

Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Décembre 2019

Surveillance des phycotoxines dans les coquillages

Laurence Rudloff⁽¹⁾, Pauline Favre⁽¹⁾, Maud Lemoine⁽²⁾, Marina Nicolas⁽³⁾

laurence.rudloff@agriculture.gouv.fr

(1) Direction générale de l'Alimentation, sous-direction de la sécurité sanitaire des aliments, bureau des produits de la mer et d'eau douce, Paris, France

(2) Ifremer, Nantes, France

(3) Anses, Laboratoire national de référence Biotoxines marines, Maisons-Alfort, France

Résumé

Cet article présente le dispositif national de surveillance de trois groupes de biotoxines marines réglementées dans les coquillages. Ce dispositif est mis en œuvre, d'une part au niveau de zones marines de production par le dispositif de surveillance REPHY-REPHYTOX de l'Ifremer et, d'autre part au stade de la distribution par le réseau des laboratoires agréés de la DGAL dans le cadre des plans de surveillance et des plans de contrôle mis en place chaque année. La réglementation européenne, la nature des phycotoxines recherchées et les méthodes analytiques sont présentées, ainsi que les modalités et la stratégie d'échantillonnage des plans de surveillance mis en œuvre.

Les résultats des plans de surveillance de la DGAL obtenus pour les phycotoxines amnésiantes et lipophiles dans les gastéropodes, échinodermes, tuniciers en 2015 et les phycotoxines lipophiles dans les moules en 2016 sont exposés et discutés.

Mots-clés:

Phycotoxines, coquillages, toxines lipophiles, surveillance

Abstract

Surveillance of phycotoxins in shellfish

This paper presents the French national surveillance system for of the three groups of regulated marine biotoxins in shellfish. This system is implemented in marine production areas by the REPHY-REPHYTOX network of the French Research Institute for Exploration of the Sea (IFREMER), and at retail level through the network of official laboratories accredited by the Directorate General for Food (DGAL), within the framework of official controls. European regulations, the nature of shellfish toxins tested for, and the analytical methods used are explained, as well as the sampling methods and the strategy for the implemented monitoring plans. Results of the DGAL's monitoring plans regarding amnesic shellfish and lipophilic toxins in gastropods, echinoderms and tunicates for 2015, and lipophilic toxins in mussels for 2016, are presented and discussed here.

Keywords:

Shellfish toxins, shellfish, lipophilic toxins, surveillance

Les coquillages ont la capacité de bio-accumuler les phycotoxines, métabolites produits par des micro-algues (phytoplancton) naturellement présentes dans l'eau et qui nourrissent les coquillages.

On distingue trois types de phycotoxines :

- toxines de la famille de l'acide domoïque : toxines amnésiantes appelées ASP,
- toxines de la famille de la saxitoxine : toxines paralysantes appelées PSP,
- toxines lipophiles incluant l'ensemble de l'acide okadaïque, des dinophysistoxines et des pecténotoxines (Groupe acide okadaïque AO/DTXs+PTXs), azaspiracides (Groupe AZAs) et yessotoxines (Groupe YTX).

Les toxines ASP et PSP provoquent des troubles neurologiques potentiellement graves pouvant entraîner un décès ; les toxines lipophiles, quant à elles, sont responsables de symptômes digestifs (diarrhées) généralement sans gravité.

Le dispositif national de surveillance des trois groupes de biotoxines marines réglementées dans les coquillages consiste en un double maillage, d'une part la surveillance au niveau de zones marines de production et d'autre part au stade de la distribution dans le cadre des plans de surveillance et des plans de contrôle (PSPC).

Cet article présente uniquement les résultats des plans de surveillance des phycotoxines dans les coquillages au stade de leur mise sur le marché.

