agrégées Manipe 1 + Manipe 2 ; moyenne ± écart-type des réplicats échantillons ; échelle logarithmique). A : matrice chair d'huître (copies/g). B : matrice eau du bassin (copies/L) 13

Figure 3 – Évolution de la concentration en norovirus GI (A), GII (B) et proportions des deux géno-groupes (C) dans l'expérimentation Eau + NoV pour les bassins VAL et CTRL. (Données agrégées Manipe 1 + Manipe 2 ; moyenne ± écart-type des réplicats échantillons ; échelle logarithmique). A : matrice eau (copies/L), B : matrice eau du bassin (copies/L) et C : matrice eau (pourcentage). 14

Figure 4. Bilan de matière des norovirus totaux et par géno-groupes (nombre moyen et ecart-type de norovirus) pour les expérimentations Eau + NoV. Comparaison des T_0, T_{120} et Concentrat pour les deux expérimentations différenciées par le volume d'inoculum d'eaux usées (cf. section 2.9)..... 15

Liste des tableaux

Tableau 1 **– Historique des TIAC à norovirus en France et implication du bassin de Thau (2002–2026)** 1

Tableau 2 **– Tests de Mann-Whitney par point temporel (VAL vs CTRL) – Eau_NoV – données agrégées (Manipe 1 + Manipe 2)** 9

Tableau 3 **– Niveaux de contamination dans le bassin CONTA par manipe et par temps** 11

Tableau 4 **– Tests de Mann-Whitney par point temporel (VAL vs CTRL) – Huître_NoV – matrice : chair d'huître – données agrégées (Manipe 1 + Manipe 2)** 12

Tableau 5 **– Tests de Mann-Whitney par point temporel (VAL vs CTRL) – Huître_NoV – matrice : eau du bassin – données agrégées (Manipe 1 + Manipe 2)** 12

Tableau 6 **– Analyse désagrégée NoV GI et NoV GII par expérience (test de Mann-Whitney global VAL vs CTRL, T > 0 pour Eau_NoV, tous temps pour Huître_NoV, analyses LDV34)** 13

Tableau 7 **– Éléments indicatifs de dimensionnement du dispositif VAL en contexte conchylicole** 18

1 Contexte et objectifs

1.1 Contexte général

Les contaminations des milieux de production conchylicole par les norovirus (NoV) en période d'épidémie de gastro-entérites aboutissent à des interdictions de commercialisation des coquillages, impactant durement et de façon récurrente la profession. Aujourd'hui, il n'existe pas de réglementation *norovirus* imposant un abattement dans les rejets des stations d'épuration des eaux usées (STEU), ni de surveillance systématique des eaux superficielles des milieux récepteurs. Les NoV ne sont recherchés qu'à l'occasion de TIAC (Toxi-Infections Alimentaires Collectives), donc *a posteriori*, ce qui ne permet pas d'anticiper ni de prévenir les crises sanitaires.

Le bassin de Thau, premier site conchylicole méditerranéen français avec environ **460 entreprises** produisant huîtres et moules, est l'un des sites les plus exposés et les plus documentés en matière de contamination récurrente aux norovirus. Depuis le début des années 2000, cet écosystème lagunaire subit des fermetures sanitaires répétées, systématiquement concentrées en période hivernale, coïncidant avec les pics épidémiques de gastro-entérites dans la population générale et les épisodes de fortes précipitations entraînant des débordements du réseau d'assainissement dans la lagune.

1.2 TIAC à norovirus en France et implication sur le bassin de Thau

Les norovirus constituent la principale cause virale identifiée dans les TIAC liées aux coquillages en France. Chaque année, entre **20 et 120 TIAC à norovirus** sont notifiées à Santé Publique France, représentant 6 à 23 % de l'ensemble des TIAC déclarées, avec un pic systématique entre décembre et mars (~50 % des cas annuels). La principale source d'infection suspectée est la consommation de coquillages crus, notamment les huîtres.

Tableau 1 ***– Historique des TIAC à norovirus en France et implication du bassin de Thau (2002–2026)***

Année	TIAC NoV France	% TIAC tot.	Thau impliqué ?	Détail / Source
2002–2003	Épisode fondateur	—	OUI – cas référence	TIAC à Paris liées aux huîtres de Thau ; alerte RASFF >200 cas en Italie. SPF/BEH 2003
2005–2006	38 TIAC / 205 cas sur 1 mois	—	OUI	38 TIAC norovirus liées à des huîtres dont celles de Thau. ANSES/Ifremer
2009–2010	Pic hivernal	—	OUI	Surveillance spécifique zone Thau ; contamination virale documentée. Ifremer
2010–2011	Pic hivernal	—	OUI	Arrêté préfectoral 06/01/2011 : interdiction récolte et commercialisation des coquillages de Thau. ANSES
2015	50–100 TIAC virales/an	~7 %	Non documenté	Pas d'arrêté spécifique retrouvé pour Thau en 2015. SPF
2016	~200 TIAC virales (pic)	~14 %	Non documenté	Forte augmentation nationale ; Thau non cité. SPF
2017	~109 TIAC virales	~8 %	Non documenté	Retour à niveau 2015. SPF
2018	215 TIAC virales (pic)	~13 %	OUI	Arrêté préfectoral fermeture Thau dès le 15/02/2018 ; rappel Distrimers (huîtres et moules de Bouzigues). Process Alimentaire / Préfecture 34
2019	~120 TIAC (dont 141 en déc. pour huîtres seules)	~13 %	OUI	Arrêté préfectoral 23/12/2019 : fermeture zones 34.38/34.39/34.40 ; rappel Distrimers huîtres de Bouzigues. 179 TIAC au total sur dec-jan, 23 zones conchylicoles fermées dans 7 dpts. Ostrea.org / Process Alimentaire

2020	~40–60 TIAC (baisse COVID)	~6 %	Non documenté	Impact COVID sur la déclaration. SPF
2021	~70–90 TIAC	~8–10 %	Non documenté	Période sous influence COVID. SPF
2022	39 % des TIAC virales liées aux coquillages	~10–15 %	OUI	Arrêté préfectoral 30/12/2022 : fermeture Thau 28 jours. Pluies intenses du 22/12 incriminées. Pertes > 5 M€ pour 500 producteurs. Hérault Tribune / France Bleu
2023	Milliers de cas (données urgences)	ND	⚠ Autres bassins	Bassins touchés : Arcachon, Morbihan, Manche, Loire-Atlantique, Vendée. Thau non cité. Académie Vétérinaire de France
2025–2026 ★	Crise majeure et prolongée	ND	OUI – épisode le + long	Arrêté préfectoral 30/12/2025 : fermeture zones 34.38, 34.39, 34.40. Pluies 22/12/2025 + déversements eaux brutes à Bouzigues et Sète. Levée le 17/02/2026 (49 jours de fermeture). Pertes estimées à plusieurs millions d'euros pour les 460 conchyliculteurs. Plan d'aides : 1,5 M€ (Région + Dpt + Sète Agglopôle). Cause structurelle : station d'épuration des Eaux Blanches (65 M€, inaugurée juin 2025) insuffisante ; réseau sud sous-dimensionné. Travaux prévus fin 2026. Préfecture Hérault / France 3 / SMBT

Non documenté : absence de données publiées spécifiquement identifiables pour Thau, ne signifie pas l'absence de TIAC. ★ : épisode record en durée. Sources : SPF, ANSES, Ifremer, Préfecture de l'Hérault, Hérault Tribune, France 3, SMBT.

1.3 Points marquants pour le bassin de Thau

Un mécanisme de contamination invariant

Tous les épisodes documentés partagent le même enchaînement : **(1)** un épisode de fortes précipitations provoque des débordements du réseau d'assainissement dans la lagune ; **(2)** dans un contexte d'épidémie hivernale de gastro-entérites, les eaux usées véhiculent une charge élevée en norovirus ; **(3)** les huîtres et moules, organismes filtreurs, bioaccumulent ces virus dans leurs tissus digestifs ; **(4)** la déclaration de Toxi-Infection Alimentaire Collective (TIAC) ; **(5)** la détection dans les coquillages déclenche l'arrêté préfectoral d'interdiction de récolte et de commercialisation.

Un site vulnérable soumis au changement climatique

Depuis 2002, le bassin de Thau a connu au moins **sept épisodes majeurs documentés** de fermeture pour norovirus (2002/03, 2005/06, 2009/10, 2010/11, 2018, 2019, 2022, 2025/26). Ces épisodes ont en commun d'être survenus lors de l'épidémie hivernale de gastro-entérite virale, après des épisodes de fortes précipitations et d'être liés à une contamination par plusieurs virus entériques. Les échanges avec la mer sont restreints aux seuls canaux de Sète, ce qui confère à la lagune de Thau le caractère confiné de cette masse d'eau. Ces événements pluvieux sont également associés à des surcotes marines qui ne permettent pas des échanges mer-lagune normaux, ajoutant un frein au renouvellement de la masse d'eau et son écoulement vers la mer. La conjoncture des événements pluvieux très intenses, lors des périodes épidémiques de GEA, des surcotes marines et des échanges restreints expliquent en grande partie la vulnérabilité de ce site de production conchylicole notamment aux pollutions microbiologiques.

La crise 2025–2026 : l'épisode le plus long jamais enregistré à Thau

Déclenché le **30 décembre 2025** à la suite de fortes pluies et de déversements d'eaux brutes à Bouzigues et Sète, l'arrêté de fermeture sanitaire des zones conchylicoles 34.38, 34.39 et 34.40 n'a

été levé que le **17 février 2026**, soit une durée de **49 jours consécutifs d'arrêt total** de l'activité — un record historique pour ce bassin. Cette fermeture a frappé les 460 conchyliculteurs au moment précis où ils réalisent la majorité de leur chiffre d'affaires annuel (fêtes de fin d'année). Les pertes financières directes sont estimées à **plusieurs millions d'euros**, avec une perte d'activité atteignant **50 % sur la vente directe et 70 à 90 % sur l'export** même après la levée de l'interdiction, en raison de l'effondrement de la confiance des consommateurs.

Cette crise a donné une résonance particulière aux travaux menés dans le cadre du projet **NovLess**, dont les résultats ont été présentés le 19 mars 2026 par le Syndicat Mixte du Bassin de Thau (SMBT). Elle a également relancé le débat sur la **mise à l'abri préventive des huîtres** — une demande portée depuis plusieurs années par les professionnels — comme mécanisme de protection en amont des crises sanitaires.

Un impact économique cumulé et une filière fragilisée

Au-delà des pertes financières immédiates mesurables (interdiction de commercialisation, surstockage, mortalité des animaux), chaque épisode génère un **effet réputationnel durable** : les clients, notamment à l'export, ne reviennent pas immédiatement à la reprise des ventes. Sur le long terme, la répétition des crises fragilise la viabilité économique des plus petites exploitations et compromet la transmission des entreprises familiales. Les indemnisations publiques, bien que réelles, restent soumises aux règles européennes *de minimis* qui en limitent le montant et la flexibilité.

