
Appui scientifique et technique relatif à l'efficacité des dispositifs de traitement de l'eau de mer contaminée par des dangers microbiologiques et phycotoxiniques

Saisine 2013-SA-0052 « Appui scientifique et Technique (AST) traitement de l'eau de mer en conchyliculture »

RAPPORT d'appui scientifique et technique

Comité d'experts spécialisé « Eaux »

Groupe de travail « AST traitement de l'eau de mer en conchyliculture »

Janvier 2015

Résumé

Le rapport s'attache, dans le cadre des dérogations accordées par la DGAI pour le pompage de l'eau de mer dans une zone en période de fermeture pour contamination phycotoxinique et dans le cadre de l'alimentation des bassins de conchyliculture alimentés avec de l'eau ne provenant pas d'une zone conchylicole classée A :

- à identifier les dangers biologiques et phycotoxiques qu'il conviendrait de maîtriser pour produire de l'eau d'alimentation des bassins de conchyliculture qui hébergent des coquillages sains ;
- à fournir des informations sur l'efficacité potentielle de divers dispositifs utilisés dans le domaine de la production d'eau (douce) destinée à la consommation humaine pour la maîtrise de ces dangers dans l'eau de mer.

Les autorités sanitaires ont également interrogé l'Anses sur les mesures de contrôle des dispositifs de traitement que les services de l'État concernés devraient appliquer lors des inspections des établissements conchylicoles.

L'expertise collective conclut que les procédés de traitement de l'eau à mettre en œuvre devront abattre prioritairement les dangers microbiologiques susceptibles d'être trouvés en mer et de s'accumuler dans les coquillages à savoir les norovirus, les salmonelles, le virus de l'hépatite A et les *Vibrio parahaemolyticus*. Concernant les dangers phycotoxiques, l'expertise recommande que toutes les familles de toxines visées par la réglementation européenne soient maîtrisées, que ces toxines soient présentes sous forme dissoute ou adsorbée à la surface de particules, de débris cellulaires, d'autres cellules algales ou de débris organiques. Cette recommandation s'étend à la famille des palytoxines, bien que non réglementée à ce jour, car sa toxicité pour l'Homme est avérée et sa présence dans des coquillages français a été rapportée. Des études complémentaires sont nécessaires notamment pour confirmer les données parcellaires sur la biodisponibilité pour les coquillages des toxines dissoutes dans l'eau de mer et donc la nécessité de les traiter.

L'essentiel des connaissances identifiées par le groupe de travail concernant les traitements pouvant être mis en œuvre (et leur efficacité) sont relatives au champ des eaux douces. Le rapport propose une sélection de procédés permettant d'abattre les dangers identifiés et recommande la réalisation d'études pour s'assurer de l'équivalence des abattements obtenus avec de l'eau de mer. L'expertise collective est arrivée à la conclusion qu'il n'existe pas de solution de traitement simple et rustique de l'eau de mer contaminée par des dangers microbiologiques ou phycotoxiques. Quelles que soient les contaminations, les filières les plus appropriées comprennent plusieurs étapes de traitement et leur mise en œuvre exige des compétences spécifiques. Dans ces conditions, chaque projet de filière envisagé pour traiter une eau de mer contaminée devrait être comparé aux autres solutions d'alimentation en eau de mer identifiées par le groupe de travail (eau de mer provenant d'une zone A non fermée, eau de mer reconstituée, etc.). Dans le cas où seul le traitement de l'eau de mer serait envisageable, la mise en œuvre d'une unité de traitement devra être exploitée par du personnel compétent, le cas échéant dans le cadre d'une mutualisation.

La maîtrise de la qualité devra reposer sur un plan de contrôle adapté au procédé mis en œuvre s'appuyant sur la démarche de type HACCP avec une traçabilité des analyses. Les points importants à contrôler par les services de l'État, en plus de la qualité des coquillages produits, sont les résultats des enregistrements qui attestent que l'eau a été correctement traitée.

Le rapport ne peut cependant pas conclure sur la conformité ou la non-conformité de l'eau qui serait produite par ces installations en l'absence d'information sur les concentrations des dangers dans les eaux à traiter et sur les concentrations à atteindre dans les eaux traitées qui seront fonction du niveau de risque sanitaire acceptable pour l'autorité compétente.

Mots clés

Eau de mer, traitement de l'eau, conchyliculture, phycotoxines, microbiologie.

Rapport : Janvier 2015 • version : finale

Modèle ANSES/PR1/9/01-04 [version b]

Présentation des intervenants

PRÉAMBULE : LES EXPERTS EXTERNES, MEMBRES DE COMITÉS D'EXPERTS SPÉCIALISÉS, DE GROUPES DE TRAVAIL OU DÉSIGNÉS RAPPORTEURS SONT TOUS NOMMÉS A TITRE PERSONNEL, *INTUITU PERSONAE*, ET NE REPRÉSENTENT PAS LEUR ORGANISME D'APPARTENANCE.

GROUPE DE TRAVAIL

Président

LE CANN Pierre – École des hautes études en santé publique – Eau de mer propre, microbiologie, virologie, conchyliculture et eaux côtières

Membres

WELTÉ Bénédicte – Eau de Paris – Traitement de l'eau, eau de mer propre, mise en œuvre des traitements sur l'eau de mer, chimie de l'eau

CABILLIC Pierre-Jean – Retraité – Traitement de l'eau, eau de mer propre

FÉDÉRIGHI Michel – ONIRIS – Microbiologie, bactériologie, méthode de hiérarchisation

HUMBERT Jean-François – INRA – Microbiologie aquatique, toxines

MONTIEL Antoine – Retraité – Traitement de l'eau, mise en œuvre des traitements sur l'eau de mer, chimie de l'eau

VERNOUX Jean-Paul – Université de Caen – Conchyliculture, phycotoxines, toxicologie alimentaire

Relecteurs

CERF Olivier – Professeur émérite, École nationale vétérinaire d'Alfort – Évaluation des risques microbiologiques – Microbiologie des aliments

GARNAUD Stéphane – Mairie de Saint-Maur-des-Fossés – Responsable technique eau et assainissement – Assainissement

GARRY Pascal – Ifremer, Nantes – Hygiène et microbiologie des aliments (viandes et produits carnés, coquillages)

GAUTIER Michel – Agrocampus-Ouest, Rennes – Microbiologie des aliments, biologie moléculaire, génie génétique

LÉVI Yves – Université Paris Sud – Professeur des universités – Santé publique-environnement, micropolluants des milieux aquatiques

PETIT Fabienne – Université de Rouen CNRS – Enseignant chercheur / Professeur des universités – Écologie microbienne

Contribution scientifique sur la partie 3

CABASSUD Corinne – INSA – Responsable d'axe de recherche / Professeure des universités – produits et procédés de traitement de l'eau

COMITÉS D'EXPERTS SPÉCIALISÉS

Les travaux, objets du présent rapport ont été suivis et adoptés par les CES suivants :

- CES « Eaux » au cours de ses séances des – 4 mars, 6 mai, 3 juin, 1^{er} juillet et 2 septembre 2014.

Président

LÉVI Yves – Université Paris Sud – Professeur des universités – Santé publique-environnement, micropolluants des milieux aquatiques

Membres

ALBASI Claire – CNRS – Directeur de recherche / Docteur, ingénieur – Produits et procédés de traitement
AYRAULT Sophie – CEA – Chef d'équipe, Docteur HDR – Chimie de l'eau
BARON Jean – Eau de Paris – Responsable de département / Ingénieur de recherche – Matériaux au contact de l'eau
BOUDENNE Jean-Luc – Université Aix Marseille – Chef d'équipe développements métrologiques et chimie des milieux – Produits et procédés de traitement de l'eau
BOUVARD Véronique – CIRC / OMS – Spécialiste scientifique / PhD – Toxicologie
CABASSUD Corinne – INSA – Responsable d'axe de recherche / Professeure des universités – produits et procédés de traitement de l'eau
CARRÉ Jean – Retraité EHESP – Enseignant chercheur / Professeur - hydrogéologie
CHUBILLEAU Catherine – Centre Hospitalier de Niort – Praticien hospitalier / Docteur en pharmacie, Docteur en sciences - Épidémiologie
CORREC Olivier – CSTB – Ingénieur de recherche / Docteur – MCDE
DAGOT Christophe – ENSIL – Directeur adjoint / Professeur – Assainissement
DUBLINEAU Isabelle – IRSN – Chargée de mission auprès du directeur de la radioprotection de l'Homme – Toxicologie
DUBROU Sylvie – LHVP – Directeur / Pharmacien – Microbiologie de l'eau
DURAND Robert – Responsable d'équipe / Professeur des universités – Université de Pau et des Pays de l'Adour – Écotoxicologie, biodégradation et biotransformation.
GARNAUD Stéphane – Mairie de Saint-Maur-des-Fossés – Responsable technique eau et assainissement – Assainissement
HUMBERT Jean-François – INRA – Directeur de recherche / PhD, HDR – Microbiologie de l'eau
JOYEUX Michel – Eau de Paris – Directeur de recherche développement et qualité de l'eau / Docteur en médecine, Docteur en sciences – Toxicologie
LE BÂCLE Colette – Retraîtée INRS – Conseiller médical en santé au travail, pilote de la thématique risques biologiques / médecin du travail – Santé travail
LOPEZ Benjamin – BRGM – Chef de projet / docteur – Hydrogéologie
MUDRY Jacques-Noël – Université de Franche Comté – Professeur d'hydrogéologie – Hydrogéologie
PERDIZ Daniel – Université Paris Sud – Maître de conférences / Pharmacien toxicologue – Toxicologie
PETIT Fabienne – Université de Rouen CNRS – Enseignant chercheur / Professeur des universités – Écologie microbienne
SARAKHA Mohamed – Université Blaise Pascal, Clermont Ferrand – Professeur des universités – Chimie de l'eau
SAUVANT-ROCHAT Marie-Pierre – Université d'Auvergne, Faculté de pharmacie – Professeur de santé publique – Santé publique
TREMBLAY Michèle – Institut de santé publique du Québec – MD conseil en santé au travail et en maladies infectieuses / MD spécialiste en santé communautaire – Santé travail
VIALETTE Michèle – Institut Pasteur Lille – Chef de service / microbiologiste – Microbiologie
WELTÉ Bénédicte – Eau de Paris – Directrice adjointe de recherche du développement et de la qualité de l'eau / Docteur es sciences – Produits et procédés de traitement de l'eau