Surveillance officielle des phycotoxines dans les coquillages au niveau de leurs zones marines de production

La surveillance officielle des phycotoxines dans les coquillages au niveau de leurs zones marines de production est exercée à travers les deux réseaux REPHY et REPHYTOX :

- Le REPHY⁽¹⁾ qui permet l'observation du phytoplancton dont les espèces productrices de toxines⁽²⁾
- Le REPHYTOX qui permet la recherche et le suivi des toxines susceptibles de s'accumuler dans les produits marins de consommation, en particulier les mollusques bivalves présents dans les zones de production ou dans les gisements naturels exploités professionnellement. Les modalités de surveillance des phycotoxines des zones de production de coquillages sont décrites dans le cahier de procédures REPHYTOX de l'Ifremer⁽³⁾

La surveillance des phycotoxines du REPHYTOX est étroitement liée à la surveillance du phytoplancton toxique réalisée dans le cadre du REPHY : en cas de présence de phytoplancton toxique (au-delà des seuils définis pour chacune des espèces toxiques dans les procédures REPHYTOX), les analyses de toxines sont déclenchées dans les coquillages. Des procédures REPHY et REPHYTOX locales précisent, le cas échéant, ces dispositions nationales.

Dans certains cas, le suivi du phytoplancton toxique n'est pas suffisamment fiable pour garantir la sécurité sanitaire des coquillages de la zone, les analyses de toxines sont alors réalisées systématiquement dans les coquillages. C'est le cas :

- Des zones à risque pour les toxines lipophiles pendant des périodes à risque prédéterminées. Ces zones jugées plus sensibles au vu

des données historiques de contamination peuvent connaître une contamination des coquillages, même en présence de très faibles quantités de phytoplancton toxique justifiant une analyse systématique dans les coquillages,

- Des gisements au large, qui sont suivis systématiquement pour les trois types de toxines. Dans ce cas la hauteur de la colonne d'eau ne permet pas d'avoir une vision exhaustive de l'ensemble des espèces de phytoplancton présentes.

Ainsi, le REPHYTOX assure des prélèvements sur l'ensemble du littoral, avec une couverture spatiale qui répond à un double impératif de pertinence scientifique et d'optimisation du rapport coût/efficacité.

S'agissant des toxines lipophiles, les moules sont considérées comme une espèce sentinelle, car les données historiques montrent qu'elles se contaminent toujours plus vite que tous les autres coquillages. Les moules n'ont en effet pas cette capacité d'inhibition de la filtration ni de « tri » en présence d'espèces toxiques. De plus, les moules exploitées sont souvent immergées plus longtemps que d'autres coquillages exploités plus haut sur l'estran, comme les huîtres, coques, palourdes. De ce fait les moules sont plus longtemps exposées aux espèces toxiques. Quand elles sont présentes et exploitées dans une zone, les moules sont analysées en première intention, les autres coquillages étant analysés dès que les moules deviennent toxiques.

Il n'y a pas d'espèces sentinelles pour les ASP et PSP. Pour l'ASP, toutes les espèces se contaminent de la même manière. Pour le PSP, la dangerosité de la toxine conduit à suivre tous les coquillages en cas de présence d'algues toxiques dans l'eau.

Environ 250 points d'échantillonnage sont potentiellement mobilisables pour des prélèvements de coquillages sur l'ensemble du littoral français métropolitain. Les prélèvements peuvent concerner divers types de coquillages, en gisements naturels ou bien élevés selon des modes variés (bouchots, filières, tables, etc.).

Les évolutions des modalités de surveillance sanitaire des zones de production de coquillages (modalités d'échantillonnage notamment) sont définies dans le cadre d'un comité de pilotage national (« Copil surveillance sanitaire des zones de production de coquillages »). Ce comité regroupe les différents acteurs concernés de l'administration (DGAL, DPMA, DGS, Ifremer, Anses, Santé publique France). Piloté par la DGAL, il se réunit au minimum une fois par an.

Surveillance des phycotoxines dans les coquillages au stade de leur mise sur le marché

La surveillance des coquillages au stade de la distribution, décrite dans l'annexe II, chapitre II point D.2 du Règlement (CE) n° 854/2004, vient chaque année compléter le dispositif de surveillance en France métropolitaine.

