

Vigilance, veille et surveillance des **risques alimentaires phycotoxiques**

Charlotte Grastilleur (1) (charlotte.grastilleur@agriculture.gouv.fr), Nathalie Arnich (2), Catherine Belin (3)

(1) Ministère de l'agriculture de l'agroalimentaire et de la forêt, Bureau des produits de la mer et d'eau douce, Paris, France

(2) Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, Direction de l'évaluation des risques, Maisons-Alfort, France

(3) Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer, Nantes, France

Résumé

La surveillance officielle des phycotoxines et de la flore productrice de celles-ci est régulièrement assurée en routine dans le milieu marin, grâce à des prélèvements d'eau pour lecture de flore comme par la réalisation d'analyses de coquillages. Ces dernières permettent le jugement de conformité par rapport aux teneurs maximales en phycotoxines réglementées fixées dans le règlement CE 853/2004. Ces actions relèvent du réseau officiel REPHY, animé par l'Ifremer.

Comme pour d'autres dangers des aliments, se pose la question d'une veille sanitaire complémentaire de la surveillance précitée, face aux dangers non réglementés ou émergents. L'Anses a été saisie de la question dans un contexte de révision du dispositif officiel de vigilance mis en place dans le cadre de la vérification de la pertinence des analyses chimiques des toxines lipophiles, suite au passage du bio-essai sur souris aux tests chimiques. La surveillance globale des flores par l'Ifremer doit permettre d'atteindre l'objectif de maîtrise des risques émergents.

Mots-clés

Phytoplancton, phycotoxines, biotoxines marines, *Alexandrium*, *Dinophysis*, *Pseudo-nitzschia*, ASP, DSP, PSP, surveillance des aliments, veille alimentaire, sécurité sanitaire des aliments, coquillages

Abstract

Monitoring and surveillance of phycotoxin food risks
Official routine monitoring of phycotoxins and toxin-producing algae is regularly implemented in the marine environment through phytoplankton identification in water samples, as well as by official analysis in shellfish in order to verify compliance with the maximum limits set in regulation (EC) no.853/2004.

These activities are conducted by the official REPHY network, coordinated by IFREMER (French Research Institute for Exploitation of the Sea).

As for other food safety hazards, the issue of emerging and non-regulated hazards needs to be fully addressed in addition to the ongoing above-mentioned surveillance efforts. This issue was submitted to ANSES (French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety) in the surveillance framework set up to verify the relevance of chemical tests to replace the mouse bio-assays formerly used for lipophilic toxin detection. The global algae surveillance plan implemented by IFREMER should make it possible to reach the goal of controlling emerging risk.

Keywords

Phytoplankton, Phycotoxins, Marine biotoxins, Alexandrium, Dinophysis, Pseudo-nitzschia, ASP, DSP, PSP, Food monitoring, Food surveillance, Food safety, Shellfish

Une surveillance régulière des algues toxiques connues et réglementées

Les micro-algues toxiques constituent un danger récurrent pour les coquillages de nos côtes, métropolitaines comme ultramarines. Le développement de ces algues est tributaire de conditions environnementales favorisant : température, lumière, présence de nutriments (minéraux dissous...). Les principales algues à l'origine de syndromes chez l'Homme ou d'effets toxicologiques chez l'animal de laboratoire sont réglementées dans le règlement CE 853/2004 (Anonyme, 2004) qui fixe des teneurs maximales dans les coquillages résumées dans le [Tableau 1](#).

Les effets sur la santé liés à la consommation de coquillages contaminés par des phycotoxines peuvent être importants en termes de santé publique, voire sévères s'agissant de certains effets aigus : les tableaux cliniques peuvent aller jusqu'au décès pour les syndromes ASP (Amnesic Shellfish Poisoning) et PSP (Paralytic shellfish poisoning). Aucun décès n'est à déplorer en France, mais des cas de mortalités ont été recensés (pour revue : Frémy et Lassus, 2001) en Amérique du Nord, comme au Japon [2] ou encore en Amérique-du-Sud (Anonyme, 2007). Des effets chroniques plus difficiles à cerner sont documentés (saxitoxines, acide domoïque et toxines lipophiles réglementées) ou suspectés (Anonyme, 2010c) pour des phycotoxines non réglementées à ce jour, telles que les pinnatoxines.