- CES BIORISK au cours de ses séances des 18 mars, 20 mai, 3 juillet et 16 septembre 2014

Président

CERF Olivier – Professeur émérite, École nationale vétérinaire d'Alfort – Évaluation des risques microbiologiques – Microbiologie des aliments

Membres

COLIN Pierre – Professeur émérite, Université de Bretagne Occidentale - Hygiène et microbiologie des aliments (viandes et produits carnés – volailles)

DANTIGNY Philippe – Agrosup, Dijon – Mycologie

FÉDÉRIGHI Michel – ONIRIS, Nantes – Hygiène et microbiologie des aliments (viandes et produits carnés), procédés de décontamination

FRAVALO Philippe – Université de Montréal - Hygiène et microbiologie des aliments (viandes et produits carnés)

GARRY Pascal – Ifremer, Nantes – Hygiène et microbiologie des aliments (viandes et produits carnés, coquillages)

GAUTIER Michel – Agrocampus-Ouest, Rennes – Microbiologie des aliments, biologie moléculaire, génie génétique

JOURDAN Nathalie – Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice – Épidémiologie des maladies entériques et zoonoses

MIALET Sylvie – VetAgro Sup, Lyon – Bactériologie alimentaire, hygiène des aliments

MIMOUNI Alain – Centre technique de la conservation des produits agricoles, Paris – Technologie alimentaire, microbiologie des aliments

PAVIO Nicole – Anses, Laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort – Virologie

OSWALD Eric – CHU, Toulouse – Infectiologie clinique, écologie microbienne, *E. coli*

PICOCHÉ Bernard – ACTALIA, Villers Bocage – Technologie alimentaire, microbiologie des aliments

POMMEPUY Monique – Retraitée Ifremer – Microbiologie des coquillages et autres produits de la mer, virologie

PRIETO Miguel – Université de Leon (Espagne) – Bactériologie alimentaire, procédés technologiques

ROSEC Jean-Philippe – Service commun des laboratoires, ministères chargés des fraudes et des douanes, Montpellier

SCHORR-GALINDO Sabine – Université Montpellier 2 – Mycologie, écologie microbienne

SPINLER Henry-Eric – AgroParisTech, Thiverval Grignon – Technologie alimentaire, microbiologie industrielle

VAILLANT Véronique – Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice – Épidémiologie des maladies entériques et zoonoses

VILLENA Isabelle – CHU Reims – Parasitologie, infectiologie

■ CES ERCA au cours de sa séance du 17 mars 2014 et par consultation électronique du 29 avril au 19 mai 2014

Président

BADOT Pierre-Marie – Université Franche-Comté, CNRS – Professeur des universités, directeur adjoint – Contaminants, environnement, écotoxicologie

Membres

ATGIE Claude – Institut polytechnique de Bordeaux – Professeur des universités – Enseignant chercheur – Toxicologie alimentaire

BLANCHEMANCHE Sandrine – INRA – Directrice d'unité – Sociologie

CAMEL Valérie – AgroParisTech – Professeur, enseignant chercheur – Chimie analytique, contaminants organiques

CLAUW Martine – ENVt – Professeur – Toxicologie expérimentale

DUMAT Camille – ENSAT-INPT-ECOLAB – PR INP, enseignante chercheur – Contamination des sols, métaux

FEIDT Cyril – ENSAIA – Professeur des universités – Transferts chaînes trophiques et animaux terrestres
GROB Konrad – Laboratoire Cantonal de Zurich (Official Food Control Authority of the Canton of Zurich) – Chef de service – Chimie analytique, MCDA
HAGEN-PICARD Nicole – ENVT – Enseignant chercheur – Toxicocinétique
LAMBRE Claude – DGS/INSERM – Directeur de recherche – Toxicologie alimentaire
LARROQUE Michel – Université de Montpellier 1 – Professeur des universités - Directeur du département – Chimie analytique
LE BIZEC Bruno – ONIRIS – Professeur Dr HDR en sécurité des aliments, Directeur – Chimie analytique, contaminants organiques
MAIXENT Jean-Michel – Université de Poitiers – Professeur des universités – toxicologie alimentaire
MAXIMILIEN Rémi – CEA – Médecin toxicologue, Directeur de recherche – Toxicologie alimentaire
NARBONNE Jean-François – Retraité de l'Université Bordeaux – Professeur de toxicologie – Toxicologie alimentaire
NESSLANY Fabrice – Institut Pasteur Lille – Chef du service de toxicologie – Génotoxicité
RENAUDIN Jean-Marie – Centre hospitalier Emile Durkheim – Médecin PH en allergologie – Allergies alimentaires
ROUDOT Alain-Claude – Université de Bretagne occidentale – Professeur des universités, enseignant chercheur – Statistiques et modélisation
TACK Karine – INERIS – Ingénieur de recherche – Chimie analytique
VASSEUR Paule – Université de Metz – Professeur de Toxicologie, émérite – Toxicologie environnementale
VERNOUX Jean-Paul – Université de Caen – Professeur de Toxicologie, Directeur d'école d'ingénieurs – Toxicologie alimentaire, milieux marins

PARTICIPATION ANSES

Pilotage de la coordination scientifique

HOSPITALIER Juliette – Unité d'évaluation des risques liés à l'eau – Anses, CES EAUX

Coordination scientifique

ARNICH Nathalie – Département d'évaluation des risques liés aux aliments – Anses, CES ERCA

BARIL Eugénie, KOOH Pauline – Unité d'évaluation des risques biologiques dans les aliments – Anses, CES BIORISK

JOUËT Justine – Unité d'évaluation des risques liés à l'eau – Anses, CES EAUX

Contribution scientifique

ARNICH Nathalie – Département d'évaluation des risques liés aux aliments - Anses

THÉBAULT Anne – Unité méthodologie et études en microbiologie et santé animale – Anses

KRYS Sophie – Laboratoire national de référence, contrôle des biotoxines marines – Anses

Présentation sur la directive-cadre stratégie pour le milieu marin

SAIBI-YEDJER Lynda – Unité méthodologie et études relatives aux risques physico-chimiques – Anses

AUDITION DE PERSONNALITÉS EXTÉRIEURES

Ministère chargé de l'agriculture

CHABANNE Charlotte – Bureau des produits de la mer et d'eau douce de la Direction générale de l'alimentation

ROUYER Pascal – Référent national des produits de la mer

Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer (Ifremer)

HAURE Joël – Coordinateur de l'étude COMSAUMOL

AMZIL Zouher – Directeur du laboratoire phycotoxines

Université de Nantes

MASSÉ Anthony – Laboratoire Génie des Procédés Environnement et Agroalimentaire (GEPEA)

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	4
Liste des tableaux	11
Liste des figures	11
Sigles et abréviations	12
Définition	13
1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine.....	15
1.1 Objet de la saisine	15
1.2 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation	15
1.3 Prévention des risques de conflits d'intérêts	16
1.4 Contexte et introduction	16
1.5 Champ d'expertise	18
1.6 Méthode d'expertise	19
2 Dangers microbiologiques, phytoplanctoniques et phycotoxiques pertinents.....	20
2.1 Dangers microbiologiques	23
2.2 Dangers phytoplanctoniques et phycotoxiques	33
2.3 Conclusions sur les dangers	43
3 Dispositifs de traitement envisageables et performances	45
3.1 Clarification physico-chimique	45
3.2 Clarification biologique : filtration lente	49
3.3 Clarification physique : filtration membranaire	50
3.4 Traitements d'affinage de l'eau	52
3.5 Désinfection	54
3.6 Conclusion sur les dispositifs de traitement	57
4 Points importants pour le contrôle des dispositifs de traitement de l'eau de mer par les services de l'État.....	61
5 Conclusions et perspectives	63
5.1 Consultation du CES ERCA	63
5.2 Consultation du CES BIORISK	64
5.3 Conclusions du GT et du CES EAUX	64
5.4 Incertitudes	67
5.5 Recommandations d'études et de recherche	68
6 Bibliographie	70
6.1 Publications	70

6.2 Législation et réglementation	81
ANNEXES	82
Annexe 1 : Lettre de saisine	83
Annexe 2 : Extrait des mesures de gestion lors d'alertes liées à la présence de phycotoxines et de phytoplanctons toxiques dans les zones de production de coquillages (instruction technique DGAL/SDSSA/2013-9910 du 20 décembre 2013) ..	88
Annexe 3 : Extrait des mesures de gestion lors d'alertes bactériologiques dans les zones de production de coquillages (note de service DGAL/SDSSA/N2013-8166 du 15 octobre 2013).....	91
Annexe 4 : Éléments de coût d'investissement et de fonctionnement.....	92
Annexe 5 : Analyse des publications et travaux traitant de la stabilité et de la biodisponibilité des phycotoxines libres (dissoutes)	93
Annexe 6 : Extrait du rapport de l'Anses de novembre 2010 sur l'efficacité des réacteurs UV pour la désinfection des eaux destinées à la consommation humaine	103
Annexe 7 : Bonnes pratiques en matière de pompage d'eau de mer	106