1.4 Le procédé VAL AQUA (COLDEP)

Le procédé VAL AQUA de COLDEP repose sur une action mécanique de **flottation sous vide (vacuum airlift)** permettant d'extraire les particules fines présentes en suspension dans l'eau de mer, notamment les particules virales. Ce dispositif a déjà démontré des performances remarquables dans le domaine de la bio-sécurisation de l'eau en conchyliculture et aquaculture :

Sur le plan viral : une réduction de 4 ordres de grandeur (de 10^7 à 10^3 particules/ml) de la charge en nodavirus, agent pathogène majeur pour les poissons marins.

Sur le plan bactérien : une réduction globale de 99,9 % des charges bactériennes, avec une décontamination efficace des agents pathogènes d'intérêt en conchyliculture (huîtres, moules, palourdes), permettant aux éleveurs de sécuriser leur activité face aux contrôles sanitaires réglementaires.

Sur la turbidité et la clarification : élimination jusqu'à 99 % des particules fines inférieures à 30 µm en eau de mer, rendant l'eau translucide sans filtre ni colmatage, comme en témoignent plusieurs références opérationnelles en France et à l'international.

Dans le contexte du projet NovLess, le procédé VAL AQUA est testé spécifiquement pour la première fois contre les norovirus humains dans une eau de mer et dans la matrice huître.

1.5 Détection des norovirus : méthodes de référence

En raison de l'absence de système de culture cellulaire robuste en routine, la détection des norovirus repose quasi-exclusivement sur des **méthodes moléculaires ciblant l'ARN viral**, principalement la **RT-qPCR**, qui constitue aujourd'hui la méthode de référence (norme **ISO 15216-1:2017**) après une étape de concentration des virus dans les matrices aqueuses ou tissulaires. Des approches de **RT-digital PCR (RT-dPCR)** sont également de plus en plus utilisées, offrant une quantification absolue sans courbe standard. D'autres approches, telles que l'utilisation de virus indicateurs (ex. bactériophages

ARN F-spécifiques), peuvent compléter l'analyse mais restent des indicateurs indirects de la présence de norovirus infectieux.

1.6 Objectifs du travail

L'objectif principal de ce travail est de **tester l'efficacité du système colonne à dépression VAL AQUA pour épurer et/ou extraire les norovirus** dans deux matrices distinctes :

(1) Eau de mer contaminée (Eau_NoV) : évaluer la capacité du dispositif à réduire la charge en particules virales libres dans une eau de mer, dans des conditions contrôlées de laboratoire sur 120 minutes.

(2) Huîtres contaminées (Huître_NoV) : évaluer si le dispositif accélère l'élimination des norovirus préalablement bioaccumulés dans la chair des coquillages, sur une durée de 540 heures (22,5 jours).

Ces travaux s'inscrivent dans le cadre du projet **NovLess**, soutenu par le DLAL FEAMPA Thau et sa bande côtière, et répondent directement aux besoins exprimés par la filière conchylicole du bassin de Thau face aux crises sanitaires récurrentes liées aux norovirus.

2 Protocoles : Méthodes, analyses et traitements statistiques

Protocole évalué : Le protocole ci-dessous élaboré par le comité technique du projet a été évalué par les services d'Ifremer et ajusté avec l'ensemble des remarques et commentaires formulés. Le comité de projet a appliqué ce protocole modifié pour mener les expérimentations ci-dessous. Cependant, d'autres adaptations ont dû être menées et sont présentées dans la section 2.9 ci-dessous.

2.1 Site d'expérimentation et déroulement des expérimentations

L'ensemble des expérimentations détaillées ci-dessous ont été menées à la Station Marine de l'Environnement Littoral (OSU-OREME), site de l'Université de Montpellier basé à Sète. Les infrastructures disponibles ont permis notamment de bénéficier d'eau de mer filtrée et traitée, d'un support logistique et technique et d'astreintes avec un personnel dédié.

Les expérimentations ont été menées sur la période épidémique norovirus (mi-novembre à mi-février) dans des conditions de températures correspondantes au milieu naturel (10°-13°C). Une veille épidémique sur les eaux usées brutes a permis de déclencher le démarrage de ces expérimentations en fonction de la charge virale ciblée.

2.2 Unité pilote

L'unité pilote est constituée d'un bassin d'un volume de 300 litres et d'une colonne à dépression (40L / 2m) dans laquelle circule l'eau du bassin (vacuum airlift). Cette technologie permet de combiner 3 fonctions clés : 1/ une circulation hydraulique, 2/ la régulation de gaz dissous et 3/ l'extraction particulaire.

L'unité pilote a été calibrée pour extraire un volume de 0.5 à 1 litre/heure correspondant aux conditions réelles observées chez les professionnels. L'eau de mer extraite est remplacée automatiquement (via un capteur flotteur) par de l'eau de mer filtrée pour maintenir le volume de l'enceinte constant.

Cette unité pilote est utilisée pour tester l'efficacité d'extraction des particules virales libres dans l'eau ou présentes dans des coquillages préalablement contaminés. L'unité est mise à disposition et opérée par la société COLDEP pour l'ensemble des expériences qui ont été menées.

2.3 Récupération et concentration des norovirus

Afin d'amender l'eau du bassin de l'unité pilote avec des concentrations suffisantes en norovirus, il a été nécessaire de concentrer les NoV à partir d'eaux usées. Les EU ont été collectées dans la STEU de Mèze soit en entrée (eau brute), soit en sortie de clarificateur (eau dégrillée/dessablée/déshuilée).

Un premier dénombrement par PCR digitale (dPCR) a permis de déterminer la concentration initiale en NoV et calculer la concentration nécessaire en NoV afin d'amender l'eau du bassin à hauteur de 10^5 unités génomiques (UG) / litres. Une dilution 1/100eme (1 :99, v :v) nécessite une concentration initiale en NoV de 1.10^7 UG pour 1 litre et par expériences (duplicat).

Les analyses sur les eaux usées menées par IAGE dans le cadre de cette étude montrent que la concentration moyenne de norovirus retrouvée dans les eaux usées est estimée à environ 1.10^6 UG/L et peut augmenter à 10^7 – 10^8 UG/L en période de pic épidémique. Cependant, la quantité de norovirus nécessaire pour mener ces expérimentations n'étant pas disponible directement depuis les eaux usées collectées, une étape de concentration de ces eaux usées a été réalisée à l'aide de l'unité pilote. Un volume de 300L d'eaux usées a été concentré pendant plusieurs heures. Cette étape a permis de récupérer 110 litres d'eau usée concentrée et les concentrats ont été récupérés dans le collecteur du système de colonne à dépression. Une titration de ces concentrats par dPCR a été réalisée avant et après concentration pour vérifier le bon fonctionnement de la colonne, et de connaître précisément le volume à ajouter pour atteindre la concentration voulue. Les concentrations en norovirus obtenues après cette phase sont présentées dans la section 2.9 de la partie Protocoles.

2.4 Détection/dénombrement des NoV

La détection des NoV des groupes GI et GII a été réalisée par dPCR sur la plateforme QIAcuity, permettant un dénombrement absolu des particules virales, sans ajout d'une gamme standard de concentration connue. Deux multiplex ont été utilisés, (i) un ciblant les NoV GI/GII et un gène de référence de l'huître (Rpl7, gène constitutif de l'huître) et (ii) un deuxième ciblant Norovirus GI, Norovirus GII et le Pepper Mild Mottle Virus (PMMoV, marqueur de contamination fécale humaine et servant de témoin d'extraction), pour l'analyse des huîtres et des eaux respectivement.

Brièvement, l'ARN des échantillons d'huître a été extrait à partir de lots d'huîtres congelées à l'azote, puis broyées, afin d'avoir un mélange homogène. Ensuite, une quantité de broyat a été pesée, puis l'ARN extrait à partir d'un kit commercial. La pesée permet de ramener précisément la concentration de NoV dans un gramme d'échantillon. Pour les eaux, chaque échantillon est homogénéisé puis, à l'aide d'un filtre, concentré. C'est à partir de ce concentrat que l'extraction se fait, à l'aide d'un kit commercial.

La limite de détection théorique de la méthode globale pour ces expérimentations est donnée à $2{,}13^E$+3 copies/g pour les huitres et $1{,}17^E$+4 copies/L pour les eaux.

En complément, la détection et la quantification des Norovirus GI et GII a été réalisée par le laboratoire départemental vétérinaire de l'Hérault avec les méthodes ISO/TS 15216-1 et 2 sur une sélection d'échantillons lors des différentes étapes du protocole.

2.5 Contamination des coquillages

La contamination préalable des lots de coquillages utilisés dans les expériences suit le protocole décrit par Maalouf et al 2011. Elle est réalisée dans les bassins type pallocks de 700L contenant un lot d'huître saine de taille marchande, calibre 2 à 3, diploïdes, issues d'un même lot d'origine et provenant de la production de la lagune de Thau.

1400 huîtres de calibre 2 à 3 (masse moyenne 80-85 g) soit environ 120 kg de coquillage ont été immergés dans une enceinte contenant 450 litres d'eau de mer filtrée et constamment bullée pour l'oxygénation et mélange du milieu. 50 L d'eau usées dont la concentration en NoV est préalablement déterminée, à minima ≥ 10^7 UG/L, par dPCR, ont été ajoutées aux 450 L d'eau de mer contenant les coquillages (dilution 1/10ème, v :v) pour une concentration finale en NoV de 10^5 à 10^6 UG/L. Au T0, avant ajout des norovirus, un premier prélèvement de 8 coquillages a été utilisé pour réaliser un dénombrement de NoV afin de vérifier que le lot de coquillages n'est pas contaminé par les norovirus.

Afin de s'assurer de l'efficacité de la contamination, des prélèvements en duplicat (2 x 8 coquillages) sont effectués à T18h et T36h. Les coquillages ne sont ni déplacés ni remplacés.

Pour les deux expérimentations impliquant des coquillages, le protocole de contamination a été répété avant chaque expérience à partir du même lot d'huître (soit 2800 individus nécessaires, de calibre 2 à 3, diploïdes, issues du même lot d'origine et élevé dans la lagune de Thau, quantités nécessaires pour atteindre les densités maximales en système de purification lors de ces expérimentations).

2.6 Expérimentations système ColDep

Vérification du fonctionnement du pilote

Le système VAL AQUA s'apparente à un écumeur et assure donc un traitement en passage libre. Ce système ne contient ni filtre ni seuils de coupure intrinsèque. Des essais préalables seront effectués pour valider le fonctionnement global du procédé en termes d'automatisme et de paramétrages. Il est anticipé que le pilote fonctionne sur une extraction de 0,5 L/h.