La présence potentielle de ces micro-algues près des zones de production de coquillages implique la nécessité d'une surveillance et d'un contrôle officiel adaptés des coquillages de culture comme de

ceux issus de la pêche, à pied ou embarquée⁽¹⁾. De plus, en cas de contamination avérée, des mesures de gestion dédiées doivent être appliquées, qui vont de la restriction des usages de la zone à des fins de production alimentaire à la fermeture totale (règlement CE 854/2004, annexe II, chapitre II, C).

La surveillance officielle des toxines réglementées est encadrée, par le règlement CE 854/2004 (Anonyme, 2004). Elle doit intégrer l'ensemble des espèces de coquillages susceptibles d'accumuler les phycotoxines réglementées et l'ensemble des zones de production professionnelle de culture (huîtres, moules...) comme de pêche (palourdes, coquilles Saint-Jacques...) et de collecte (mollusques bivalves, échinodermes, tuniciers et gastéropodes).

C'est ainsi que le REPHY (Réseau d'observation et de surveillance du phytoplancton et des phycotoxines) piloté par l'Ifremer (Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer) assure depuis plus de trente ans une surveillance régulière des toxines dans les coquillages de l'ensemble des zones de production (à caractère professionnel et régies par les textes dits du Paquet hygiène sur la sécurité des aliments⁽²⁾) selon une stratégie décrite dans un document intitulé « Cahier de procédures REPHY » et revue annuellement. http://envlit.ifremer.fr/content/download/81386/558742/file/Cahier_REPHY_2012_version_finale_12_sep_%202012.pdf.

(1) En l'espèce les autorités compétentes de contrôle sont le MAAF/Direction générale de l'alimentation (DGAL) et les services déconcentrés de l'État, DDPP et DDTM (directions départementales chargées de la protection des populations d'une part et d'autre part chargées des territoires et de la mer).

(2) Il s'agit des règlements CE 178/2002, 852/2004, 853/2004, 882/2004 et 2073/2005, qui sont classiquement regroupés sous cette appellation. La pêche de loisir n'en relève pas et n'est pas l'objet du présent article.

Tableau 1. Récapitulatif des toxines réglementées (règlement (CE) n° 853/2004 modifié, annexe III, section VII, chapitre V)

Nom de la phycotoxine et substances d'intérêt	Symptomatologie- Syndrome associé chez l'Homme (ou effets toxicologiques chez l'animal de laboratoire)	Teneur maximale autorisée	Principales algues productrices en France métropolitaine
Phycotoxines à effet PSP (saxitoxines)	Syndrome paralysant (PSP)	800 µg/kg	<i>Alexandrium sp</i>
Phycotoxines à effet ASP (acide domoïque)	Syndrome amnésiant (ASP)	20 mg acide domoïque/kg	<i>Pseudo-nitzschia sp</i>
Phycotoxines dites lipophiles	Syndrome diarrhéique pour l'acide okadaïque et les dinophysistoxines (DSP ou « diarrheic shellfish poisoning »), pour les pectenotoxines, pas de syndrome rapporté chez l'Homme mais des effets documentés chez l'animal (hepatotoxicité)...	160 µg d'équivalent d'acide okadaïque/kg pour l'ensemble de l'acide okadaïque, des dinophysistoxines et des pectenotoxines	<i>Dinophysis sp</i> , <i>Prorocentrum lima</i>
Yessotoxines	Pas de syndrome rapporté chez l'Homme mais des effets documentés chez l'animal (cardiotoxicité)	3,75 mg d'équivalent yessotoxines/kg	<i>Protoceratium reticulatum</i> , <i>Gonyaulax spinifera</i> , <i>Lingulodinium polyedra</i>
	Syndrome diarrhéique pour les azaspiracides	160 µg d'équivalent azaspiracide/kg	<i>Azadinium spinosum</i>

PSP: paralytic shellfish poisoning
ASP: amnesic shellfish poisoning

Émergence et veille sanitaire : la vigilance est-elle suffisante ?