Liste des tableaux

Tableau I : Critères microbiologiques applicables pour le classement sanitaire des zones de production conchylicole (d'après le règlement (CE) N° 854/2004, modifié par les règlements (CE) n°1666/2006 et 1021/2008).....	14
Tableau II : Alimentation potentielle en eau des établissements conchylicoles (hors forage).....	18
Tableau III : Agents confirmés ou suspectés dans les TIACs déclarées en France métropolitaine entre 1996 et 2010 pour lesquelles les coquillages ont été confirmés ou suspectés comme source de contamination (Vaillant <i>et al.</i> , 2012)	22
Tableau IV : Bilan des analyses phycotoxiques effectuées par le laboratoire national de référence (LNR) Biotoxines marines sur des coquillages associés à des TIAC déclarées en France au cours de la période 2005-2013 (pour la recherche de phycotoxines diarrhéiques de type DSP).....	23
Tableau V : Caractéristiques des principaux agents microbiologiques pathogènes isolés de coquillages (d'après Anses, 2012a et Vaillant, 2012) non associés à des TIACs en France	29
Tableau VI : Caractéristiques des agents microbiologiques pathogènes non associés à des TIACs et non isolés de coquillages en France (d'après Anses2008)	31
Tableau VII : Microalgues productrices de toxines réglementées et seuils d'alerte REPHY	36
Tableau VIII : Microalgues productrices de toxines non réglementées et seuils d'alerte du REPHY	37
Tableau IX : Caractéristiques physico-chimiques disponibles pour les phycotoxines réglementées et symptômes chez l'Homme (Règlements n°853/2004, n°15/2011 et n°786/2013), incluant pour information le cas particulier des palytoxines et des pinnatoxines	40
Tableau X : Limites de salubrité, dans les coquillages, des phycotoxines réglementées (Règlements n°853/2004, n°15/2011 et n°786/2013)	42
Tableau XI : Scenarii et abattements attendus	59
Tableau XII : Abattement maximum théorique de la filière sur les micro-organismes cibles.....	60

Liste des figures

Figure 1 : Nombre de TIACs déclarées en France liées à la consommation de coquillages et agents responsables confirmés ou suspectés (données InVS, avril 2014).....	21
Figure 2 : Nombre de malades impliqués dans des TIACs déclarés en France liées à la consommation de coquillages et agents responsables confirmés ou suspectés (données InVS, avril 2014).....	21
Figure 3 : Nombre de TIACs déclarées en France liées à la consommation de coquillages et dont l'agent causal confirmé ou suspecté est la contamination par des phycotoxines (données InVS, avril 2014) ..	22
Figure 4 : Schéma d'un flottateur (Degrémont, 2005).....	47
Figure 5 : Schéma des filières de traitement possibles pour produire l'eau de mer de qualité maîtrisée.....	58

Sigles et abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

Anses : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

AO : Acide okadaïque

ARN : Acide ribonucléique

ASP : Amnesic Shellfish Poisoning (phycotoxines à action amnésiante)

AST : Appui scientifique et technique

AZA : Azaspiracides

BIORISK : Évaluation des risques biologiques dans les aliments

CAG : Charbon actif en grains

CAP : Charbon actif en poudre

CES : Comité d'experts spécialisé

CLI : Chair et le liquide inter-valvaire

Comsaumol : Maintien de la Commercialisation par la Sauvegarde et la Détoxification des Mollusques

DA : Acide domoïque

DGAI : Direction générale de l'alimentation

DI50 : Dose infectieuse entraînant l'infection de 50% des cas

DMI : Dose minimale infectieuse

DSP : Diarrhetic Shellfish Poisoning (phycotoxines à action diarrhéique par AO/DTXs)

DTX : Dinophysistoxine

EDCH : Eau destinée à la consommation humaine

EFSA : European Food Safety Authority

ERCA : Évaluation des risques chimiques dans les aliments

FAO : Food and agriculture organization of the United Nations

FAT : Fast acting toxins

FCV : Calicivirus félin

FDA : Food and drug administration

GT : Groupe de travail

HAdV : Human Adenovirus

Ifremer : Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer

InVS : Institut de veille sanitaire

J : Joule

Ka : Constante d'acidité

Kow : Coefficient de partage octanol / eau

LNR : Laboratoire national de référence

log : Logarithme décimal

MES : Matières en suspension

MF : Microfiltration

MIOA : Maladies infectieuses d'origine alimentaire

mL : millilitre

MNV : Mouse norovirus

NFU : Nephelometric Formazin Unit = unité néphélométrique de mesure de la turbidité

nm : Nanomètre

NoV GI, NoV GII : Norovirus génotype I, Norovirus génotype II

NPP : Nombre le plus probable

PBS : Phosphate buffered saline = tampon phosphate salin

PCR : Polymerase chain reaction = Réaction de Polymérase en chaîne

pH : potentiel hydrogène

PnTX : Pinnatoxine

PSP : Paralytic Shellfish Poisoning (phycotoxines à action paralysante)

PTX : Pecténotoxine

REMI : Réseau de surveillance microbiologique de l'Ifremer¹

REPHY : Réseau de surveillance du phytoplancton et des phycotoxines de l'Ifremer

STEC : *E. coli* producteur de Shiga toxines

STEU : Station de traitement des eaux usées

STX : Saxitoxine

T90 : Temps correspondant à une perte de 90% de bactéries cultivables

TDH : Thermostable Direct Hemolysin

TIAC : Toxi-infection alimentaire collective

TRH : TDH Related hemolysin

UF : Ultrafiltration

UFC : Unité formant colonie

UV : Ultraviolets

VHA : Virus de l'hépatite A

WHO : World Health Organization = Organisation mondiale de la santé

YTX : Yessotoxine

Définition

Classement des zones conchylicoles²

Le classement des zones de production conchylicole est basé sur la recherche et le dénombrement de bactéries indicatrices de contamination fécale (*E. coli*) dans la chair et le liquide inter-valvaire (CLI) des coquillages en élevage. La qualité microbiologique d'une zone est estimée à partir des résultats analytiques mensuels des 3 dernières années calendaires selon les recommandations du guide européen rédigé par le laboratoire communautaire de référence, afin de tenir compte d'éventuelles variations saisonnières. Il peut y avoir définition d'un ou de plusieurs points par zone, choisis pour leur représentativité ou pour leur vulnérabilité vis-à-vis des sources

¹ <http://wwz.ifremer.fr/>

² Définition adaptée de l'avis relatif aux modalités de surveillance à mettre en place dans des zones de conchyliculture et de pêche à pied, régulièrement ou accidentellement polluées par le virus de l'hépatite A avec application à la situation spécifiquement rencontrée dans la baie de Paimpol VHA. (Afssa, 2009).

de contamination connues (point supposé le plus contaminé du secteur considéré). *In fine*, seul le Préfet a la responsabilité du classement de la zone de production conchylicole.

Le règlement (CE) n°854/2004 prévoit un classement et un suivi régulier des zones de production en trois catégories : A, B et C. Les valeurs limites maximales, initialement prévues par ce règlement, pour ces trois catégories étaient respectivement de 230, 4 600 et 46 000 *E. coli* par 100 g de chair et liquide inter-valvaire (CLI). Les règlements (CE) n°1666/2006 et n°1021/2008 ont introduit pour la zone de catégorie B une tolérance de dépassement de la valeur limite de 4 600 *E. coli* par 100 g de CLI pour 10% des échantillons mais inférieure à 46 000 *E. coli* par 100 g de CLI (Tableau I).

Tableau I : Critères microbiologiques applicables pour le classement sanitaire des zones de production conchylicole (d'après le règlement (CE) N° 854/2004, modifié par les règlements (CE) n°1666/2006 et 1021/2008)³.

NPP* d' <i>Escherichia coli</i> cultivables dans 100 g (CLI)			
Classe	230	4600	46 000 max.
A	100%**		
B	≥ 90%**		≤ 10%**
C	100%**		
*Nombre le plus probable selon la méthode ISO/TS 16649-3			
**En pourcentage des échantillons			

³ Le règlement (CE) n° 1021/2008 de la commission du 17 octobre 2008 modifie les annexes I, II et III du règlement (CE) n° 854/2004 du Parlement européen et du Conseil fixant les règles spécifiques d'organisation des contrôles officiels concernant les produits d'origine animale destinés à la consommation humaine et le règlement (CE) n° 2076/2005 en ce qui concerne les mollusques bivalves vivants, certains produits de la pêche et le personnel prenant part aux contrôles officiels dans les abattoirs.

1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine

L'Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) a été saisie le 3 avril 2013 par la Direction générale de l'alimentation (DGAI) d'une demande d'appui scientifique et technique (AST) relative à l'efficacité des dispositifs de filtration de l'eau de mer contaminée par les phycotoxines et de traitement de l'eau de mer (Annexe 1).