Eau + NoV

Le système pilote est rempli avec 297L d'eau de mer filtrée, amendée avec 3 litres de concentrat de NoV pour atteindre une concentration de 10^5 unités génomiques (UG) / litres. L'eau est homogénéisée pendant 10 minutes. Un premier prélèvement est effectué pour le T0 puis le système de purification VAL est mis en fonctionnement. Les prélèvements suivants sont réalisés à T5 min, T15 min, T30 min, T60 min et T120 min. La durée de l'expérience est basée sur le protocole et les résultats du projet Extravir (Nodavirus). A chaque pas de temps un prélèvement d'eau en duplicat (250 ml) du bassin est effectué pour dénombrement des NoV par dPCR. Le concentrat résultant de l'extraction par colonne à dépression sera analysé au Tfinal par soutirage quotidien du concentrat et poolage des échantillons.

Coquillages + NoV

Les coquillages (700 individus, ~60kg) préalablement contaminés au NoV sont immergés dans le bassin de 300L. Cette densité est basée sur le standard de charge maximale dans les systèmes de purification (Royaume-Uni : 1 tonne/5m3). Le prélèvement à T0 correspondant à celui réalisé à la fin des 36h de contamination n'est pas répété. Les prélèvements (8 huîtres) sont ensuite effectués à 24h, 48h, 96h, 144h, 192h et 240h (à affiner si purification plus rapide). Des prélèvements d'eau (250 ml) sont effectués au même pas de temps pour dénombrer les NoV libres dans l'eau. Les prélèvements d'eau et de coquillages sont ensuite analysés par dPCR. Des prélèvements supplémentaires de 12 huîtres à T0, T6, T14, T18 et T22 seront réalisés pour des analyses par méthode réglementaire (RT-PCR, ISO/TS 15216-2). Une extraction continue de la mousse concentrée sera effectuée avec une moyenne d'environ 0,5 L/h. Le remplissage du bassin d'expérimentation est automatisé, la compensation du volume extrait par échantillonnage du bassin contrôle est également

remplacée. Le nombre final d'individus après l'ensemble des prélèvements est supérieur à 500 individus soit > 50% de la population initiale.

Contrôles

Chaque expérimentation fait l'objet d'un contrôle mené en parallèle. Une enceinte de 300 litres munie d'un système de bullage reçoit les mêmes traitements (eau et eau+coquillages) dans les mêmes conditions expérimentales. Pour l'expérimentation "Eau", les prélèvements sont réalisés à T0, 30, 60 et 120 minutes. Pour l'expérimentation "Eau + coquillages" les prélèvements sont réalisés à T0, 2, 4, 8, 14, 22 jours.

Concentrats issus de l'extraction VAL

Les concentrats produits dans les expérimentations menées avec le système VAL sont échantillonnés lors du dernier prélèvement et la concentration en NoV de ces concentrats est déterminée par dPCR. Les expérimentations eau+coquillages, plus longues (22 jours) vont générer des volumes de concentrats plus importants. Un échantillonnage toutes les 12 heures permettra de suivre les NoV, qui ont été regroupés et analysés à la fin, sous forme d'un seul échantillon représentatif de tous les concentrats. Les échantillons seront prélevés avant stockage et chloration puis traités comme déchets biologiques.

2.7 Physico-chimie

La température des enceintes expérimentales (contrôle et pilote VAL) est maintenue à 13 ± 1 °C. L'ensemble des expérimentations sont suivies pour les paramètres température, salinité, turbidité et oxygène dissous à l'aide d'une sonde multiparamétrique (WTW) relevés lors des prélèvements.

2.8 Analyse et traitements statistiques

Chaque expérimentation Eau et Eau+Coquillage est répliquée. Pour chacune des 4 expériences réalisées, les prélèvements sont réalisés en duplicats pour analyses. Les résultats d'analyses issues des réplicats d'expérimentations seront traités pour déterminer les valeurs statistiques et significativités des expérimentations (tests non-paramétriques Kruskal-Wallis). Les traitements statistiques sont réalisés avec le logiciel R (R Core Team, 2021)

2.9 Adaptations au protocole

- Modification du facteur de dilution EAU+NoV

Dans le protocole initial, les expérimentations avec des virus libres dans l'eau prévoyaient d'ajouter 3 litres d'EU à 297 litres d'eau de mer (dilution 1 :99). Lors des premières expérimentations menées en mars 2025, les concentrations initiales de NoV détectables se sont révélées faibles (10^4 UG/L). La décroissance de la concentration en NoV observée atteint alors rapidement la limite de quantification et rend difficile l'exploitation des résultats pour déterminer l'efficacité du procédé sur l'extraction des virus. Il a été convenu de réitérer cette expérimentation en modifiant : 1- le facteur de dilution à 1 :9 (30L d'EU dans 270 L d'EM) et 2- d'utiliser le procédé de colonne à dépression pour concentrer les eaux usées brutes.

Sur ce dernier point, 300L d'EU ont été collectés le 10 mars 2025 en entrée de la STEU de Mèze et dont la concentration en NoV GI+GII était de $1{,}2 \times 10^7$ UG/L puis soumis à séparation par colonne à dépression. Les concentrats ont été récupérés depuis le collecteur afin de servir d'inoculum viral. 50 litres ont ainsi été récupérés puis titrés à $1{,}5 \times 10^8$ UG/L ce qui représente un gain d'un log sur la concentration des NoV dans l'EU. La combinaison facteur de dilution et concentration des EU brutes

ont permis d'obtenir des concentrations initiales en NoV plus élevées au démarrage de la seconde expérimentation 'Eau+NoV'.

- Modification de la température de l'eau dans les bassins expérimentaux

La température de l'eau des bassins expérimentaux devait initialement être maintenue à 13°C et ceci de manière constante sur la durée des expériences que ce soit Eau+NoV ou Huître+NoV. Finalement, le début des expérimentations ayant eu lieu au mois de mars, la température de l'eau de mer prélevée était de 15 °C Température 14-15°C.

3 Résultats

3.1 Eau + NoV (Eau_NoV – durée 120 min)

Cette série d'expériences évalue la capacité du dispositif VAL à éliminer les norovirus sous forme de particules virales libres dans une eau de mer contaminée. Deux répétitions indépendantes (Manipe 1 et Manipe 2) ont été conduites sur une durée de **120 minutes** ; leurs résultats sont présentés de façon agrégée ci-dessous.

3.1.1 Contamination initiale

À T = 0 min, les concentrations moyennes en norovirus total sont de **$8{,}40 \times 10^6$ copies/L ± $2{,}50 \times 10^6$** dans le bassin VAL et de **$3{,}11 \times 10^6$ copies/L ± $3{,}70 \times 10^6$** dans le bassin CTRL. Les deux bassins ne présentent pas de différence significative au démarrage (Mann-Whitney : U = 40,0 ; p = 0,411), confirmant l'homogénéité de la contamination initiale.

3.1.2 Cinétique de décroissance

Dans le bassin VAL, une décroissance rapide et progressive est observée dès T = 5 min ($4{,}94 \times 10^6$ copies/L), s'accélérant à T = 15 min ($2{,}93 \times 10^6$ copies/L, soit −0,46 log vs T0) et T = 30 min ($1{,}22 \times 10^6$ copies/L, soit −0,84 log vs T0). En fin d'expérience à T = 120 min, la concentration atteint **$8{,}77 \times 10^5$ copies/L, soit une réduction de ~1 log** par rapport au T0.

À l'inverse, dans le bassin CTRL, les concentrations augmentent dès T = 30 min ($6{,}18 \times 10^6$ copies/L) et se maintiennent à un niveau élevé jusqu'en fin d'expérience ($6{,}92 \times 10^6$ copies/L à T = 120 min), soit une valeur supérieure au niveau initial.

3.1.3 Analyse statistique

Les tests de Mann-Whitney point par point n'atteignent pas le seuil α = 0,05, en raison des faibles effectifs du bassin CTRL (n = 2 aux temps T = 30, 60 et 120 min). En revanche, le test global sur l'ensemble des mesures post-contamination (T > 0) révèle une différence hautement significative entre les deux bassins : **U = 1,0 ; p < 0,001 (***)**. La moyenne des concentrations post-T0 est de 2,31 × 10^6 copies/L dans le bassin VAL contre 6,13 × 10^6 copies/L dans le bassin CTRL, confirmant l'effet du dispositif sur l'élimination des particules virales libres en eau de mer. Le détail par point temporel est présenté dans le Tableau 2.

*Tableau 2 – **Tests de Mann-Whitney par point temporel (VAL vs CTRL) – Eau_NoV – données agrégées (Manipe 1 + Manipe 2)***

T	n VAL	n CTRL	Moy. VAL (copies/L)	SD VAL	Moy. CTRL (copies/L)	SD CTRL	U	p-value	Sig.
0 min	8	8	$8{,}40 \times 10^6$	$2{,}50 \times 10^6$	$3{,}11 \times 10^6$	$3{,}70 \times 10^6$	40,0	0,411	ns
5 min	4	—	$4{,}94 \times 10^6$	$3{,}15 \times 10^5$	—	—	—	—	nd
15 min	4	—	$2{,}93 \times 10^6$	$5{,}32 \times 10^5$	—	—	—	—	nd
30 min	4	2	$1{,}22 \times 10^6$	$2{,}48 \times 10^5$	$6{,}18 \times 10^6$	$9{,}89 \times 10^4$	0,0	0,133	ns
60 min	4	2	$1{,}59 \times 10^6$	$1{,}97 \times 10^6$	$5{,}29 \times 10^6$	$1{,}47 \times 10^5$	0,0	0,133	ns
120 min	4	2	$8{,}77 \times 10^5$	$9{,}56 \times 10^5$	$6{,}92 \times 10^6$	$7{,}02 \times 10^4$	0,0	0,133	ns

ns : non significatif (p ≥ 0,05) ; nd : données insuffisantes (n < 2 par groupe). Test global T > 0 : U = 1,0 ; p < 0,001 (***). n = nombre de réplicats échantillons disponibles, toutes manipes confondues.