Au-delà de cette surveillance régulière, pour des phycotoxines déjà identifiées et réglementées, se pose la question de l'introduction de nouvelles micro-algues jusqu'ici absentes des eaux françaises, voire européennes, ainsi que de l'implication sanitaire éventuelle d'algues jamais identifiées ou de toxicité mal définie.

Il s'agit donc d'une question liée à l'émergence de nouveaux dangers et des risques associés, que ceux-ci soient exotiques et importés de pays endémiques vers la France, ou déjà présents en France ou en Europe mais peu ou non identifiés.

Cette émergence est plausible, comme en témoignent l'identification récente à Madère de *Gambierdiscus* producteur de ciguatoxines (phycotoxines responsables du syndrome nommé ciguatera ou gratte) (Otero *et al*, 2010 ; , Hossen *et al*, 2013), l'identification en 2011 de *Vulcanodinium rugosum* producteur de pinnatoxines dans l'étang d'Ingril (Hérault) ou encore la prolifération inhabituelle en rade de Brest (Chapelle *et al*, 2013) depuis 2012 d'*Alexandrium minutum* producteur de toxine PSP.

La mondialisation du trafic maritime et les flux qui en résultent, de même que la problématique du réchauffement climatique, ne font que renforcer le besoin de vigilance des pouvoirs publics sur ces questions : la question de la veille sanitaire phycotoxinique est donc posée, au sens de la terminologie généralement retenue par les évaluateurs de risques.

L'épisode durable de toxicité survenu à Arcachon en 2005 a conduit à revoir les techniques de détection de cette famille de phycotoxines (Tableau 1). Au bio-essai sur souris (BES : injection standardisée à l'animal et surveillance de survenue d'une symptomatologie) s'est substituée, à partir de 2010 (Anonyme-, 2005), une détection directe des molécules phycotoxiniques par analyse chimique (ou AC, méthode par chromatographie liquide couplée à la spectrographie de masse en tandem préconisée actuellement dans le règlement CE 2074/2005 modifié) des principales toxines exprimées en équivalent d'acide okadaïque. Cette méthode requiert de connaître *a priori* la liste des substances que l'on souhaite rechercher, à l'inverse du bio-essai sur souris qui est un outil de dépistage global.

Complémentairement, un réseau dit de « vigilance » a été mis en place en France en 2006, avec la mise en place de sept points de référence, puis dix points en 2008 (dispositif expertisé par l'Afssa en 2009 (Anonyme, 2009d) pour poursuivre une surveillance des phycotoxines dans ce contexte de passage du test des substances lipophiles sur souris à un test chimique (recherche spécifique des molécules réglementées). Cette « vigilance » est avant tout une comparaison des deux dispositifs analytiques, tests chimiques (AC) ou sur animal (BES).

Le but est de vérifier si, dans des échantillons de coquillages collectés dans quelques points de comparaison disséminés sur le territoire métropolitain, dits points de « vigilance », des molécules lipophiles

identifiables par test sur souris, sensible et peu spécifique, ne risquent pas d'être présentes mais non détectées par les recherches chimiques par LC-MS/MS, ciblées.

Nous ajoutons volontairement ici des guillemets à « vigilance », car cette terminologie est davantage celle appliquée à la surveillance des effets adverses, notamment pharmacologiques.

Le réseau de vigilance comprend les points énumérés dans le Tableau 2. Ces points de vigilance ont été sélectionnés parmi les points de surveillance REPHY et leur pertinence est revue annuellement. La carte d'origine est donc ajustée : elle doit encore l'être à la lueur de l'avis de l'Anses de 2014 (cf. infra). Aujourd'hui par exemple le point d'Antifer est désormais retiré (car non directement choisi pour représenter une zone de production de coquillages).