1.1 *Objet de la saisine*

La DGAI demande l'évaluation :

- de l'efficacité de certains dispositifs de filtration de l'eau de mer contaminée par les phycotoxines. Lorsque les systèmes de surveillance détectent un dépassement des seuils sanitaires pour les phycotoxines, des mesures sont prises pour fermer la zone concernée et interdire la pêche, le ramassage, la récolte des coquillages de cette zone et le pompage de l'eau de mer de la zone concernée. Pendant ces périodes, l'eau provenant des zones contaminées par des algues susceptibles de produire des toxines peut être utilisée sur dérogation dans les établissements à terre sous réserve qu'il soit démontré, *via* des autocontrôles, que l'eau des bassins de parage des coquillages est exempte de cellule algale toxigène. Pour ce faire, les bassins sont équipés de dispositifs de filtration.
- des dispositifs de traitement de la contamination microbiologique de l'eau de mer. Les mollusques bivalves filtreurs et fouisseurs récoltés en zones conchylicoles classées B doivent séjourner dans un bassin de purification avant d'être commercialisés. L'eau d'alimentation de ces bassins peut être pompée dans des zones non surveillées proches du littoral et un traitement peut-être mis en place pour produire de l'eau de mer propre pour alimenter les bassins. Pour justifier que l'eau des bassins puisse être considérée comme une eau de mer propre, les professionnels réalisent uniquement des analyses sur les produits finis sans vérification de la pertinence et de la maîtrise des traitements mis en œuvre, malgré l'obligation de l'application d'un plan de maîtrise sanitaire basé sur la méthode HACCP.

L'objectif du ministère est, notamment, de réviser les modalités de la note de service référencée DGAL/SDSSA/MUS n°2011-8001 du 4 janvier 2011 relative aux mesures de gestion complémentaires aux fermetures de zones de production de coquillages lors de contamination de coquillages par des phycotoxines⁴. Cette note a été mise à jour en 2013⁵, la partie relative à l'utilisation de l'eau provenant de la zone de production fermée pour contamination phycotoxinique est présentée en annexe 2. Les mesures relatives au pompage de l'eau de mer provenant d'une zone fermée pour alerte microbiologique sont présentées en annexe 3.

1.2 *Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation*

L'Anses a confié au groupe de travail « AST traitement de l'eau de mer en conchyliculture », attaché au comité d'experts spécialisé « Eaux », l'instruction de cette saisine.

Des auditions ont été organisées le 4 décembre 2013 avec l'Ifremer, l'Université de Nantes et la DGAI.

⁴ <http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/DGALN20118001Z.pdf>

⁵ http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/2013-9910_final_cle0bd2b2.pdf

Les travaux d'expertise du groupe de travail ont été présentés régulièrement aux CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques.

À la suite de la présentation en séance le 4 mars 2014, le CES « Eaux » a nommé trois relecteurs du rapport qui ont présenté leurs remarques lors des séances des 6 mai, 3 juin et 1^{er} juillet 2014.

À la suite de la présentation aux membres du CES « ERCA » en séance le 17 mars 2014, et à la demande de son président, ce CES a été consulté sur le rapport par voie télématique du 29 avril au 19 mai 2014 et a émis un avis de principe présenté dans les conclusions du présent rapport.

À la suite de la présentation en séance le 18 mars 2014, le CES « BIORISK » a nommé trois relecteurs du rapport qui ont présenté leurs remarques en séance le 20 mai 2014. Le CES « BIORISK » a validé sa conclusion sur le rapport lors de sa séance du 16 septembre 2014.

Le rapport produit par le groupe de travail tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres des CES « Eaux » et « BIORISK ». Ces travaux sont ainsi issus de collectifs d'experts aux compétences complémentaires.

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

Le CES « Eaux » a validé le rapport lors de sa séance du 2 septembre 2014.

1.3 Prévention des risques de conflits d'intérêts

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont rendues publiques *via* le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

1.4 Contexte et introduction

Les établissements conchylicoles ont des besoins en eau de mer, pour alimenter leurs bassins à terre, notamment leurs installations de purification microbiologique.

Cette eau de mer doit correspondre à la définition de l'« eau de mer propre », qui est, au sens du règlement Européen (CE) n°852/2004, une eau de mer « ne contenant pas de micro-organismes, de substances nocives ou de plancton marin toxique en quantité susceptible d'avoir une incidence directe ou indirecte sur la qualité sanitaire des denrées alimentaires ».

Pour les zones de production classées A (*cf* § définition, p. 13), les coquillages peuvent être mis sur le marché directement sans traitement de décontamination microbiologique. Si besoin, et notamment pour effectuer des stockages à terre, les producteurs élevant des coquillages en zone A peuvent prélever et utiliser de l'eau de mer en respectant les bonnes pratiques de pompage dont certains éléments sont présentés en annexe 7.

Pour les zones de production classées B (*cf* § définition, p. 13), les producteurs doivent faire séjourner leurs coquillages dans des bassins de purification microbiologique à terre pendant le temps nécessaire pour qu'ils satisfassent aux critères microbiologiques du règlement (CE) n°2073/2005 qui prescrit des valeurs limites dans les coquillages vivants mis sur le marché, pour *E. coli* (< 230 NPP⁶ /100 g de chair et liquide inter-valvaire), mais aussi *Salmonella spp* (absence dans 25 g), sans préjudice de l'obligation générale de sécurité qui incombe aux opérateurs au titre du règlement (CE) n° 178/2002 et qui peut impliquer la prise en compte d'autres dangers.

⁶ NPP (Nombre le plus probable) : estimation statistique de la quantité de micro-organismes. Des intervalles de confiance sont attachés à cette estimation moyenne.

Pour les zones de production classées C (cf § définition, p. 13), les coquillages ne peuvent être mis sur le marché pour la consommation humaine qu'après un reparcage de longue durée ou un traitement thermique approprié.

Par ailleurs, ces zones classées peuvent être fermées pendant des périodes plus ou moins longues en cas de contamination microbiologique ou phycotoxinique temporaire. Pendant les périodes de contamination microbiologique, l'eau peut être prélevée si l'exploitant apporte la preuve de l'efficacité des dispositifs de traitement mis en œuvre comme indiqué dans l'annexe 3 (DGAI, 2013). Pendant les périodes de contamination phycotoxinique l'eau ne doit plus être prélevée pour alimenter les bassins conchylicoles à terre. Cependant, de manière dérogatoire, pendant les périodes de contamination phycotoxinique, l'utilisation de l'eau de mer pour l'immersion de coquillages sains est possible, comme indiqué dans l'annexe 2, sous deux conditions :

- que les professionnels démontrent l'absence de cellule algale productrice de toxines dans l'eau de mer prélevée ;
- que, dans le cas de présence de toxines lipophiles, les professionnels réalisent des autocontrôles sur les coquillages avant leur mise sur le marché (note DGAL/SDSSA/2013-9910).

Le GT estime qu'il convient d'apporter aux coquillages sains hébergés dans les bassins à terre une eau pompée dans une zone classée A. Dans le cas où des bassins à terre sont alimentés par de l'eau pompée dans une zone non classée A, ou dans une zone A en période de fermeture, elle doit être traitée.

Le GT rappelle qu'*E. coli* est un indicateur de contamination fécale utilisé pour classer les zones conchylicoles. Cependant, cette bactérie est beaucoup plus sensible aux traitements de désinfection de l'eau que les agents microbiens pathogènes pour l'Homme habituellement rencontrés dans l'eau de mer.

Six possibilités d'alimentation en eau de mer pour les établissements ont été identifiées par le GT (Tableau II).

- La première serait de produire de l'eau de mer reconstituée à partir d'eau destinée à la consommation humaine. Des considérations techniques pour utiliser l'eau de mer artificielle sont proposées dans le manuel de la Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) concernant la purification des coquillages bivalves (FAO, 2010).

- La deuxième option consiste à collecter l'eau de mer dans une zone classée A en dehors d'une période de fermeture.

- Les options 3, 4 et 5 concernent l'utilisation d'une prise d'eau de mer contaminée sur les plans microbiologique et/ou phytoplanctonique et/ou phycotoxinique ou susceptible de l'être et de la traiter. Elles peuvent être mises en place selon trois modalités :

- un traitement dans chaque établissement, ce qui nécessite que les investissements et les moyens nécessaires au bon fonctionnement et au contrôle de telles installations soient assurés au sein de chacun d'eux ;
- la production d'eau dans une station de traitement unique suivi d'une distribution vers chaque établissement ;
- le transport des coquillages jusqu'à une station de traitement d'eau et des bassins partagés ou des systèmes de bacs avec surverse (FAO, 2010 ; Food Standard Agency Scotland, 2009) permettant d'identifier les producteurs.

- L'option 6 consiste à collecter de l'eau de mer non contaminée « au large » des côtes. Cependant la notion de « large » n'est pas définie et cette option nécessite une étude de faisabilité au cas par cas pour définir l'éloignement de la côte, prélever l'eau à une grande distance de la côte et transporter les volumes d'eau nécessaires par bateaux ou construire un émissaire en mer.