Le plan de surveillance des phycotoxines dans les coquillages, mis en place chaque année par la DGAL dans le cadre des plans de surveillance et des plans de contrôle, a pour objectif d'évaluer le niveau de contamination phycotoxinique des coquillages mis sur le marché et contribue, par conséquent, à l'évaluation de l'exposition du consommateur. Les prélèvements sont échelonnés de façon régulière tout au long de l'année. Le choix des établissements et des échantillons est aléatoire. Les prélèvements, composés au minimum de 10 individus entiers, doivent se faire en dehors de toute enquête mise en œuvre dans le cadre de suspicion de non-conformité ou de toxi-infection alimentaire collective. Les analyses sont réalisées par le réseau des laboratoires agréés. Ce plan s'inscrit dans le cadre général de la vérification de la conformité des denrées alimentaires qui relève de la responsabilité des autorités compétentes.

(1) <http://envlit.ifremer.fr/content/download/83300/602862/file/Cahier+REPHY+2017.pdf>

(2) Les espèces toxiques suivantes sont recherchées : *Alexandrium*, *Dinophysis*, *Pseudo-nitzschia*, *Ostreopsis*, *Gonyaulax spinifera*, *Lingulodinium polyedrum*, *Prorocentrum reticulatum*, *Prorocentrum lima*.

(3) <http://archimer.ifremer.fr/doc/00420/53123>

Tableau 1. Répartition des prélèvements et échantillons par catégorie de produits et analytes

	Nombre de prélèvements					Nb d'éch analysés	Nb d'éch non conformes	% conformité
	Bulots	Bigorneaux	Oursins	Violet, buccins murex crépidules	Total			
ASP	49	19	4	3	75	73	0	100
Toxines lipophiles	50	14	4	6	74	73	0	100
Total	99	33	8	9	149	146	0	100

Tableau 2. Données de contamination des coquillages du groupe 1 par les toxines lipophiles (n=73)

	Nombre d'échantillons (%)		
	Groupe AO/DTXs+PTXs	Groupe AZAs	Groupe YTX
Résultat inférieur à la limite de quantification LQ*	60 (82 %)	70 (96 %)	68 (93 %)
Résultat supérieur à la LQ* et inférieur au seuil réglementaire	13 (18 %)	3 (4 %)	5 (7 %)
Résultat supérieur au seuil réglementaire**I	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)

	Groupe AO/DTXs+PTXs	Groupe AZAs	Groupe YTX
*Limite de quantification(LQ)	10 µg/kg	2 µg/kg	5 µg/kg
**Seuil réglementaire		160 µg/kg de chair	3,75 mg/kg de chair

Matériel et méthode

En 2015, en complément de la surveillance des phycotoxines dans les mollusques bivalves vivants (résultats présentés dans le bulletin épidémiologique n°77), il s'est avéré opportun d'acquérir des données de contamination des gastéropodes, échinodermes et tuniciers, pour lesquels les mêmes valeurs réglementaires s'appliquent. Des prélèvements de coquillages de groupe 1⁽⁴⁾ de toutes provenances ont donc été effectués au stade de la distribution. Au total, 150 échantillons de gastéropodes marins, échinodermes et tuniciers d'élevage ou de pêche ont été prélevés vivants ou cuits, entiers et sans sauce :

- 75 échantillons pour une recherche de phycotoxines ASP;
- 75 échantillons pour une recherche de phycotoxines lipophiles.

Il est également prévu d'analyser ultérieurement 75 échantillons pour la recherche de phycotoxines PSP, lors de la mise en place de la méthode chimique dite de Lawrence.

Les analyses ASP et phycotoxines lipophiles ont été réalisées par le LNR Biotoxines Marines.

En 2016, le plan de surveillance portait exclusivement sur la contamination des moules (coquillages du groupe 3⁽⁵⁾) par les phycotoxines lipophiles au stade de la distribution. En effet, les résultats des dispositifs de surveillance REPHYTOX ainsi que les résultats des plans de surveillance depuis plusieurs années montrent que les moules sont les mollusques bivalves filtreurs les plus fréquemment contaminés par les phycotoxines lipophiles. Ce plan de surveillance prévoyait la réalisation de 300 prélèvements de moules vivantes.