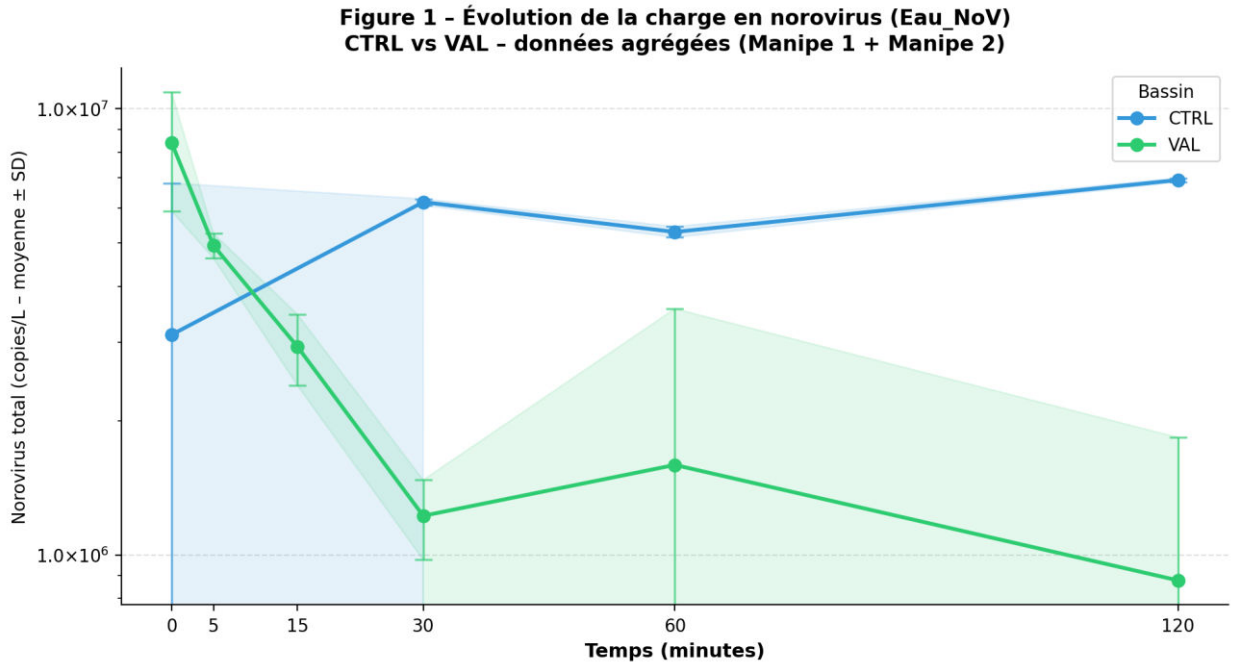

Figure 1 – Évolution de la charge totale en norovirus (copies/L) dans les bassins CTRL et VAL au cours de l'expérience Eau_NoV (données agrégées Manipe 1 + Manipe 2 ; moyenne ± écart-type des réplicats échantillons ; axe X en minutes ; échelle logarithmique).

3.2 Huître + NoV (Huître_NoV – durée 540 h)

Cette série d'expériences vise à évaluer si le dispositif VAL accélère l'élimination de norovirus préalablement bioaccumulés dans des huîtres vivantes. Deux répétitions indépendantes (Manipe 1 et Manipe 2) ont été conduites sur 540 heures ; leurs résultats sont présentés de façon agrégée. Deux matrices ont été analysées simultanément : la **chair des huîtres** ou **glande digestive** pour la méthode standard (matrice Huître, mesure principale de la charge virale bioaccumulée) et l'**eau des bassins** (matrice Eau, mesure complémentaire du relargage viral dans le milieu).

3.2.1 Vérification de la contamination initiale (bassin CONTA)

La bioaccumulation des norovirus dans les coquillages a été vérifiée avant la mise en place des bassins expérimentaux, via un bassin de contamination dédié (CONTA). Les deux manipes présentent des niveaux de contamination initiaux très différents, conformément au protocole d'enrichissement des eaux usées plus concentrées utilisé en Manipe 2.

Contamination des coquillages : Manipe 1

L'eau de mer de départ est exempte de norovirus (< LQ). L'eau de contamination présente une concentration initiale de **$3{,}10 \times 10^{6}$ copies/L ± $3{,}54 \times 10^{4}$** (n = 2). Les huîtres sont saines à T = 0 h (concentration = 0 copies/g). Après 18 h d'immersion dans le bain de contamination, la charge virale dans la chair atteint **$6{,}25 \times 10^{4}$ copies/g ± $4{,}48 \times 10^{4}$** (n = 2), puis diminue légèrement à **$2{,}42 \times 10^{4}$ copies/g ± $2{,}47 \times 10^{3}$** au terme des 36 h d'incubation (n = 2), confirmant une bioaccumulation virale effective et une contamination stable.

Contaminations des coquillages : Manipe 2

En Manipe 2, les eaux usées ont été concentrées afin d'atteindre des niveaux de contamination plus élevés. L'eau de mer de départ est également exempte de norovirus (< LQ, n = 2). L'eau de contamination présente une concentration initiale de **$2{,}92 \times 10^{7}$ copies/L ± $2{,}76 \times 10^{6}$** (n = 2), soit **~10× supérieure à celle de la Manipe 1**. Les huîtres sont saines à T = 0 h (concentration = 0 copies/g). Après 18 h d'immersion, la charge virale dans la chair atteint **$5{,}36 \times 10^{5}$ copies/g ± $4{,}14 \times 10^{5}$** (n = 2), puis **$3{,}74 \times 10^{5}$ copies/g ± $7{,}50 \times 10^{4}$** après 36 h (n = 2), soit des niveaux de bioaccumulation environ **~15× supérieurs à la Manipe 1**. Ces résultats confirment que les

deux manipes diffèrent significativement par leur niveau de contamination initial, ce qui justifie leur analyse séparée et l'agrégation prudente des données.

Tableau 3 ***– Niveaux de contamination dans le bassin CONTA par manipe et par temps***

Manipe	Matrice mesurée	T = 0 h	T = 18 h	T = 36 h
Manipe 1	Eau de contamination (copies/L)	$3{,}10 \times 10^6 \pm 3{,}54 \times 10^4$ (n=2)	—	—
Manipe 1	Eau de mer initiale (copies/L)	< LQ (n=2)	—	—
Manipe 1	Chair d'huître (copies/g)	0 — lot sain	$6{,}25 \times 10^4 \pm 4{,}48 \times 10^4$ (n=2)	$2{,}42 \times 10^4 \pm 2{,}47 \times 10^3$ (n=2)
Manipe 2	Eau de contamination (copies/L)	$2{,}92 \times 10^7 \pm 2{,}76 \times 10^6$ (n=2)	—	—
Manipe 2	Eau de mer initiale (copies/L)	< LQ (n=2)	—	—
Manipe 2	Chair d'huître (copies/g)	0 — lot sain	$5{,}36 \times 10^5 \pm 4{,}14 \times 10^5$ (n=2)	$3{,}74 \times 10^5 \pm 7{,}50 \times 10^4$ (n=2)

LQ : limite de quantification. Eau de contamination : eau usée concentrée utilisée pour le bain de contamination. Eau de mer initiale : eau des bassins avant inoculation. Chair d'huître : norovirus bioaccumulés dans la chair des coquillages. Manipe 2 : eaux usées concentrées par ultrafiltration.

3.2.2 Cinétique de dépuration — matrice : chair des huîtres

À T = 0 h, les huîtres contaminées ont été transférées depuis le bassin de contamination en 2 lots identiques dans les bassins VAL et CTRL. Les concentrations en norovirus dans les chairs des coquillages sont donc considérées comme le résultats des analyses à T36h de contamination (cf. 3.2.1 Vérification de la contamination initiale).

Une décroissance progressive est observée dans les deux bassins au cours des 540 heures de suivi. Dans le bassin **VAL**, la réduction atteint **0,24 log à T = 48 h**, **0,34 log à T = 96 h**, et **0,66 log à T = 540 h** (concentration finale : $7{,}58 \times 10^4$ copies/g). Dans le bassin **CTRL**, la cinétique est quasi identique avec **0,07 log à T = 48 h**, **0,25 log à T = 96 h** et **0,68 log à T = 540 h** ($7{,}20 \times 10^4$ copies/g). À T = 144 h, on note une légère remontée dans les deux bassins (Δlog VAL = 0,15 ; Δlog CTRL = −0,09), possiblement liée à la variabilité inter-individuelle entre huîtres à ce point temporel (n_CTRL = 2 seulement).

La régression log-linéaire sur l'ensemble du suivi confirme des cinétiques de décroissance comparables entre les deux bassins (**VAL :** pente = $-7{,}6 \times 10^{-4}$ log/h, $R^2 = 0{,}58$, T½ ≈ 394 h, p = 0,011; **CTRL :** pente = $-1{,}21 \times 10^{-3}$ log/h, $R^2 = 0{,}77$, T½ ≈ 249 h, p = 0,004). La pente CTRL est numériquement plus élevée que VAL, mais cette différence n'est pas statistiquement significative au regard de la variabilité des données.

3.2.3 Analyse statistique — matrice : chair des huîtres

Aucune différence significative entre VAL et CTRL n'est observée à aucun point temporel (tous p > 0,05 ; Tableau 4). Le test global sur l'ensemble des mesures confirme l'absence d'effet du dispositif sur la dépuration de la chair des huîtres (**U = 1 187,0 ; p = 0,509**). En fin d'expérience à T = 540 h, les concentrations sont quasi-identiques dans les deux bassins (U = 23,0 ; p = 0,950).

Tableau 4 ***– Tests de Mann-Whitney par point temporel (VAL vs CTRL) – Huître_NoV – matrice : chair d'huître – données agrégées (Manipe 1 + Manipe 2)***

T (h)	n VAL	n CTRL	Moy. VAL (copies/g)	SD VAL	Moy. CTRL (copies/g)	SD CTRL	U	p-value	Sig.
0	8	8	$3{,}46 \times 10^5$	$3{,}90 \times 10^5$	$3{,}46 \times 10^5$	$3{,}90 \times 10^5$	32,0	1,000	ns
24	4	—	$1{,}44 \times 10^5$	$1{,}61 \times 10^5$	—	—	—	—	nd
48	8	6	$1{,}98 \times 10^5$	$2{,}13 \times 10^5$	$2{,}92 \times 10^5$	$4{,}32 \times 10^5$	23,0	0,950	ns
96	6	5	$1{,}57 \times 10^5$	$2{,}20 \times 10^5$	$1{,}93 \times 10^5$	$2{,}24 \times 10^5$	14,0	0,931	ns
144	8	2	$2{,}42 \times 10^5$	$2{,}63 \times 10^5$	$4{,}28 \times 10^5$	$5{,}36 \times 10^5$	4,0	0,400	ns
192	4	4	$1{,}59 \times 10^5$	$1{,}89 \times 10^5$	$1{,}77 \times 10^5$	$1{,}87 \times 10^5$	8,0	1,000	ns
240	4	—	$1{,}13 \times 10^5$	$1{,}28 \times 10^5$	—	—	—	—	nd
336	8	6	$1{,}19 \times 10^5$	$1{,}33 \times 10^5$	$1{,}07 \times 10^5$	$9{,}56 \times 10^4$	21,0	0,755	ns
432	8	2	$1{,}42 \times 10^5$	$1{,}58 \times 10^5$	$1{,}29 \times 10^5$	$1{,}70 \times 10^5$	7,0	0,889	ns
540	8	6	$7{,}58 \times 10^4$	$8{,}60 \times 10^4$	$7{,}20 \times 10^4$	$8{,}51 \times 10^4$	23,0	0,950	ns

ns : non significatif ($p \geq 0{,}05$) ; nd : données insuffisantes ($n < 2$ par groupe). Copies en copies/g de chair. Test global tous temps : $U = 1\,187{,}0$; $p = 0{,}509$ (ns). n = nombre de réplicats échantillons disponibles, toutes manipes confondues.