Tableau II : Alimentation potentielle en eau des établissements conchylicoles (hors forage)

Options	Origine de la prise d'eau	Transport de l'eau jusqu'à l'établissement	Traitement	Transport de coquillages	Points critiques
1	Eau destinée à la consommation humaine		Adjonction de sels minéraux pour reconstituer de l'eau de mer		Maîtriser en qualité et en quantité les éléments ajoutés (FAO, 2010)
2	Eau de mer prélevée près de la côte en zone classée A*	Bateau Émissaire (courte distance)			La zone A de pompage ne doit pas être en alerte de contamination microbiologique ou phycotoxique
3	Eau de mer prélevée près de la côte	Émissaire (courte distance)	Une station de production d'eau de mer de qualité maîtrisée sur chaque installation		Maîtriser et contrôler les traitements mis en œuvre
4	Eau de mer prélevée près de la côte	Émissaire (courte distance) Transport de l'eau de mer produite par camions ou par canalisations	Une station de production d'eau de mer de qualité maîtrisée partagée		Maîtriser et contrôler les traitements mis en œuvre et la qualité après l'acheminement
5	Eau de mer prélevée près de la côte	Émissaire (courte distance)	Une station de production d'eau de mer de qualité maîtrisée partagée	Transport des coquillages à proximité de la station de production d'eau de mer de qualité maîtrisée	Maîtriser et contrôler les traitements mis en œuvre et la qualité après l'acheminement Maîtriser la traçabilité (exigence réglementaire : un seul lot par bassin de purification)
6	Eau de mer prélevée au large	Bateau Émissaire (longue distance)			Définir les distances minimales jusqu'au large Maîtriser l'acheminement

*cf § définitions, p. 13

1.5 Champ d'expertise

Le rapport fournit une analyse des dangers et une évaluation de l'efficacité des dispositifs de traitement de l'eau douce vis-à-vis des dangers considérés comme significatifs, sans affirmer que ces dispositifs auront la même efficacité pour l'eau de mer. En l'absence d'information sur les niveaux de dangers considérés comme acceptables dans l'eau de mer propre par le gestionnaire du risque, le rapport ne se prononce pas sur le caractère acceptable ou non de l'eau traitée avec les dispositifs suggérés.

Les installations en mer (navires) ainsi que les installations submersibles et les eaux de forage ont été exclues du champ de l'expertise. Le présent rapport porte **uniquement sur l'alimentation des bassins à terre insubmersibles recevant des coquillages issus de zones autorisées**.

Le rapport ne traite pas de détoxification des coquillages contaminés, mais uniquement des dispositifs pour produire de l'eau de mer de qualité maîtrisée sur les plans microbiologique et phycotoxinique, à partir d'une eau contaminée issue d'une zone classée B, C ou non classée ou encore issue d'une zone fermée classée A, B ou C en cas de contamination phycotoxinique et/ou microbiologique. Il présente les techniques de traitement de l'eau visant à retenir des cellules algales (et leurs toxines) et celles visant la désinfection microbiologique de l'eau de mer contaminée.

Le rapport ne porte pas sur les dangers chimiques autres que les phycotoxines, comme par exemple les métaux, qu'il convient de maîtriser par ailleurs.

Enfin le présent travail a été réalisé dans le cadre de la production conchylicole métropolitaine et doit faire l'objet d'ajustements s'il est souhaité l'appliquer à d'autres régions, notamment aux productions conchylicoles des départements et régions d'outre mer.

1.6 Méthode d'expertise

Le groupe de travail s'est attaché dans un premier temps à identifier les dangers sanitaires à prendre en compte afin de définir les objectifs de traitement à atteindre pour leur maîtrise. Ce travail a été réalisé à partir de données bibliographiques issues principalement de travaux antérieurs de l'Agence, de données bibliographiques identifiées par les membres du GT et par les éléments collectés lors des auditions. Des données transmises par l'Institut de veille sanitaire (InVS) et le laboratoire national de référence (LNR) Biotoxines marines ont également été utilisées.

Par la suite, le GT a considéré les dispositifs de traitement existants et les contraintes de leur mise en œuvre. Ainsi les techniques de traitement de l'eau permettant d'assurer la rétention des cellules algales et de leurs toxines et celles de désinfection microbiologique de l'eau pour produire de l'eau de mer de qualité maîtrisée à partir d'une eau de mer contaminée ont été décrites. Pour réaliser ce travail, le GT s'est basé sur les travaux antérieurs de l'Agence, les auditions et des documents techniques.

Enfin, à partir des éléments précédents, le GT a proposé des procédés de traitement et des successions de procédés de traitement à adapter à la décontamination de l'eau de mer ainsi que des consignes de suivi et de surveillance qui pourront être contrôlées par les services de l'État.

2 Dangers microbiologiques, phytoplanctoniques et phycotoxiniques pertinents

La sécurité sanitaire des denrées alimentaires peut être affectée par des agents biologiques, chimiques ou physiques pouvant entraîner un effet néfaste sur la santé et dénommés « dangers ».

Les maladies infectieuses d'origine alimentaire (MIOA) présentent des formes très diverses dues à plus de deux cents dangers biologiques différents connus à ce jour. Ces dangers biologiques sont majoritairement des bactéries, des virus ou des protistes, mais également d'autres agents non conventionnels (par exemple les prions). L'aliment est vecteur pour le consommateur. Les symptômes résultent soit du pouvoir pathogène de l'agent infectieux, soit de l'activité métabolique de l'agent dans l'aliment vecteur, comme la synthèse de toxines par exemple.

Le vocable Toxi-Infection Alimentaire Collective (TIAC⁷) est quasi exclusivement utilisé pour désigner, à tort, l'ensemble des MIOA, alors que les TIAC n'en représentent que la partie la plus visible.

Cependant, les TIAC faisant partie des maladies à Déclaration Obligatoire, leur déclaration déclenche une enquête qui devient alors, souvent, une source d'informations précieuses sur le vecteur alimentaire et/ou les fautes d'hygiène ayant conduit à la TIAC. En France, la surveillance des MIOA est coordonnée par l'Institut de Veille Sanitaire (InVS) qui publie régulièrement des statistiques sur les TIAC déclarées ainsi que sur l'ensemble des maladies infectieuses d'origine alimentaire. En 2012, parmi les 1 288 foyers déclarés, 5 % des TIAC ont été attribuées à la consommation de coquillages. Ces données montrent que les mollusques bivalves sont des aliments vecteurs de dangers biologiques. Cela provient, d'une part, des capacités des mollusques bivalves à concentrer les agents pathogènes et les toxines, et d'autre part, de leur mode de consommation qui étant le plus fréquemment sous forme d'aliment cru ne permet pas l'élimination de ces dangers. Seule la purification microbiologique des mollusques bivalves peut permettre de maîtriser ces dangers biologiques, puisqu'aucune mesure de maîtrise n'est applicable par le consommateur lors de leur préparation.

Les figures 1, 2 et 3 présentent le bilan des TIAC déclarées en France et associées à la consommation de coquillages, et agents confirmés ou suspectés, au cours de la période 2009-2012 selon les informations transmises par l'InVS le 10 avril 2014.

⁷ Toxi-Infection Alimentaire Collective : Elles se définissent par l'apparition d'au moins 2 cas similaires d'une symptomatologie, en général gastro-intestinale, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire.

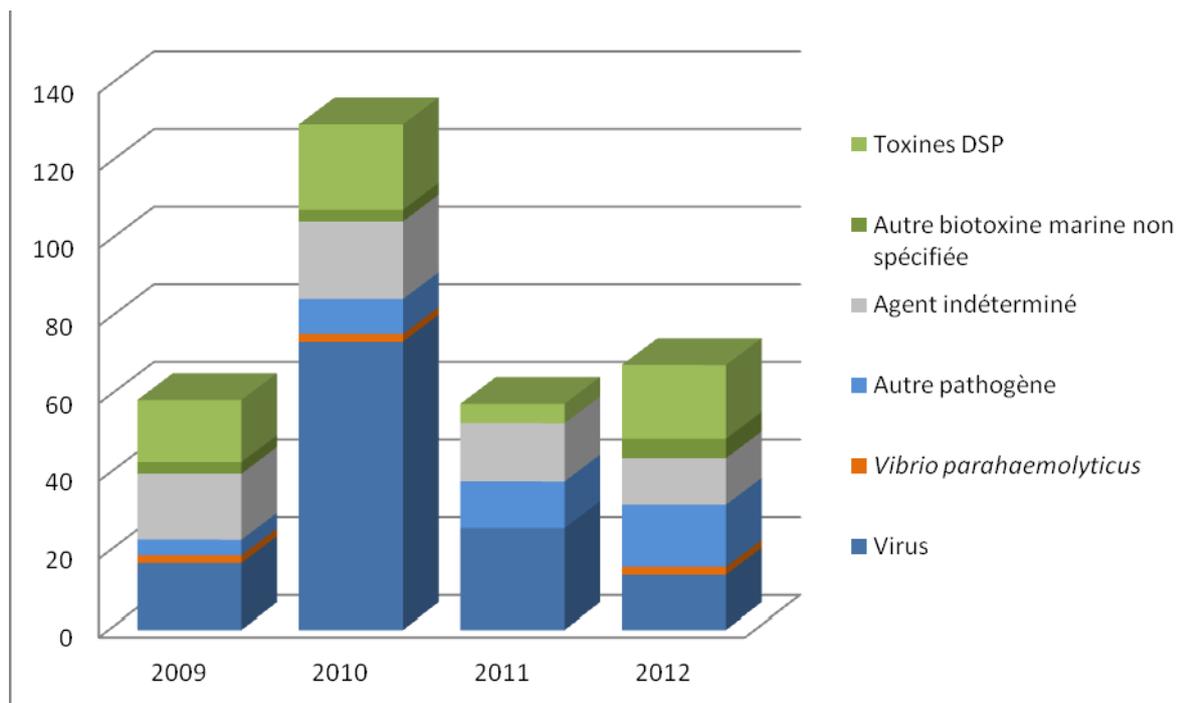


Figure 1 : Nombre de TIACs déclarées en France liées à la consommation de coquillages et agents responsables confirmés ou suspectés (données InVS, avril 2014).