Les prélèvements ont été réalisés aléatoirement au stade de la distribution, dans les grandes et moyennes surfaces (GMS) ou dans les magasins de détail (poissonneries).

(4) Définis dans l'arrêté du 6 novembre 2013 relatif au classement, à la surveillance et à la gestion sanitaire des zones de production et des zones de reparcage de coquillages vivants

(5) Définis dans l'arrêté du 6 novembre 2013 relatif au classement, à la surveillance et à la gestion sanitaire des zones de production et des zones de reparcage de coquillages vivants

Les prélèvements réalisés ont été transmis au réseau de laboratoires agréés pour analyse.

Résultats

Résultats obtenus sur les coquillages du groupe 1 en 2015

• Prélèvements réalisés

149 prélèvements ont été réalisés sur 150 programmés. Le taux de réalisation des prélèvements est donc de 99,3 %.

• Résultats obtenus

Parmi les 149 prélèvements de coquillages réalisés, 3 ont été refusés pour quantité insuffisante prélevée pour analyse. Le taux de réalisation des analyses est donc de 98 % (n=146 prélèvements ont donné lieu à un résultat analytique).

Sur l'ensemble des résultats d'analyses obtenus, aucun dépassement des seuils réglementaires n'a été observé, soit un taux de conformité de 100 % (IC₉₅-[97,4- 100])⁽⁶⁾ pour les 2 familles de toxines réglementées recherchées (phycotoxines ASP et phycotoxines lipophiles).

Le **tableau 1** présente les résultats de manière globale :

En ce qui concerne les toxines du groupe de l'acide domoïque (ASP) :

Sur 75 prélèvements, 73 ont été analysés. Aucun dépassement du seuil en acide domoïque n'a été mis en évidence, tous les résultats étaient inférieurs à la limite de quantification, soit 100 % (IC₉₅-[95- 100]) des échantillons conformes pour cette famille de toxines.

En ce qui concerne les toxines lipophiles :

Sur les 74 prélèvements, 73 ont été analysés. Aucun dépassement du seuil en toxines lipophiles n'a été détecté, soit 100 % (IC₉₅-[95- 100]) des échantillons conformes pour cette famille de toxines. Le **tableau 3** présente les données de contamination des coquillages du groupe 1 par les toxines lipophiles.

(6) IC₉₅: Intervalle de confiance à 95 %

Tableau 3. Données de contamination des moules vivantes par les toxines lipophiles

	Nombre d'échantillons (%)		
	Groupe AO+DTXs+PTXs	Groupe AZAs	Groupe YTX
Résultat inférieur à la limite de quantification LQ*	260 (86,9 %)	289 (96,6 %)	290 (96,9%)
Résultat supérieur à la LQ* et inférieur au seuil réglementaire	39 (13,1 %)	10 (3,4 %)	9 (3,1 %)
Résultat supérieur au seuil réglementaire**	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)

	Groupe AO+DTXs+PTXs	Groupe AZAs	Groupe YTX
*Limite de quantification (LQ)	Limite propre à chaque laboratoire		
**Seuil réglementaire	160 µg/kg de chair		3,75 mg/kg de chair

Résultats obtenus sur les moules vivantes en 2016

300 échantillons de moules vivantes ont été prélevés sur les 300 prescrits.

299 échantillons ont donné lieu à des résultats analytiques. Aucun dépassement du seuil en toxines lipophiles n'a été détecté. Le taux de conformité des moules vivantes pour cette famille de toxines est donc estimé à 100 % (IC95-[98,7-100,0 %]).

Le **tableau 3** présente les données de contamination des moules vivantes par les toxines lipophiles.