Chaque mois, ces points de vigilance font l'objet d'un double examen : un bio-essai sur souris sur la fraction lipophile et une analyse chimique (qui comprend les molécules réglementaires lipophiles). Les points de vigilance sont donc répertoriés actuellement en fonction de la survenue de phénomènes de discordance, c'est-à-dire de résultats non concordants entre le BES et l'AC.

En appui à ce réseau de vigilance a été mise en place dès 2010 une cellule de vigilance⁽³⁾ dont la mission est de fixer les actions à conduire pour compléter l'enquête sur les causes de discordance, selon un protocole qui évolue chaque année avec les connaissances et l'expérience acquise au fil du temps (diagramme de la Figure 1).

Le cas de discordance le plus fréquent est le BES+/AC-, qui signe la présence potentielle d'un danger que le « filtre » animal est capable de détecter, là où il n'est pas mis en évidence par les analyses chimiques classiques.

Dans ce cas et particulièrement lorsque cette discordance n'a jamais été observée au point considéré, des analyses supplémentaires peuvent être conduites.

Cette « vigilance » n'intègre pas, par construction (extraction et injection à l'animal de la fraction lipophile des échantillons), de toxines hydrophiles et ne permet donc qu'un criblage (« screening ») partiel, en vue de la détection d'une émergence ou d'une toxine non identifiée, non recherchée par les analyses chimiques spécifiques habituelles (toxines réglementées). Par ailleurs, comme le montre la carte des points (Tableau 2), elle correspond à un faible maillage du territoire.

La DGAL a donc souhaité revoir ce dispositif dans la perspective également d'améliorer la veille sanitaire sur le territoire national, au sens de l'exercice d'une capacité précoce de détection des dangers non réglementés, et non plus seulement d'un suivi d'inter-comparaison

(3) La cellule comprend les administrations, telles que la DGAL, la direction générale de la santé, la direction générale de la concurrence de la consommation et de la répression des fraudes, la direction des pêches maritimes et la direction de l'eau et de la biodiversité, l'Ifremer, l'Anses et l'Institut national de veille sanitaire, ainsi que, éventuellement, des experts invités.

Tableau 2. Liste des points de vigilance pour les phycotoxines lipophiles en 2009

Zone marine		Points de référence 2009		Suivi depuis	Coquillages		Commentaires	Échantillonnage
Code	Libellé	Mnémo	Libellé					
006	Baie de Somme-large	006-P-009	Pointe de St Quentin	2009	Moules	Bouchot	Zone non à risque, n'ayant jamais connu d'épisode toxique	Aucun résultat disponible
010	Baie de Seine et Orne	010-P-002	Antifer ponton pêche	2008	Moules	structure spécifique	Zone à risque + maxima nationaux <i>Dinophysis</i>	Moules échantillonnées régulièrement depuis mars 2008
018	Cotentin Ouest	018-P-056	Pointe Agon Nord	2009	Moules Huîtres creuses	Bouchot Culture sur table	Zone à risque pour les coquillages côtiers, n'ayant jamais connu d'épisode toxique	Moules échantillonnées régulièrement depuis mars 2009
047	Baie de Concarneau	047-P-003	Le Scoré	2008	Moules Huîtres creuses	Filière Culture sur table	Zone à risque	Moules échantillonnées régulièrement depuis mai 2008
065	Estuaire de la Vilaine	065-P-001	Kervoyal	2008	Moules	Bouchot	Zone à risque + résultats de temps de survie courts avec symptômes neurologiques en 2006 et 2007	Moules échantillonnées régulièrement depuis mai 2008
068	Traits du Croisic	068-P-002	Le Grand Traict	2006	Moules Huîtres creuses Coques	Culture à plat Culture sur table Gisement naturel	Zone à risque + observation de résultats douteux à plusieurs reprises, dont certains avec symptômes neurologiques en 2006, 2007 et 2008	Moules (principalement) ou huîtres ou coques ou palourdes échantillonnées régulièrement depuis mai 2006
082	Pertuis de Maumusson	082-P-009	Ronce	2006	Huîtres creuses Coques	Culture sur table Gisement naturel	Zone non à risque mais observation de résultats douteux à plusieurs reprises avant 2007	Huîtres échantillonnées régulièrement depuis avril 2006
087	Arcachon aval	087-P-009	Banc Arguin Sud	2006	Moules Huîtres creuses Coques	Gisement naturel Culture sur table Gisement naturel	Plusieurs épisodes toxiques atypiques depuis 2005	Moules et huîtres échantillonnées régulièrement depuis janvier 2006
097	Étang de Salses-Leucate	097-P-002	Parc Leucate 2	2006	Moules Huîtres creuses	Filière ou corde Filière ou corde	Zone à risque sur une longue période + observation de résultats douteux à plusieurs reprises	Moules et huîtres échantillonnées régulièrement depuis janvier 2006
118	Étang de Diana	118-P-001	Diana centre	2008	Moules Huîtres creuses	Filière ou corde radeau	Zone à risque	Moules (principalement) ou huîtres échantillonnées régulièrement depuis janvier 2008