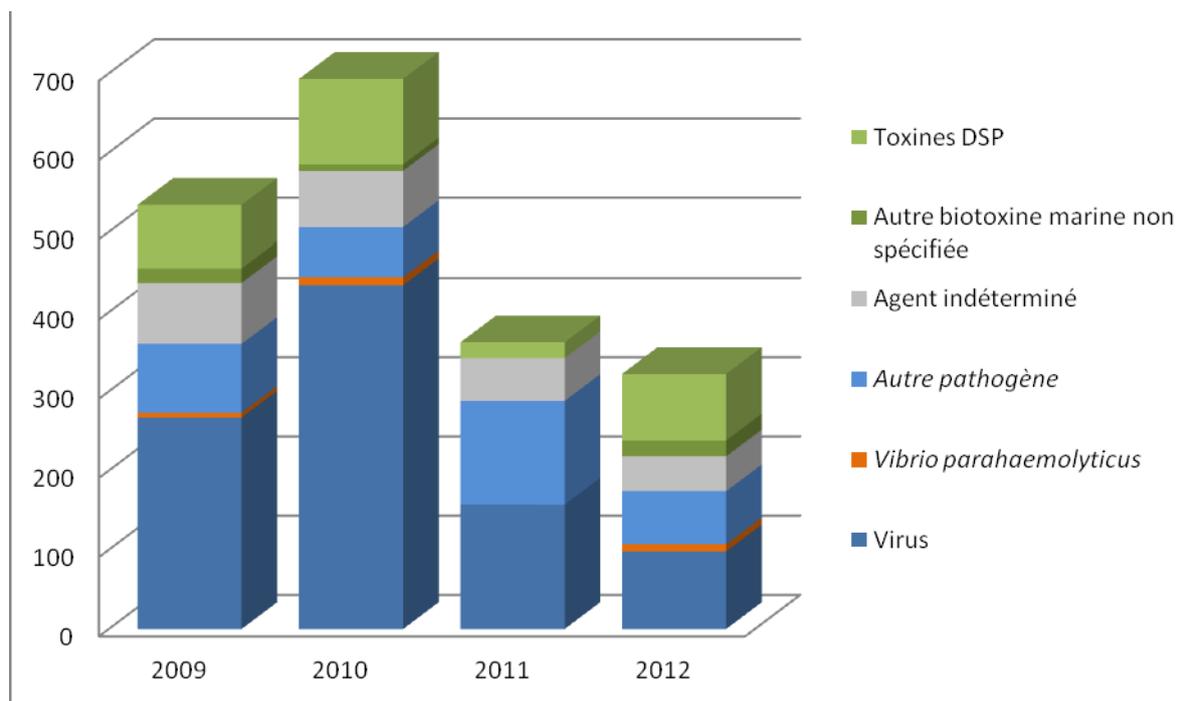
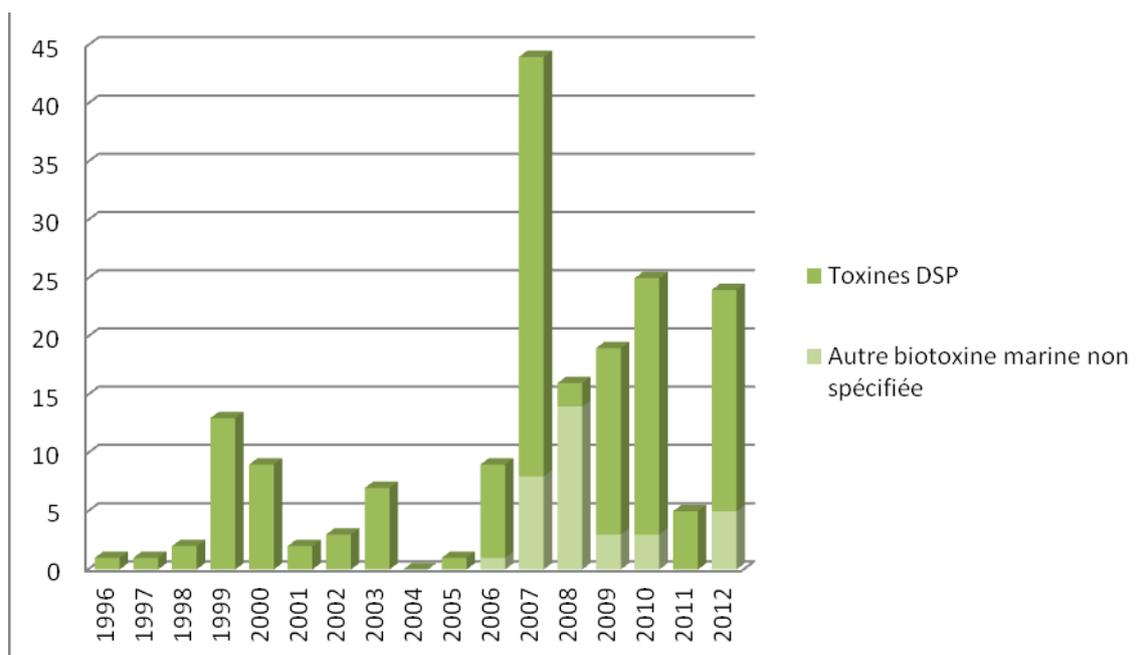


Figure 2 : Nombre de malades impliqués dans des TIACs déclarés en France liées à la consommation de coquillages et agents responsables confirmés ou suspectés (données InVS, avril 2014).



NB : Entre les années 2000 et 2009, le nombre de foyers de TIAC déclarés a doublé passant de 600 à 1 200 à la suite, selon l'InVS, d'une amélioration du système de recueil des déclarations. Depuis 2009, ce chiffre reste stable (InVS, 2011).

Figure 3 : Nombre de TIACs déclarées en France liées à la consommation de coquillages et dont l'agent causal confirmé ou suspecté est la contamination par des phycotoxines (données InVS, avril 2014).

Le Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire (Édité par l'InVS) a publié en 2012 un numéro spécial consacré à la surveillance des risques biologiques liés à la consommation des coquillages en France. La synthèse des résultats de ce travail est présentée dans le tableau III.

Tableau III : Agents confirmés ou suspectés dans les TIACs déclarées en France métropolitaine entre 1996 et 2010 pour lesquelles les coquillages ont été confirmés ou suspectés comme source de contamination (Vaillant *et al.*, 2012)

Agents pathogènes	Nombre de foyers		
	Confirmés*	Suspectés*	Total (%)**
Virus	84	167	251 (54)
<i>Dont norovirus précisé</i>	68	77	145 (31)
<i>Salmonella spp.</i>	23	12	35 (8)
<i>Clostridium perfringens</i>	0	5	5
<i>Bacillus cereus</i>	0	1	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	17	17
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	13	3	16
DSP	29	92	121
Autre agent	9	10	19
Total agent connu	158	307	465
Agent inconnu			96
Total			561

* Confirmé par mise en évidence de l'agent chez le patient ou dans l'aliment suspect ; suspecté sur des arguments cliniques et épidémiologiques

** Part de ces foyers sur l'ensemble des foyers TIAC à coquillage avec agent rapporté

Tableau IV : Bilan des analyses phycotoxiques effectuées par le laboratoire national de référence (LNR) Biotoxines marines sur des coquillages associés à des TIAC déclarées en France au cours de la période 2005-2013 (pour la recherche de phycotoxines diarrhéiques de type DSP)

Années	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Nombre d'échantillons analysés	2	7	10	9	2	15	14	2	17
Nombre d'échantillons confirmés	0	0	6	3	1	3	0	0	1
Nombre de foyers de TIAC confirmés	0	0	1	1	1	1	0	0	2
Coquillages en cause			moules	moules	moules	moules			1. huîtres 2. moules
Origine			France, baie de Vilaine	Irlande	France, baie de Vilaine	Espagne			1. Espagne* retrempées en France 2. Grèce*, retrempées en France
Famille de toxines			AO/DTX/PTX	AZA	AO/DTX/PTX	AO/DTX/PTX			AO/DTX/PTX
Concentrations			326-792 µg eqAO/kg	777-872 µg eq AZA/kg	1268 µg eqAO/kg	464-534 µg eqAO/kg			2016 µg eqAO/kg 495 µg eqAO/kg
* Les activités d'importation, par des établissements de purification, de coquillages provenant d'autres pays de la zone européenne ne sont pas intégrées dans le périmètre de surveillance du Réseau de Surveillance du Phytoplancton et des Phycotoxines (REPHY).									

2.1 Dangers microbiologiques

L'identification des dangers microbiologiques associés à la consommation de mollusques bivalves se base sur les dangers naturellement présents dans l'eau de mer (habitat naturel) et sur les dangers issus d'une contamination fécale terrestre (humaine ou animale).

2.1.1 Dangers confirmés dans les TIACs et les hépatites liées à la consommation de coquillages en France

Les dangers confirmés dans le cadre de TIACs coquillères survenues en France entre 1996 et 2010 sont par ordre d'importance : Norovirus, *Salmonella*, *Vibrio parahaemolyticus* (Vaillant *et al.*, 2012 ; Anses, 2012a). À ces dangers, il faut ajouter le virus de l'hépatite A responsable de 6 épidémies liées à la consommation de coquillages décrites sur la période 1992 - 2010 (Anses, 2010a).

Seul *Vibrio parahaemolyticus* a l'eau de mer comme habitat naturel.