3.2.4 Mesure complémentaire — matrice : eau des bassins

En parallèle des mesures dans la chair des huîtres, la charge virale dans l'eau des bassins a été suivie afin de documenter le relargage des norovirus depuis les coquillages vers le milieu environnant (Tableau 5).

Dès T = 48 h, une contamination significative de l'eau est détectée dans les deux bassins, traduisant un relargage actif de norovirus depuis les huîtres. Dans le bassin **CTRL**, les concentrations restent élevées tout au long du suivi ($3{,}88 \times 10^5$ copies/L à T = 48 h ; $3{,}67 \times 10^5$ à T = 96 h ; $1{,}47 \times 10^5$ à T = 336 h). Dans le bassin **VAL**, les concentrations dans l'eau sont systématiquement plus basses : $1{,}10 \times 10^5$ copies/L à T = 48 h (soit ~3,5× moins que le CTRL), $3{,}00 \times 10^4$ à T = 96 h (~12× moins), et deviennent quasi indétectables à T = 240 h ($2{,}01 \times 10^2$ copies/L), avant une légère remontée à T = 336–432 h.

Tableau 5 ***– Tests de Mann-Whitney par point temporel (VAL vs CTRL) – Huître_NoV – matrice : eau du bassin – données agrégées (Manipe 1 + Manipe 2)***

T (h)	n VAL	n CTRL	Moy. VAL (copies/L)	SD VAL	Moy. CTRL (copies/L)	SD CTRL	U	p-value	Sig.
0	4	4	8,3	16,6	$3{,}82 \times 10^3$	$7{,}33 \times 10^3$	5,0	0,408	ns
24	4	—	$1{,}13 \times 10^5$	$1{,}21 \times 10^5$	—	—	—	—	nd
48	4	4	$1{,}10 \times 10^5$	$1{,}27 \times 10^5$	$3{,}88 \times 10^5$	$4{,}28 \times 10^5$	4,0	0,343	ns
96	4	4	$3{,}00 \times 10^4$	$2{,}26 \times 10^4$	$3{,}67 \times 10^5$	$4{,}10 \times 10^5$	6,5	0,772	ns
144	4	—	$1{,}96 \times 10^4$	$1{,}51 \times 10^4$	—	—	—	—	nd
192	4	4	$1{,}58 \times 10^4$	$2{,}29 \times 10^4$	$1{,}42 \times 10^5$	$1{,}47 \times 10^5$	4,0	0,301	ns
240	4	—	$2{,}01 \times 10^2$	$4{,}02 \times 10^2$	—	—	—	—	nd
336	4	4	$1{,}60 \times 10^4$	$3{,}19 \times 10^4$	$1{,}47 \times 10^5$	$1{,}44 \times 10^5$	2,0	0,110	ns
432	4	—	$1{,}32 \times 10^4$	$1{,}71 \times 10^4$	—	—	—	—	nd
540	4	4	$1{,}35 \times 10^4$	$2{,}70 \times 10^4$	$3{,}09 \times 10^4$	$4{,}46 \times 10^4$	6,0	0,620	ns

ns : non significatif ($p \geq 0{,}05$) ; nd : données insuffisantes ($n < 2$ par groupe). Copies en copies/L. n = 4 réplicats échantillons par bassin (toutes manipes confondues).

Bien qu'aucun test point par point n'atteigne le seuil α = 0,05 (en raison des faibles effectifs CTRL à certains temps), la tendance est cohérente et persistante sur l'ensemble du suivi, avec un signal proche de la significativité à T = 336 h (U = 2,0 ; p = 0,110). Ces données suggèrent que le dispositif VAL est efficace pour éliminer les particules virales libres dans l'eau du bassin — ce qui est cohérent avec les résultats Eau_NoV — mais sans impact sur les norovirus séquestrés dans les tissus des coquillages.

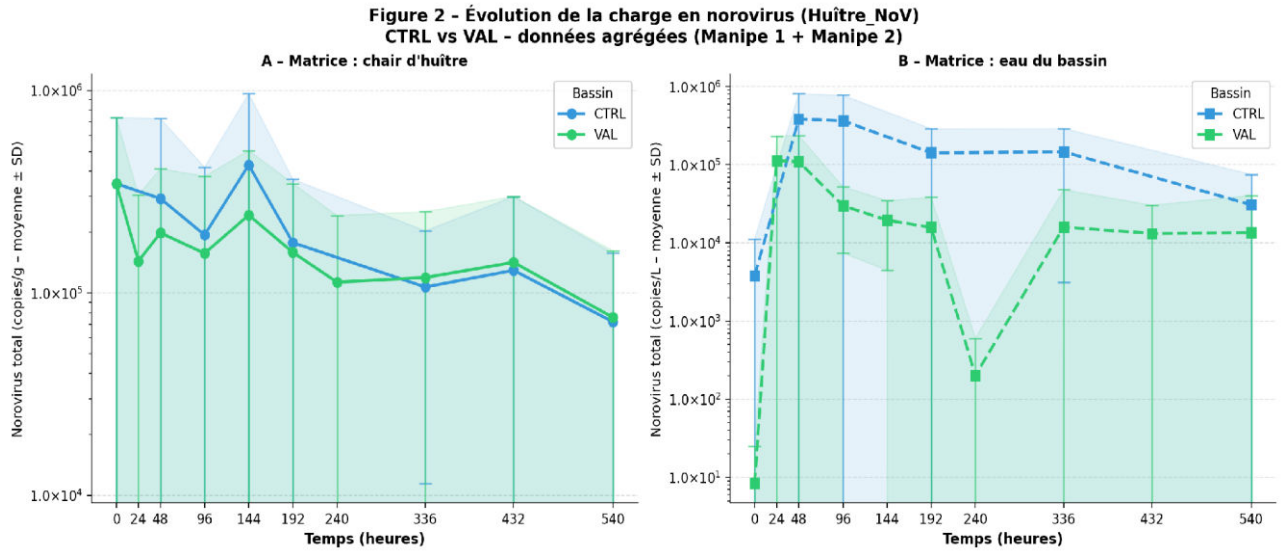

Figure 2 – Évolution de la charge totale en norovirus dans les bassins CTRL et VAL au cours de l'expérience Huître_NoV (données agrégées Manipe 1 + Manipe 2 ; moyenne ± écart-type des réplicats échantillons ; échelle logarithmique). A : matrice chair d'huître (copies/g). B : matrice eau du bassin (copies/L)

3.3 Analyse par groupe génomique NoV GI et NoV GII

Les analyses précédentes agrègent NoV GI et NoV GII (noro_total). Une analyse désagrégée par groupe génomique révèle des résultats complémentaires importants, résumés dans le Tableau 6.

Tableau 6 – ***Analyse désagrégée NoV GI et NoV GII par expérience (test de Mann-Whitney global VAL vs CTRL, T > 0 pour Eau_NoV, tous temps pour Huître_NoV, analyses LDV34)***

Expérience	Groupe	% de noro_total	Moy. VAL	Moy. CTRL	U (global)	p-value	Sig.
Eau_NoV	GI	7,6 %	$1{,}50 \times 10^5$	$5{,}20 \times 10^5$	0,0	< 0,001	***
Eau_NoV	GII	92,4 %	$2{,}16 \times 10^6$	$5{,}61 \times 10^6$	1,0	< 0,001	***
Huître_NoV	GI	0,7 %	$1{,}09 \times 10^3$	$1{,}29 \times 10^3$	1 276,0	0,938	ns
Huître_NoV	GII	99,3 %	$1{,}13 \times 10^5$	$2{,}79 \times 10^5$	964,0	0,031	*

**** p < 0,001 ; * p < 0,05 ; ns : non significatif. Moy. en copies/L (Eau_NoV) ou copies/g (Huître_NoV). % calculé sur la somme de toutes les valeurs de l'expérience.*

3.3.1 Eau_NoV : effet VAL significatif sur GI et GII, avec dominance de GII

Dans l'expérience Eau_NoV, **NoV GII représente 92,4 % de la charge virale totale** (ratio médian GII/GI ≈ 11–13 selon le bassin), ce qui reflète la composition attendue des eaux usées en période épidémique hivernale. Le dispositif VAL montre un **effet significatif sur les deux groupes génomiques**, avec des tests globaux post-T0 hautement significatifs : **NoV GI — U = 0,0 ; p < 0,0001**

(***) ; **NoV GII — U = 1,0 ; p < 0,001 (***)**. Les deux groupes présentent des cinétiques de réduction comparables, sans effet différentiel détectable entre GI et GII.

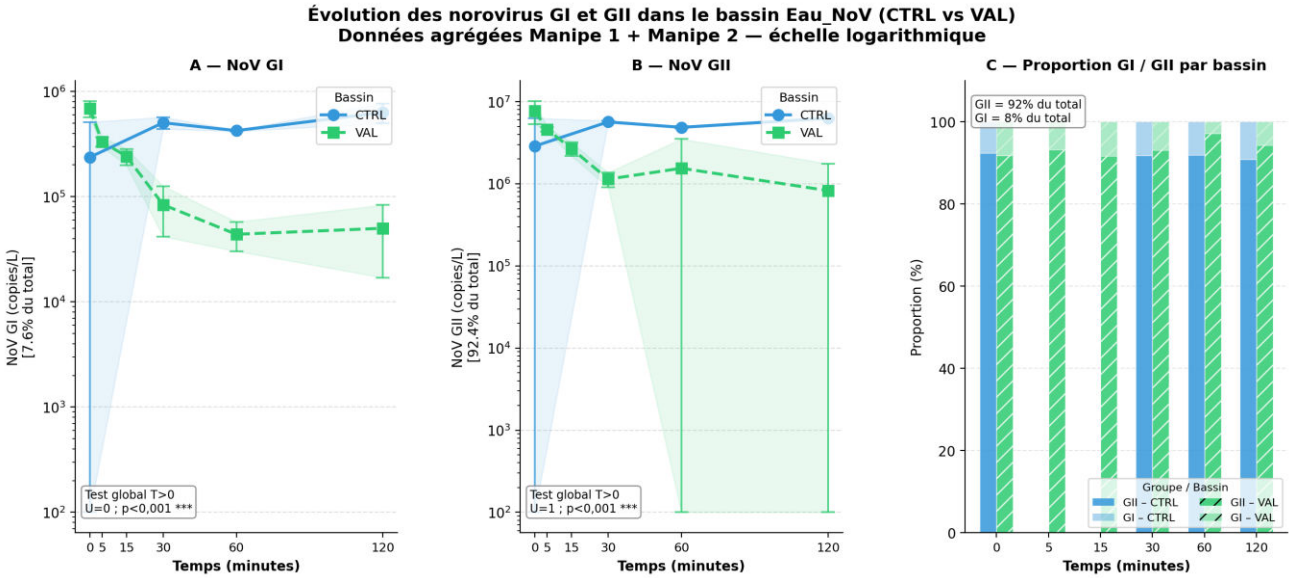

Figure 3 – Évolution de la concentration en norovirus GI (A), GII (B) et proportions des deux géno-groupes (C) dans l'expérimentation Eau + NoV pour les bassins VAL et CTRL. (Données agrégées Manipe 1 + Manipe 2 ; moyenne ± écart-type des réplicats échantillons ; échelle logarithmique). A : matrice eau (copies/L), B : matrice eau du bassin (copies/L) et C : matrice eau (pourcentage).