Discussion

Les résultats indiquent un taux de conformité de 100 % (IC95-[98,4-100 %]) pour ces deux plans:

- plan de surveillance 2015 sur la contamination des gastéropodes, échinodermes, tuniciers par les phycotoxines ASP et les phycotoxines lipophiles

- plan de surveillance 2016 sur la contamination des moules vivantes par les phycotoxines lipophiles.

Ces résultats montrent que l'exposition des consommateurs est très faible. Ils indiquent que la surveillance des zones marines de production, associée à des mesures de gestion en cas de dépassement de seuils, permet d'assurer un bon statut sanitaire des produits mis sur le marché en France.

En 2017, le plan de surveillance a pour objectif d'estimer le taux de contamination des mollusques bivalves vivants de toutes provenances mis sur le marché par les différents groupes de phycotoxines réglementées (phycotoxines ASP, phycotoxines PSP et phycotoxines lipophiles) et de comparer ces résultats avec ceux obtenus dans le cadre des plans de surveillance précédents.

Encadré.**Objectifs**

Les plans de surveillance de la DGAL (dispositif PSPC) relatifs aux phycotoxines dans les coquillages viennent compléter le dispositif de surveillance REPHY-REPHYTOX des coquillages dans le milieu marin. L'objectif de ces plans est d'évaluer le taux de contamination des coquillages mis sur le marché par les phycotoxines et par conséquent, l'exposition du consommateur.

Cadre de la programmation

Références réglementaires

- Règlement (CE) n°853/2004 du 29 avril 2004 (annexe III, section VII, chapitre V)
- Règlement (CE) n° 854/2004 (annexe II, chapitre II, point B)
- Règlement (CE) n° 854/2004 (annexe II, chapitre II point D.2)

Protocole

- **Nature des contaminants recherchés en 2015 pour le groupe 1:** les deux familles de toxines réglementées: toxines lipophiles (acide okadaïque, dinophysistoxines, pecténotoxines, yessotoxines et azaspiracides), et toxines amnésiantes du groupe de l'acide domoïque,
- **Nature des contaminants recherchés en 2016 pour les moules vivantes:** la famille de toxines réglementées: toxines lipophiles (acide okadaïque, dinophysistoxines, pecténotoxines, yessotoxines et azaspiracides),
- **Productions concernées (« population »):** gastéropodes marins, échinodermes et tuniciers d'élevage ou de pêche en 2015 et moules vivantes en 2016,
- **Stade de la chaîne alimentaire:** coquillages mis sur le marché,

- **Définition du « cas »:** échantillon contaminé par des phycotoxines réglementées au-delà des seuils fixés par la réglementation européenne,

- **Nombre d'échantillons et modalité d'échantillonnage:** 150 échantillons pour le plan de surveillance 2015 du groupe 1 et 300 échantillons pour le plan de surveillance 2016.

- **Stratégie d'échantillonnage:** aléatoire, le nombre d'échantillons prélevé par région étant proportionnel à la densité de population humaine.

- **Méthode analytique, nature du prélèvement**

Les méthodes d'analyse utilisées dans le cadre du dispositif REPHYTOX et dans le cadre des plans de surveillance et des plans de contrôle de la DGAL sont les suivantes:

- Toxine ASP: analyse quantitative de l'acide domoïque dans les coquillages par chromatographie liquide haute performance avec détection par ultra-violet (CLHP-UV): méthode Anses PBM BM LSA-INS-0140.
- Toxines lipophiles⁽¹⁾: détermination des biotoxines marines lipophiles par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS): méthode Anses PBM BM LSA-INS-0147.
- Toxines PSP: bio-essai sur souris pour la détermination des toxines de la famille de la saxitoxine dans les coquillages - méthode Anses PBM BM LSA-INS-0143.

(1) Sont recherchées les toxines réglementées (acide okadaïque, dinophysistoxines et pectenotoxines - OA+DTXs+PTXs, yessotoxines - YTX et azaspiracides - AZA) et également certaines toxines non réglementées (Spirolides - SPX, Gymnodimines - GTX et Pectenotoxine 2 sécoacide - PTX2sa).