2.1.1.1 Norovirus

Sources de contamination

Le réservoir des norovirus pathogènes pour l'Homme est exclusivement humain. Ces norovirus sont très persistants après rejet dans l'environnement. À la suite de l'épidémie en 2002 en France, il a été démontré la capacité des norovirus à s'agréger sur des particules organiques, cela leur confère une meilleure résistance aux traitements (chlore, ozone, UV) et favorise leur persistance dans les rejets urbains, l'environnement et les coquillages (Doyle *et al.*, 2004). Ainsi, deux mois après l'épidémie, des norovirus ont été isolés dans des coquillages de la zone de pêche incriminée malgré le traitement des rejets urbains (Le Guyader *et al.*, 2003). Une relation entre l'importance de la contamination virale des coquillages et l'abondance des pluies entraînant un fonctionnement dégradé des stations de traitement des eaux usées (STEU) a été démontrée (Miossec *et al.*, 2000 ; Doyle *et al.*, 2004). Gentry *et al.* (2009) ont montré que les norovirus sont également présents dans les zones estuariennes, où des concentrations importantes (jusqu'à $1,7 \cdot 10^{15}$ copies génome / g) de norovirus de génotype I (NoV GI) ont été observées dans le zooplancton.

Pathologie

Les norovirus sont responsables de gastroentérites aiguës débutant brutalement par des vomissements et/ou diarrhée, associés le plus souvent à des nausées et crampes abdominales. Les études chez des volontaires ont montré que certains individus peuvent excréter du virus dans leurs selles, avec une augmentation d'anticorps spécifiques sans présenter de symptômes cliniques. Ces personnes peuvent, tout comme les malades, excréter du virus pendant 7 à 10 jours après l'exposition (Hutson *et al.*, 2004).

Relation dose-réponse

Thébault *et al.* (2013) ont estimé une DI50 (dose infectieuse entraînant l'infection dans 50 % des cas) se situant entre 1,6 et 7,5 copies de génome de norovirus par huître, et une probabilité d'infection de 0,5 pour une copie de génome, suggérant une infectiosité importante des norovirus car peu d'unités génome sont associées à des particules virales non infectieuses.

Survie des norovirus

Très peu de données sont disponibles sur leur persistance dans les aliments (Rzezutka et Cook, 2004) mais les norovirus sont particulièrement résistants aux variations de pH et à de nombreux produits chimiques. Ils restent infectieux après une exposition à pH 3 pendant 3 h à température ambiante, une incubation à 60°C pendant 30 min, un traitement avec 20 % d'éther pendant 18 h à 4°C (Koopmans *et al.*, 2003 ; Duizer *et al.*, 2004).

Plus récemment, Flannery *et al.* (2013a) ont étudié l'abattement du nombre de norovirus d'une STEU équipée d'un traitement à rayonnements ultraviolets (UV) et déversant ses effluents à une distance de 400 mètres en amont d'une zone conchylicole. Les concentrations dans les eaux traitées étaient de 0,25 et 0,41 log de copies de génome/100 mL pour NoV GI et GII respectivement pour une concentration moyenne de 3,6 log de copies de génome/100 mL dans les eaux usées en entrée de station. Cependant il est précisé que le fonctionnement de la STEU n'était pas optimal et pourrait expliquer ce résultat. Le suivi de la contamination des coquillages de la zone d'élevage impactée démontre l'influence des débordements d'eau usée particulièrement en hiver. Flannery *et al.* (2013b) ont évalué les T90 (temps nécessaire pour éliminer 90 % de la contamination initiale) des norovirus GI et GII dans l'eau de mer à respectivement 86 h et 101 h en hiver et 60 h et 41 h respectivement en été.

L'étude de la survie du norovirus murin (Mouse Norovirus, MNV) dans de l'eau de mer traitée aux rayonnements UV (filtre à 254 nm : lampe basse pression monochromatique 36W) montre une réduction de la charge virale de 3,1 log en 24 h et 4,7 log en 72 h (De Abreu Correa *et al.*, 2012). Selon Lee *et al.* (2008), le MNV -1 présenterait une résistance aux rayonnements UV plus

importante que les autres calicivirus qui ont également été utilisés comme substituts aux norovirus humains, non cultivables en laboratoire. Des doses de rayonnements UV de 100, 200 et 250 J/m² ont conduit à une réduction de 1 ; 2,8 et 3,3 log, respectivement, lorsque la suspension virale a été préparée en tampon phosphate-buffered saline (PBS). Des études antérieures ont décrit une réduction de 4 log de calicivirus félin (FCV) après traitement aux rayonnements UV à une dose de 194 J/m² et une réduction de 3 log à la dose de 120 J/m² (Duizer *et al.*, 2004).

Peu d'études ont décrit la décontamination virale des coquillages contaminés par norovirus. Hensilwood (2003) a montré une réduction d'un log de norovirus GI dans des huîtres naturellement contaminées après épuration en bassin pendant trois jours à 20°C alors qu'aucune réduction de la contamination n'était observée à 9°C. Dans une étude réalisée en laboratoire, des huîtres *Crassostrea gigas* ayant bioaccumulé des norovirus GI.4 ont été mises en décontamination pendant 23h : aucune réduction virale n'a été observée (McLeod *et al.*, 2009). La diminution de la concentration virale dans les huîtres diffère selon les espèces. Par exemple, le norovirus GI.1 persiste jusqu'à 29 jours chez *Crassostrea ariakensis* et 22 jours chez *Crassostrea virginica* (Nappier *et al.*, 2008). Le comportement des virus dépend aussi de l'espèce virale : des huîtres artificiellement contaminées par norovirus n'ont pas montré de diminution de contamination pendant un suivi de dix jours, alors que le calicivirus félin n'a pu être détecté au bout de trois jours, à la même concentration initiale. Les norovirus se fixent fortement sur des sucres dans le tissu digestif des coquillages, ce qui explique la difficulté de la décontamination virale (Le Guyader *et al.*, 2006b; Maalouf *et al.*, 2010b). Ces sucres sont semblables à ceux retrouvés dans la composition des antigènes de groupes sanguins tissulaires. Lors d'essais de purification de coquillages, des niveaux de contamination de 492 copies génomes de norovirus par g de chair ont été réduits de 72% après quatre jours et des niveaux <100 copies génomes de norovirus par gramme de chair ont été réduits en six jours à 17°C (Dore *et al.*, 2010).

Méthodes d'analyse

Les méthodes de biologie moléculaire RT-PCR temps réel peuvent être utilisées pour la détection et la quantification des norovirus dans les coquillages et dans l'eau de mer. Il existe deux normes internationales pour la recherche des norovirus (ISO/TS 15216-1 et 2).

Plus de détails sont présentés dans la fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments « Norovirus » de l'Anses de mai 2011⁸.

2.1.1.2 *Salmonella*

Les salmonelles sont des bactéries régulièrement impliquées dans des épisodes de gastro-entérites faisant suite à la consommation de moules en particulier.

Sources de contamination

Ces bactéries présentes dans le tube digestif des animaux à sang chaud (incluant l'Homme) et leurs déjections, peuvent être rejetées dans les eaux côtières, le plus souvent à la suite de pollutions accidentelles.

Pathologie

Les infections à *Salmonella* se manifestent par une gastro-entérite aiguë. L'évolution est généralement favorable en quelques jours. Cette infection peut évoluer vers une forme septicémique ou localisée.

Dose infectieuse

⁸ <https://www.anses.fr/sites/default/files/documents/MIC2011sa0036Fi.pdf>

Une méta-analyse récente indique que la dose infectieuse induisant la salmonellose chez 50 % des sujets exposés serait de l'ordre de quelques dizaines de bactéries pour les sérotypes Typhimurium et Enteritidis, quelle que soit la population exposée (Teunis *et al.*, 2010).

Survie

L'accumulation des salmonelles dans les huîtres est 100 fois plus élevée que celle d'*E. coli* lorsque les coquillages sont exposés aux mêmes quantités des deux espèces bactériennes. De plus, les salmonelles survivent plus longtemps dans les coquillages, avec une diminution de la concentration bactérienne de 0,006 log UFC/g et par heure, 4 fois plus faible que celle observée pour *E. coli*. (Morrison *et al.*, 2011)

Méthodes d'analyse

Différentes méthodes de détection sont présentées dans la fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments « *Salmonella* » de l'Anses de juin 2011⁹. La norme NF/EN/ISO 6579, amendée en octobre 2007, décrit une méthode horizontale de référence pour la recherche de *Salmonella spp.* dans les aliments et au stade de la production primaire.

Dans le domaine de l'eau, il existe une norme spécifique (NF EN ISO 19250 Juin 2013 Qualité de l'eau - Recherche de *Salmonella spp.*).

2.1.1.3 *Vibrio parahaemolyticus*

Sources de contamination

Vibrio parahaemolyticus est une bactérie halophile (croissance en présence de 0,5 à 10 % de NaCl) qui a pour habitat naturel les estuaires et les eaux côtières du monde entier, et plus abondante dans les eaux de salinité intermédiaire et à une température comprise entre 15 et 20°C. *V. parahaemolyticus* est fréquemment présent dans les sédiments, le plancton, les crustacés et les mollusques bivalves. Cette bactérie est capable de survivre et de se multiplier dans le milieu marin et les coquillages après leur sortie de l'eau. Les conditions de stockage des coquillages après la sortie du milieu doivent être maîtrisées pour éviter une aggravation de la contamination initiale (Anses, 2012a).