Un déséquilibre initial mérite d'être signalé : à T = 0 min, les concentrations en **NoV GI sont significativement plus élevées dans le bassin VAL que dans le CTRL** (6,87 × 10^5 vs 2,37 × 10^5 copies/L ; U = 16 ; p = 0,029). Ce déséquilibre, absent pour GII (p = 0,110), ne remet pas en cause la significativité du test global (qui exclut T0) mais souligne l'importance de ne pas comparer VAL et CTRL sur la base des concentrations absolues sans tenir compte de ce point de départ.

3.3.2 Huître_NoV : GII quasi-exclusif, GI indétectable dans près de 60 % des échantillons VAL

Dans l'expérience Huître_NoV, **NoV GII représente 99,3 % de la charge virale totale**, avec un ratio médian GII/GI d'environ 30–33 selon le bassin. **NoV GI est quasi-absent** : 59 % des valeurs VAL et 56 % des valeurs CTRL sont égales à zéro, rendant toute comparaison statistique non pertinente pour ce groupe (U = 1 276 ; p = 0,938).

Pour NoV GII, le test global révèle une différence significative entre VAL et CTRL (U = 964 ; p = 0,031 *), avec des concentrations moyennes plus faibles dans le bassin VAL (1,13 × 10^5 vs 2,79 × 10^5 copies/g). Ce résultat est cohérent avec le test sur noro_total (p = 0,027) et s'explique par les mêmes mécanismes discutés précédemment — variabilité intra-coquillage, déséquilibres ponctuels d'effectifs CTRL — plutôt que par un effet spécifique du dispositif VAL. En effet, **aucun test point par point ne dépasse le seuil α = 0,05** pour NoV GII (tous p > 0,13), et la cinétique de décroissance est superposable entre les deux bassins sur l'ensemble du suivi.

3.4 Extraction des norovirus de l'eau contaminée et Bilan de matière

Le bilan de matière (Figure 4) montre que, pour les deux inoculums, les norovirus retirés de l'eau traitée se retrouvent dans le concentrat (mousse du collecteur).

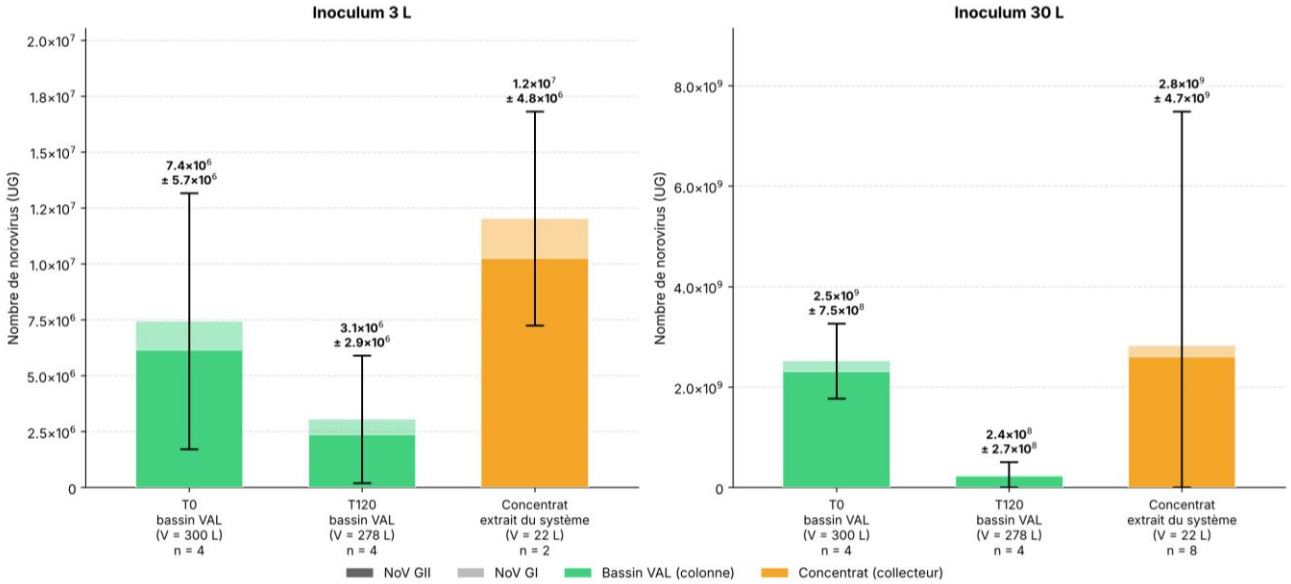

Figure 4. Bilan de matière des norovirus totaux et par géno-groupes (nombre moyen et écart-type de norovirus) pour les expérimentations Eau + NoV. Comparaison des T_0, T_{120} et Concentrat pour les deux expérimentations différenciées par le volume d'inoculum d'eaux usées (cf. section 2.9)

- **Eau traitée** : pour l'inoculum 30 L, la charge passe de 2,5 × 10^9 UG à T0 à 2,4 × 10^8 UG à T120, soit environ 10 % du T0 (~1 log de réduction, en accord avec la section 3.1). Pour l'inoculum 3 L, la diminution est plus modeste (41 % restants) et les mesures sont proches de la limite de quantification.
- **Concentrat** : il contient 2,8 × 10^9 UG (30 L) et 1,2 × 10^7 UG (3 L), des quantités du même ordre de grandeur que celles introduites au départ (2,5 × 10^9 et 7,4 × 10^6 UG).

Ces résultats sont cohérents avec un mécanisme de séparation physico-chimique par transfert de l'eau vers la mousse, sans perte systématique de génomes viraux. Le bilan n'est toutefois pas strictement fermé : (T120 + concentrat) / T0 vaut 122 % pour le 30 L et 203 % pour le 3 L, lié à de fortes différences entre réplicats. Il doit donc être lu comme un ordre de grandeur, du fait de l'hétérogénéité des fractions de concentrat (volumes individuels inconnus) et de la proximité de la limite de quantification pour le 3 L. Enfin, la RT-qPCR quantifie les génomes et non l'infectiosité : l'absence d'inactivation virale reste à démontrer (cf. section 4.5).

3.5 Estimation de la mortalité dans les expérimentations Huîtres + NoV

Pour l'ensemble des expérimentations impliquant les coquillages, une estimation de la mortalité est réalisée par comptage i) à l'issue des phases de contamination (36h) et ii) des expérimentations (23 jours) dans les bassins CTRL et VAL. Les comptages à T = 36h des phases de contamination donne une perte moyenne de 77 huitres sur 1400 individus sains et vivants, soit 5,5% de mortalité. Les dénombrements d'huitres mortes à l'issue des expérimentations sont de 10,2 % dans les bassins VAL et de 9,6 % dans les bassins CTRL sans différence significatives entre les traitements.

4 Discussion, Conclusions, Perspectives

4.1 Efficacité du dispositif VAL sur les norovirus libres en eau de mer

Les résultats obtenus pour l'expérience **Eau_NoV** constituent le résultat le plus probant de ce travail. En 120 minutes de fonctionnement du dispositif VAL, la charge en norovirus dans le bassin traité est réduite de **~1 log (facteur 10)** par rapport au T0, alors que les concentrations dans le bassin contrôle restent stables, voire augmentent légèrement ($6{,}92 \times 10^6$ copies/L à T = 120 min vs $3{,}11 \times 10^6$ à T0), traduisant une persistance et une remise en suspension des particules virales dans un système non traité.

La décroissance dans le bassin VAL est particulièrement rapide dans les premières minutes : **−0,23 log en 5 min, −0,46 log en 15 min, −0,84 log en 30 min**, avec un taux initial d'abattement de l'ordre de **~2,8 log/heure**. Ce résultat s'explique bien par le mécanisme d'action du VAL : la flottation sous vide crée des microbulles qui entraînent mécaniquement les particules virales libres (de taille nanométrique, 27–40 nm pour les norovirus) vers la surface, où elles sont extraites du milieu. L'efficacité est maximale en début de traitement lorsque la concentration en cibles est la plus élevée, puis se ralentit progressivement — ce qui est cohérent avec une cinétique d'ordre pseudo-premier.

Le test de Mann-Whitney global sur l'ensemble des mesures post-T0 confirme statistiquement cet effet (**U = 1,0 ; p < 0,001**), malgré les faibles effectifs du bassin CTRL à certains points temporels. Ce résultat est robuste et reproductible sur deux manipes indépendantes aux niveaux de contamination initiaux très différents (Manipe 1 : ~$3{,}5 \times 10^4$ UG/L en première contamination ; Manipe 2 : ~5×10^6 UG/L après concentration des eaux usées).

Ces performances sont cohérentes avec celles précédemment documentées pour le VAL sur d'autres agents pathogènes viraux : une réduction de 4 log sur le nodavirus (virus de taille comparable) et une réduction > 99,9 % sur les charges bactériennes. Les norovirus, en tant que virus nus de petite taille, semblent répondre positivement à ce type de traitement physico-mécanique, ce qui ouvre des perspectives concrètes d'application.

4.2 Limites du dispositif VAL sur les norovirus bioaccumulés dans les huîtres

Les résultats de l'expérience **Huître_NoV** apportent une réponse nuancée mais importante : le dispositif VAL **n'accélère pas significativement l'élimination des norovirus préalablement bioaccumulés** dans la chair des huîtres, sur la durée d'observation de 540 heures (22,5 jours). Aucune différence significative n'est observée entre VAL et CTRL à aucun des points temporels (tous $p > 0{,}05$; test de Mann-Whitney). En fin d'expérience, les concentrations dans les deux bassins sont quasi-identiques : $5{,}50 \times 10^4$ copies/g (VAL) vs $5{,}56 \times 10^4$ copies/g (CTRL).