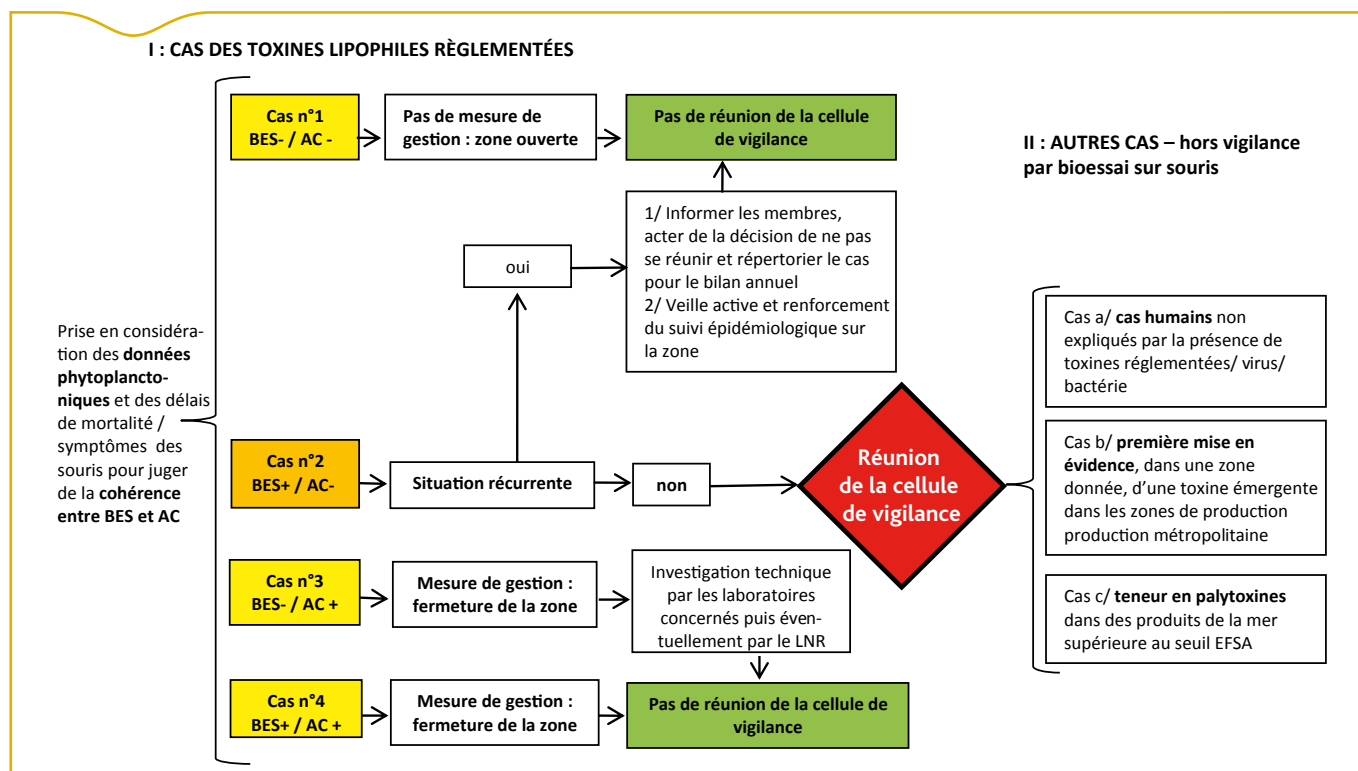


Figure 1. Protocole d'action sur les points de vigilance

entre le système de détection sur souris, dans le cadre du passage à un test analytique chimique plus ciblé.