La régression log-linéaire sur l'ensemble de la cinétique confirme cette absence de différence : la pente de décroissance est de **$-8{,}5 \times 10^{-4}$ log/h pour le VAL** ($R^2 = 0{,}57$; demi-vie $T½ \approx 356$ h) contre **$-1{,}27 \times 10^{-3}$ log/h pour le CTRL** ($R^2 = 0{,}75$; $T½ \approx 236$ h). Cette légère tendance (pente CTRL numériquement plus forte que VAL) reste non significative et s'explique probablement par la variabilité inhérente aux deux manipes (niveaux de contamination initiaux différents, variabilité individuelle entre huîtres).

Ce résultat est biologiquement cohérent : **les norovirus bioaccumulés sont localisés dans la glande digestive des huîtres**, où leu rétention est notamment associée à des récepteurs de type HBGA (Histo-Blood Group Antigen-like) présents dans les tissus. Le traitement par flottation de l'eau de mer environnante n'a aucun effet direct sur ces virus intra tissulaires ; seul le mécanisme naturel d'épuration physiologique de l'huître (renouvellement du flux d'eau à travers les branchies, sécrétion

de mucus, excrétion) gouverne la cinétique d'élimination, qui est lente et non modulable par un traitement de l'eau externe.

4.3 Réflexion réglementaire : qu'impliquent ces résultats ?

4.3.1 Le VAL ne constitue pas une procédure de purification accélérée au sens réglementaire

La réglementation européenne (Règlement CE 853/2004 et ses modifications) encadre strictement les procédures de purification des mollusques bivalves vivants. Elle impose que la purification soit réalisée dans des établissements agréés (centres de purification), dans des eaux dont la conformité microbiologique est vérifiée. Toute procédure alternative doit démontrer qu'elle aboutit à un produit final conforme aux critères fixés par le règlement CE 2073/2005 — notamment : **< 230 NPP/100g de chair en E. coli** et absence de salmonelles. Des travaux complémentaires (groupe EFSA 2019) ont proposé des valeurs guides émergentes pour les norovirus (< 200 copies de génome/g en ARN viral de norovirus GI et GII) mais qui n'ont pas valeurs réglementaires.

Les résultats obtenus pour la matrice huître montrent des cinétiques de décroissance **identiques entre VAL et CTRL** (~0,62 log en 540 h dans les deux cas), ce qui exclut toute revendication d'effet purificateur du dispositif sur des huîtres déjà contaminées. En l'état, **le dispositif VAL ne peut donc pas être positionné comme une alternative ou un raccourci à la purification réglementaire** pour des coquillages ayant subi une bioaccumulation virale.

4.3.2 Niveaux de contamination élevés, décroissance lente : un enjeu sanitaire réel

Les données de l'expérience Huître_NoV illustrent un autre enjeu majeur : même avec des concentrations initiales de **$2{,}3 \times 10^5$ copies/g** (niveau observé après 36 h de bioaccumulation expérimentale), la décroissance naturelle ne permet de réduire la charge virale que de **0,62 log en 22,5 jours**, ce qui correspond à une demi-vie d'environ 15 jours. Ce paramètre est fondamental : après une contamination sévère du bassin de Thau (type crise de décembre 2025), les huîtres peuvent rester potentiellement à risque pendant plusieurs semaines, même dans une eau de mer redevenue propre, si la survie virale intratissulaire est gouvernée par des processus physiologiques lents. Cette donnée plaide pour **des seuils de réouverture des zones d'élevage basés sur des contrôles virologiques réels** (RT-qPCR sur chair de coquillage) plutôt que sur de seuls délais calendaires ou des indicateurs bactériens. Il faut cependant garder à l'esprit que les niveaux de contaminations rencontrés dans les conditions réelles d'un milieu de production sont bien plus faibles (environ 10^3-10^4 copies/g) que celles obtenues lors de ces expérimentations. Dans le cadre de ces travaux, les niveaux de contamination élevés ont été volontairement recherchés afin d'obtenir des signaux clairs sur la dynamique des norovirus que ce soit dans l'eau ou dans les coquillages. Les limites de quantification actuelles ajoutées à la détermination encore difficile de l'infectiosité des norovirus présents constituent des verrous à la détermination de seuils de contamination acceptables et donc de contrôles virologiques qui permettraient une réouverture anticipée des zones conchylicoles touchées.

4.3.3 Une voie réglementaire alternative : l'action préventive sur l'eau

En revanche, les résultats Eau_NoV ouvrent une voie préventive qui n'entre pas en conflit avec le cadre réglementaire actuel : **traiter l'eau de mer avant qu'elle n'entre en contact avec les coquillages**. Cette approche n'est pas soumise aux mêmes contraintes que la purification post-contamination. Elle vise à réduire la charge virale du milieu en amont de la bioaccumulation, et peut donc se concevoir comme une mesure de **bio-sécurisation préventive**, à l'instar des procédés UV ou d'ozonation déjà utilisés en aquaculture pour d'autres pathogènes.

4.4 Perspectives d'application : dimensionnement et déploiement du dispositif VAL

4.4.1 Usages en systèmes fermés ou semi-fermés

Le cas d'usage le plus immédiatement transposable à partir des résultats Eau_NoV est l'utilisation du VAL dans des **systèmes en eau recirculée ou semi-fermés** : bassins de stockage, d'affinage ou de transit des coquillages alimentés par une eau de mer pompée depuis le milieu naturel et traitée avant utilisation. Dans ce cas, le VAL interviendrait comme une barrière physique de décontamination permettant de maintenir la qualité sanitaire de l'eau tout au long de la durée de stockage. Un abattement de ~1 log en 120 minutes (pour des volumes comparables aux bassins expérimentaux) représente une réduction significative de la pression virale exercée sur les coquillages hébergés.

Un second usage à explorer est la **mise à l'abri préventive des huîtres** lors des alertes de contamination : transférer les coquillages depuis les parcs exposés vers des bassins fermés alimentés en eau de mer traitée par VAL, dès les premières heures suivant un épisode pluvieux à risque. Dans ce scénario, le dispositif agirait *avant* la bioaccumulation, non après — ce qui est cohérent avec les résultats obtenus et éviterait la situation dans laquelle se trouvent actuellement les professionnels lors des crises (attente passive d'une dépuration naturelle dans un milieu encore contaminé).

4.4.2 Éléments de dimensionnement

Le dispositif VAL AQUA est disponible en plusieurs configurations de débit. À partir des données cinétiques obtenues (~1 log en 120 min pour un bassin de l'ordre de quelques centaines de litres), et en extrapolant de façon prudente à des volumes plus importants, on peut esquisser les ordres de grandeur suivants pour différents contextes d'usage (Tableau 7).

Tableau 7 ***– Éléments indicatifs de dimensionnement du dispositif VAL en contexte conchylicole***

Contexte d'usage	Volume à traiter	Unité VAL recommandée	Débit nominal	Durée de traitement estimée
Bassin expérimental / nurserie	1–5 m³	VAL Mini	0,5–2 m³/h	0,5–2 h (1 log eau)
Unité individuelle ostréiculteur	20–50 m³	VAL S	5–10 m³/h	2–4 h (1 log eau)
Unité collective / coopérative	100–300 m³	VAL M	20–40 m³/h	3–6 h (1 log eau)
Bassin de mise à l'abri communautaire	500–2 000 m³	VAL L / flotte de VAL M	80–150 m³/h	Traitement continu en crise
Station d'eau de mer (approvisionnement)	> 5 000 m³/j	VAL XL ou couplage STEPm	> 200 m³/h	Traitement en flux continu

Estimations indicatives basées sur les performances expérimentales (~1 log en 120 min) et les données constructeur COLDEP. Débit nominal : débit de traitement de l'eau. Un traitement continu maintient en permanence la charge virale à un niveau bas dans le bassin. Les volumes cibles sont indicatifs et dépendent du niveau de contamination initial et du seuil d'abattement visé.

4.4.3 Scénario d'unité collective : fixe ou mobile ?

Dans le contexte du bassin de Thau, où **460 entreprises** de tailles très diverses (de l'exploitant individuel à la coopérative) partagent un même espace lagunaire, deux modèles de déploiement sont envisageables :

Unité fixe mutualisée. Implantée à quai ou en bord de lagune, reliée à un réseau de bassins de mise à l'abri collectifs. Ce modèle offre une capacité de traitement importante (plusieurs centaines de m³/h) et une disponibilité permanente. Il nécessite un investissement en infrastructure (génie civil,

raccordements), une gouvernance collective (syndicat, coopérative) et une maintenance régulière. Le coût d'investissement d'un VAL L ou XL est de l'ordre de **150 000 à 400 000 €** selon le débit, avec des coûts de fonctionnement limités (consommation électrique de l'ordre de 3–8 kW/h, faible maintenance mécanique — pas de filtre, pas de produit chimique).

Unité mobile mutualisée. Montée sur remorque ou sur un navire de service, déployable rapidement sur le site de besoin lors d'une alerte. Ce modèle est plus adapté à une réponse d'urgence, avec une flexibilité d'usage (plusieurs sites desservis à tour de rôle). Le coût d'un VAL M mobile est estimé entre **60 000 et 120 000 €**, auquel s'ajoutent les coûts logistiques de déploiement. Il conviendrait particulièrement à une mutualisation entre plusieurs coopératives ou à une mise à disposition par une structure intercommunale (ex. Sète Agglopôle, SMBT, syndicat de port, coopérative dédiée).

Dans les deux cas, l'économie du dispositif doit être mise en regard des pertes causées par chaque épisode de fermeture : les crises de 2022 et 2025–2026 ont engendré des pertes estimées respectivement à **> 5 M€ et plusieurs millions d'euros** pour la filière. Au regard de ces ordres de grandeur, **le coût d'un ou deux dispositifs VAL collectifs paraît raisonnable**, d'autant que leur usage n'est pas limité aux épisodes de crise : ils peuvent contribuer à la bio-sécurisation quotidienne de l'eau d'élevage et améliorer les performances zootechniques (clarification, réduction de la charge bactérienne).

4.5 Limites de l'étude et perspectives de recherche

Plusieurs limites doivent être mentionnées pour cadrer l'interprétation des résultats et orienter les travaux futurs :

Effectifs et puissance statistique. Les faibles effectifs (n = 2 à 4 réplicats par condition dans Eau_NoV) limitent la puissance des tests temporels pris isolément. Les résultats sont néanmoins confortés par le test global ($p < 0,001$) et la reproductibilité entre les deux manipes.

Infectiosité non mesurée. La RT-qPCR quantifie l'ARN génomique total, sans distinguer les particules virales infectieuses des génomes nus ou dégradés. Un abattement en copies de génome ne garantit pas systématiquement un abattement proportionnel de l'infectiosité. Des travaux complémentaires utilisant des modèles de réplication cellulaire (ex. organoïdes intestinaux humains) ou des tests de viabilité virale (PMAxx-RT-qPCR) seraient nécessaires pour conclure sur l'inactivation réelle.