C'est pourquoi l'Anses a été saisie par la DGAL pour analyser la pertinence de la poursuite de l'exercice de la vigilance dans son schéma actuel. L'avis de l'Agence (Anonyme, 2014) a été rendu le 29 juillet 2014.

L'Agence propose de maintenir le dispositif, tout en approfondissant les capacités de recherche sur les échantillons BES+/ AC- pour tenter de cerner l'origine de la toxicité en BES, ce qui n'est jamais facile. En effet, compte tenu du grand nombre de discordances observées chaque année depuis 2010 (7 en 2010, 20 en 2011, 16 et 2012 et 16 en 2013), il n'a pas été possible de conduire pour l'ensemble de ces cas les investigations approfondies nécessaires à l'identification de l'agent causal, qui est un travail de recherche long et complexe.

C'est pourquoi, l'Anses recommande que soit constituée une échantillothèque qui pourra être proposée en ce sens et mise à disposition de la communauté scientifique. Des projets scientifiques robustes seront les seuls à même d'approfondir la connaissance des phénomènes de discordance en présence, tant au plan de l'identification formelle des substances impliquées et des flores productrices de ces toxines que des effets toxicologiques de ces substances.

Les méthodes de « screening » non ciblées sont aussi une piste de réflexion importante pour l'identification des dangers en présence. C'est d'ailleurs un axe de travail fixé dans le programme 2015 du Laboratoire national de référence sur les bio-toxines marines (Anses Maisons-Alfort).

Avenir de la veille sur les coquillages

Au-delà du maintien de ces points de « vigilance » et du suivi, avec un maillage assez faible du territoire, des points décrits précédemment, il est nécessaire de penser globalement la détection précoce des flores phytoplanctoniques susceptibles de contaminer les coquillages.

L'Ifremer exerce à cet effet une surveillance globale du littoral. Le REPHY a en effet pour objectifs la connaissance du phytoplancton marin des eaux côtières, qui inclut entre autres le recensement des efflorescences exceptionnelles, le suivi des espèces phytoplanctoniques productrices de toxines susceptibles de s'accumuler dans les produits marins de consommation ou de contribuer à d'autres formes d'exposition dangereuse pour la santé humaine, et la recherche de ces toxines dans les mollusques bivalves présents dans les zones de production ou dans les gisements naturels.

Les observations du phytoplancton effectuées régulièrement sur plus d'une centaine de points de prélèvement répartis sur tout le littoral concernent, soit l'ensemble des espèces identifiables et dénombrables au microscope, soit une partie de ces espèces mais incluant obligatoirement les espèces toxiques connues ou soupçonnées de l'être, et les espèces proliférantes. Cette stratégie d'observation permet donc d'anticiper d'éventuels épisodes toxiques émergents, ou bien de revenir sur les observations historiques d'espèces rares si nécessaire, par exemple en cas de doute sur une éventuelle toxicité. De façon générale, la plupart des espèces toxiques sont dangereuses quand elles sont présentes à des concentrations importantes (la seule exception connue étant *Dinophysis*, producteur de toxines lipophiles). De ce fait, la prolifération inhabituelle d'une espèce toxique, que cette toxicité soit avérée ou seulement soupçonnée, est un signal important pour l'anticipation d'un éventuel épisode toxique.

C'est un rôle de veille majeur qui relève des pouvoirs publics. Celui-ci doit s'appuyer sur des connaissances fines des flores et sur des capacités entretenues (personnel suffisant et compétent) de lecture et d'identification taxonomique. Ces dernières sont essentiellement détenues par l'Ifremer qui bénéficie de plus de trente ans d'expérience dans le domaine des espèces marines. D'autres organismes de recherche tels que le Muséum national d'histoire naturelle ont également des compétences dans le domaine de l'identification taxonomique mais qui sont jusqu'ici plus tournées vers les espèces des eaux douces, en particulier les cyanobactéries.