Conditions contrôlées vs conditions réelles. Les expériences ont été menées dans des bassins expérimentaux de faible volume, avec des norovirus issus d'eaux usées concentrées. Le transfert à l'échelle d'un bassin de lagune ou d'un bassin d'affinage professionnel implique de tenir compte de nombreux paramètres additionnels : turbidité de l'eau naturelle, salinité, température, matière organique dissoute, présence de biofilm — autant de facteurs susceptibles de modifier l'efficacité du traitement par flottation.

Dynamique de recontamination. Dans les conditions naturelles d'une crise à Thau, le milieu continue d'être alimenté en norovirus par les rejets des STEU et les ruissellements, même après le déclenchement de l'alerte. Une évaluation du VAL en conditions de contamination continue (apport permanent de norovirus dans le bassin traité) serait nécessaire pour évaluer son efficacité en mode préventif réel.

Groupes GI et GII séparément. Les analyses présentées ici agrègent NoV GI et NoV GII (noro_total). L'analyse désagrégée confirme et précise les résultats obtenus sur noro_total : **(1)** pour la matrice eau, le dispositif VAL est efficace sur les deux groupes génomiques, GII représentant la cible principale en raison de sa dominance numérique ; **(2)** pour la matrice huître, GII est le seul groupe détectable de façon robuste — et la différence globale observée entre VAL et CTRL n'est pas attribuable à un effet purificateur du dispositif mais à des artefacts d'hétérogénéité dans la distribution des échantillons.

5 Conclusions

Ce travail apporte des éléments de réponse originaux et chiffrés à deux questions distinctes posées dans le cadre du projet NovLess :

1. Le dispositif VAL AQUA est efficace pour réduire la charge en norovirus libres dans une eau de mer contaminée : ~1 log de réduction en 120 minutes, avec une cinétique rapide dès les premières minutes de traitement, confirmée sur deux répétitions indépendantes et statistiquement robuste ($U = 1,0$; $p < 0,001$). Ce résultat ouvre des perspectives concrètes pour la bio-sécurisation préventive de l'eau de mer dans des systèmes fermés ou semi-fermés (bassins d'affinage, mise à l'abri en urgence).

2. Le dispositif VAL n'accélère pas l'élimination des norovirus bioaccumulés dans les huîtres : les cinétiques de décroissance dans les bassins VAL et CTRL sont statistiquement indistinguables sur 540 heures. Ce résultat doit être vu non comme un échec mais comme une **clarification fondamentale** : la logique du traitement de l'eau et la logique de la purification des coquillages sont deux processus biologiquement différents qui requièrent des réponses différentes.

Face à la récurrence et à l'aggravation des crises sanitaires liées aux norovirus sur le bassin de Thau — illustrée de façon spectaculaire par la crise historique de décembre 2025 – février 2026 (49 jours de fermeture, ~1,5 M€ d'aides mobilisées) —, ce travail plaide pour une stratégie combinant :

(i) la mise en œuvre de dispositifs VAL pour la bio-sécurisation préventive de l'eau d'alimentation des bassins lors des alertes ;

(ii) des contrôles virologiques quantitatifs (RT-qPCR / RT-dPCR sur chair) pour fixer les délais de réouverture réels plutôt que des délais calendaires, cela si et seulement si les niveaux de contaminations acceptables peuvent être déterminés

(iii) une gouvernance collective de la mise à l'abri des coquillages, portée par les syndicats professionnels et les collectivités, avec des dispositifs VAL mutualisés (fixes ou mobiles) dont le coût est manifestement inférieur aux pertes engendrées par chaque épisode de crise.

Les résultats de ce travail ont été présentés le 19 mars 2026 par le Syndicat Mixte du Bassin de Thau (SMBT) dans le cadre du projet NovLess (DLAL FEAMPA Thau et sa bande côtière).

Ce projet a également été présenté lors du Conseil de Filière Coquillages qui s'est tenu les 25 et 26 Mars 2026, à Nantes

6 Bibliographie

[1] Barataud D., Doyle A., Gallay A., Thiolet J.M., Le Guyader S., Kohli E., Vaillant V. (2003). *Toxi-infections alimentaires collectives à Norovirus, liées à la consommation d'huîtres de l'étang de Thau, France, décembre 2002*. Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire, n° 38. https://www.santepubliquefrance.fr/occitanie/toxi-infections-alimentaires-collectives-a-norovirus-liees-a-la-consommation-d-huitres-de-l-etang-de-thau-france-decembre-2002

[2] Gilles C., de Casanove J.N., Dubois E., Bon F., Pothier P., Kohli E., Vaillant V. (2003). *Épidémie de gastro-entérites à norovirus liée à la consommation d'huîtres, Somme, janvier 2001*. Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire, n° 8, p. 47–48. https://www.santepubliquefrance.fr/content/download/185144/2315056

[3] Bulletin Épidémiologique Santé Animale et Alimentation — ANSES/InVS (2012). *Bilan des 16 épisodes de TIAC virales liées à la consommation de coquillages en France, 1992–2010*. n° 50 — Spécial Risques alimentaires microbiologiques, p. 44. https://be.anses.fr/sites/default/files/BEP-mg-BE50-art11.pdf

[4] Barret A.S., Jourdan-da Silva N., Ambert-Balay K., Delmas G., Gandelet C., Chikhi-Brachet R., et al. (2016). *Toxi-infection alimentaire collective à norovirus liée à la consommation d'huîtres lors d'un repas d'entreprise. Étude de cohorte, Toulouse, janvier 2015*. Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire, n° 26–27. https://beh.santepubliquefrance.fr/beh/2016/26-27/2016_26-27_2.html

[5] Santé publique France (2020). *Toxi-infections alimentaires collectives suspectées d'être liées à la consommation de coquillages crus — bilan épidémiologique au 8 janvier 2020*. https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-infectieuses-d-origine-alimentaire/toxi-infections-alimentaires-collectives/articles/toxi-infections-alimentaires-collectives-suspectees-d-etre-liees-a-la-consommation-de-coquillages-crus-bilan-epidemiologique-au-8-janvier-2020

[6] Santé publique France (2024). *Surveillance des toxi-infections alimentaires collectives (TIAC). Données de la déclaration obligatoire, 2022*. Bulletin national, 21 février 2024. https://www.santepubliquefrance.fr/content/download/607637/document_file/tiac_donnees_2022_20240227.pdf

[7] Santé publique France (2026). *Surveillance des toxi-infections alimentaires collectives (TIAC). Données de la déclaration obligatoire, 2023*. Bulletin national, 20 mars 2026. https://www.santepubliquefrance.fr/sites/default/files/rdd/document/bullnat_tiac_bilan_2023_20260320.pdf

[8] DGAL/SDSSA (2017). *Instruction technique DGAL/SDSSA/2017-326 du 11 avril 2017 relative à la gestion du risque norovirus en lien avec la consommation de coquillages*. Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation. https://info.agriculture.gouv.fr/boagri/instruction-2017-326/telechargement

[9] Process Alimentaire (2019). *Norovirus : Distrimers rappelle des huîtres de Bouzigues*. https://www.processalimentaire.com/rappels-produits/norovirus-distrimers-rappelle-des-huitres-de-bouzigues

[10] Préfecture de l'Hérault (2025). *Arrêté préfectoral du 30 décembre 2025 portant restriction de la récolte et de la commercialisation des coquillages des zones 34.38, 34.39 et 34.40 (étang de Thau)*. https://www.villeneuvelesmaguelone.fr/actualite/restrictions-concernant-les-coquillages-des-groupe-2-et-3-etang-de-thau-arrete-prefectoral-du-30-decembre-2025/

[11] ISO (2017). *Microbiology of the food chain — Horizontal method for determination of hepatitis A virus and norovirus using real-time RT-PCR — Part 1: Method for quantification (ISO 15216-1:2017)*. International Organization for Standardization, Genève. https://www.iso.org/standard/65681.html

[12] EFSA BIOHAZ Panel (2019). *Analysis of the European baseline survey of norovirus in oysters*. EFSA Journal, vol. 17, n° 7, e05762. DOI: 10.2903/j.efsa.2019.5762.

[13] Commission européenne (2004). *Règlement (CE) n° 853/2004 fixant des règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale*. Journal officiel de l'Union européenne, L 139. https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=CELEX:32004R0853
[14] Commission européenne (2005). *Règlement (CE) n° 2073/2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires*. Journal officiel de l'Union européenne, L 338. https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=CELEX:32005R2073
[15] Le Guyader F.S., Loisy F., Atmar R.L., Hutson A.M., Estes M.K., Ruvoën-Clouet N., Pommepuy M., Le Pendu J. (2006). *Norwalk virus-specific binding to oyster digestive tissues*. Emerging Infectious Diseases, vol. 12, n° 6, p. 931–936. DOI: 10.3201/eid1206.051519. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2596755/
[16] Le Guyader F.S., Atmar R.L., Le Pendu J. (2012). *Transmission of viruses through shellfish: when specific ligands come into play*. Current Opinion in Virology, vol. 2, n° 1, p. 103–110. DOI: 10.1016/j.coviro.2011.10.029.
[17] McLeod C., Polo D., Le Saux J.C., Le Guyader F.S. (2017). *Depuration and relaying: a review on potential removal of norovirus from oysters*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, vol. 16, p. 692–706. DOI: 10.1111/1541-4337.12271.
[18] Papadopoulou C., Dovas C.I., Papageorgiou K., Chatzopoulos D., Billinis C. (2021). *Norovirus persistence in oysters to prolonged commercial purification*. Frontiers in Microbiology, vol. 12. DOI: 10.3389/fmicb.2021.695709. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8401112/
[19] Maalouf H., Schaeffer J., Parnaudeau S., Le Pendu J., Atmar R.L., Crawford S.E., Le Guyader F.S. (2011). *Strain-dependent norovirus bioaccumulation in oysters*. Applied and Environmental Microbiology, vol. 77, n° 10, p. 3189–3196. DOI: 10.1128/AEM.02533-10. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3126434/
[20] Maalouf H., Zakhour M., Le Pendu J., Le Saux J.C., Atmar R.L., Le Guyader F.S. (2010). *Distribution in tissue and seasonal variation of norovirus genogroup I and II ligands in oysters*. Applied and Environmental Microbiology, vol. 76, n° 16, p. 5621–5630. DOI: 10.1128/AEM.00148-10.
[21] Wang C., Li J., Li Y., Yu J., Zheng L. (2023). *Research progress on biological accumulation, detection and inactivation technologies of norovirus in oysters*. Foods, vol. 12, n° 21, art. 3891. DOI: 10.3390/foods12213891. https://www.mdpi.com/2304-8158/12/21/3891