Cela impose le maintien pérenne en France de ces compétences fondamentales pour la santé publique et la sécurité des aliments, avec une logique de diffusion et partage de ces compétences, et une adaptation constante des dispositifs de veille.

Références bibliographiques

Anonyme 2004. Règlement (CE) n°854/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 fixant les règles spécifiques d'organisation des contrôles officiels concernant les produits d'origine animale destinés à la consommation humaine.

Anonyme 2005. Règlement (CE) n°2074/2005 (en particulier modifié par le règlement (CE) n°15/2011) de la Commission du 5 décembre 2005 établissant les mesures d'application relatives à certains produits régis par le règlement (CE) n°853/2004 du Parlement européen et du Conseil et à l'organisation des contrôles officiels prévus par les règlements (CE) n°854/2004 du Parlement européen et du Conseil et (CE) n°882/2004 du Parlement européen et du Conseil, portant dérogation au règlement (CE) n°852/2004 du Parlement européen et du Conseil et modifiant les règlements (CE) n°853/2004 et (CE) n°854/2004.

Anonyme 2007. Appui scientifique et technique de l'Afssa (saisine 2007-SA-0016) relatif au risque phycotoxinique dans les coquillages autres que les mollusques bivalves vivants (gastéropodes, échinodermes et tuniciers).

Anonyme 2010. Scientific opinion on marine biotoxins in shellfish- Cyclic imines (spirolides, gymnodimines, pinnatoxins and pteriatoxins). EFSA J. 8(6):1628.

Anonyme 2009a. Scientific opinion on marine biotoxins in shellfish-Domoic acid. EFSA J. 1181, 1-61.

Anonyme 2009b. Scientific opinion on marine biotoxins in shellfish-Saxitoxin group. EFSA J. 1019, 1-76.

Anonyme 2009c. Scientific opinion on marine biotoxins in shellfish-Pectenotoxin group. EFSA J. 1109, 1-47.

Anonyme 2009d. Scientific opinion on marine biotoxins in shellfish-Summary on regulated marine biotoxins. EFSA J. 1306, 1-23.

Anonyme 2009e. Avis de l'Afssa n°2009-SA-0205 relatif au dispositif de surveillance des phycotoxines lipophiles dans les zones conchylicoles concernant la détermination des périodes à risque et des points de référence.

Anonyme 2014. Avis de l'Anses (saisine n°2012-SA-0196) du 29 juillet 2014 relatif au dispositif de vigilance exercée vis-à-vis des phycotoxines lipophiles contaminant les coquillages dans le milieu marin.

Armitage, P., Berry, G., 1987. Statistical Methods in Medical Research. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 94-100, 411-416.

Chapelle A., Le Bec C., Le Gac M., Labry C., Amzil Z., Guillou L., Dreanno C., Pineau-Guillou L. (2013). Étude sur la prolifération de la micro algue *Alexandrium minutum* en rade de Brest. Projet Daoulex. Rapport d'avancement n°1: Novembre 2013. <http://archimer.ifremer.fr/doc/00191/30230/>.

Frémy J.M. Lassus P. 2001. Toxines d'algues dans l'alimentation. Ifremer-Afssa-Ministère de l'environnement, 554 pp.

Hossen V., Velge P., Turquet J., Chinain M., Laurent D., Krysz S. 2013. La ciguatera: un état des lieux en France et dans l'Union européenne. Bull. Epid. Santé Anim. Alim. 56, 3-9.

Otero P. Pérez S., Alfonso A., Vale C., Rodríguez P., Gouveia N.N., Gouveia N., Delgado J., Vale P., Hiram M., Ishihara Y., Molgó J., Botana L.M., 2010. First toxin profile of ciguateric fish in Madeira Archipelago (Europe). Annal. Chem.82(14): 6032-6039.