Pathologie

Il a été montré que le pouvoir pathogène des souches entéropathogènes est lié à la présence d'au moins une des deux hémolysines que sont la TDH (Thermostable Direct Hemolysin) et la TRH (TDH-Related Hemolysin). Ces hémolysines sont produites dans le tube digestif du consommateur participant à un tableau clinique de type gastro-entérite. Entre 1995 et 2010, 12 cas de gastroentérite à *V. parahaemolyticus* ont été répertoriés, associés à la consommation de produits de la mer en France mais sans précision sur le type de produit. Après 3 à 48 heures d'incubation, l'infection généralement bénigne dure trois jours en moyenne, parfois jusqu'à sept jours. Exceptionnellement, des septicémies peuvent survenir chez des sujets présentant un terrain prédisposant (immunodépression, diabète, pathologies hépatiques, cirrhose).

Relation dose-réponse

Dans son rapport relatif à l'évaluation du risque lié à *V. parahaemolyticus* lors de la consommation de coquillages vivants, l'Anses indique que la dose induisant un risque d'induction de la maladie de 50 % est de $8,1 \cdot 10^7$ (Anses, 2012a ; US-FDA, 2005).

⁹ www.anses.fr/sites/default/files/documents/MIC2011sa0057Fi.pdf

Méthodes d'analyse

Aucune méthode de référence n'est aujourd'hui disponible pour la recherche de cette bactérie, Cependant, pour la détection des *V. parahaemolyticus*, il existe, d'une part, une méthode expérimentale XP ISO/TS 21872 en cours de révision et d'autre part celle préconisée par une note de service SDSSA/MCSI/N2004-8255 du 28 octobre 2004 de la Direction générale de l'alimentation. Pour le dénombrement, il existe la méthode de la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis d'Amérique considérée comme la méthode de référence, et une méthode mise au point par l'Ifremer.

L'Anses (2012a) estime qu'il est nécessaire de mieux (i) estimer la proportion des vibrions portant les facteurs de pathogénicité (TDH essentiellement et TRH) dans les conditions environnementales françaises ; (ii) disposer d'une technique de quantification qui aura notamment été comparée à la technique utilisée par l'US-FDA.

Plus de détails sont présentés dans la fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments « *Vibrio parahaemolyticus* » de l'Anses de juillet 2012¹⁰.

2.1.1.4 Virus de l'hépatite A

Sources de contamination

Dans le cas du VHA, la contamination environnementale est exclusivement d'origine humaine. Ce virus est très résistant aux systèmes de désinfection et aux conditions rencontrées dans le milieu extérieur. La contamination fécale se retrouve dans l'eau côtière *via* les effluents d'eaux usées traités et non traités.

Pathologie

Après environ 30 jours d'incubation, la maladie se déclare sous la forme d'un syndrome pseudo-grippal associé à des troubles digestifs et un ictère (jaunisse). La fréquence et la sévérité des signes cliniques augmentent avec l'âge. Alors que plus de 90 % des enfants infectés avant l'âge de 5 ans sont complètement asymptomatiques, 70 à 80 % des adultes infectés ont une symptomatologie clinique. La mortalité globale liée à l'infection par le VHA est estimée entre 0,2 % et 0,4 % des cas symptomatiques mais elle dépasse 2 % après 40 ans. La séroprévalence a beaucoup diminué au cours des 20 dernières années, une plus grande partie de la population est donc actuellement sensible au virus VHA (Anses, 2010a ; Thébaud *et al.*, 2012).

Relation dose-réponse

La dose infectieuse dans l'eau se situe entre 10 et 100 particules virales selon l'U.S. Food and Drug Administration (2012). Concernant les coquillages, une étude espagnole (Pinto *et al.*, 2009) a montré que la présence de 72 particules virales infectieuses dans les coquillages était associée à une probabilité d'infection de 11 % et une dose de 420 particules virales à une probabilité d'infection de 36 %.

Survie

La désinfection des eaux usées par chloration ou par traitement aux rayonnements UV inactive les virus mais son efficacité est souvent réduite par la présence concomitante de matières organiques. Les eaux épurées partiellement désinfectées rejetées dans l'environnement peuvent donc encore contenir des virus.

¹⁰ www.anses.fr/sites/default/files/documents/MIC2011sa0210Fi.pdf

En France depuis 1990, six épidémies d'hépatite A liées à la consommation de coquillages ont été décrites dont celle de Paimpol dans les Côtes d'Armor à l'origine de 111 cas en 2007 (Anses, 2010a).

L'étude de la survie du virus de l'Hépatite A dans de l'eau de mer traitée aux rayonnements UV (filtre UV à 254 nm : lampe basse pression monochromatique 36W, dose de 430-850 J/m²) montre une réduction de la charge virale de 2,1 log en 24 h et 3,5 log en 120 h (De Abreu Correa, 2012).

Pour d'autres informations sur les virus, l'Anses a rédigé des fiches de description de danger disponible sur son site internet - www.anses.fr, et des informations plus détaillées sont également disponibles dans le rapport du groupe de travail *Bilan des connaissances relatives aux virus transmissibles à l'homme par voie orale* de l'Afssa (2007a) et le rapport Contamination de coquillages marins par le virus de l'hépatite A de l'Anses (2010a).

Méthodes d'analyse

La technique de PCR ou de PCR en temps réel représente actuellement la technique de choix pour la détection du virus dans l'environnement ou les aliments (Anses, 2010a). La fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments « virus de l'hépatite A » de l'Anses de janvier 2011¹¹ précise que « *Concernant la méthode d'analyse du VHA dans l'environnement et les aliments, des travaux de normalisation sont en cours au niveau européen (techniques moléculaires, RT-qPCR en temps réel). En ce qui concerne l'eau, l'analyse nécessite de filtrer un grand volume d'eau pour concentrer les virus entériques (norme XPT 90-451).* »

2.1.2 Autres dangers isolés de coquillages sur le littoral français

En plus des dangers confirmés dans les TIACs et les hépatites liées à la consommation de coquillages en France, présentés dans le point 2.1.1, d'autres agents potentiellement pathogènes pour l'Homme ont été isolés dans des coquillages produits en France (Tableau V). Ces agents n'ont pas été associés à des TIACs ou des épidémies liées à la consommation de coquillages depuis 1996 en France (Vaillant *et al.*, 2012).

¹¹ <http://www.anses.fr/sites/default/files/documents/MIC2010sa0236Fi.pdf>

Tableau V : Caractéristiques des principaux agents microbiologiques pathogènes isolés de coquillages (d'après Anses, 2012a et Vaillant, 2012) non associés à des TIACs en France

Agent microbiologique	Période d'incubation	Principaux signes cliniques généralement associés	Sources de contamination
<i>Shigella</i>	24 à 72h	Douleurs abdominales, diarrhées, selles sanguinolentes et mucoïdes, fièvres	Fèces humaines, eaux usées
<i>Campylobacter</i> sp. ¹	2 à 7 jours	Douleurs péri-ombilicales, diarrhées pouvant être sanglantes, fièvre, maux de tête, vomissements	Déjections animales dont fientes d'oiseaux, lisiers
<i>Escherichia coli</i> producteur de shigatoxines ²	2 à 12 jours (en moyenne 3 à 4 jours))	Diarrhées aqueuses bénignes à coliques hémorragiques pouvant évoluer vers un syndrome hémolytique et urémique (SHU)	Déjections animales, fèces humaines, eaux usées
<i>Vibrio cholerae</i> non O1/non O139	2 à 3 jours	Diarrhées aqueuses	Environnement marin
<i>Vibrio vulnificus</i>	16h	Malaises, frissons, fièvres, prostration, lésions cutanées	Environnement marin
Astrovirus	1 à 4 jours	Gastroentérite aiguë, fréquente chez les immunodéprimés	Fèces humaines, eaux usées
Enterovirus	Moins d'une semaine à 15 jours	Asymptomatique, Fièvre, Atteintes neurologiques (méningite), Diarrhée rare	Fèces humaines, eaux usées
Rotavirus	3 jours	Gastroentérite aiguë (enfant), Asymptomatique (adulte)	Fèces humaines et animales, eaux usées
Sapovirus	1 à 2 jours	Gastroentérite aiguë	Fèces humaines, eaux usées
Aichi	1 à 4 jours	Gastroentérite aiguë	Fèces humaines, eaux usées
<i>Cryptosporidium</i> ³	5 à 9 jours 12 à 13 pour une personne immunodéprimée	Durée moyenne des symptômes de 12 à 40 jours Diarrhées aqueuses, douleurs abdominales, asthénie, nausées, vomissement	Fèces humaines et animales

Plus de détails sont présentés dans les fiches de description de danger biologique transmissible par les aliments de l'Anses :

¹ « *Campylobacter jejuni/coli* » <https://www.anses.fr/sites/default/files/documents/MIC-Ra-campylobacter.pdf>

² « *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) » <https://www.anses.fr/sites/default/files/documents/MIC2011sa0058Fi.pdf>

³ « *Cryptosporidium* spp. » <https://www.anses.fr/sites/default/files/documents/MIC2010sa0232Fi.pdf>

Les **entérobactéries pathogènes** d'origine fécale et terrestre (*Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*, *Campylobacter* essentiellement) se concentrent dans les coquillages, qui filtrent l'eau contaminée par ces bactéries.

Salmonella mise à part, il est à noter que ces dangers bactériologiques ne sont que très rarement à l'origine d'infections alimentaires ou de TIACs consécutives à la consommation de coquillages (Vaillant *et al.*, 2012). *Shigella* et *Campylobacter* sont fréquemment responsables de maladies infectieuses d'origine alimentaires en Amérique du Nord mais pas en Europe, sans qu'il soit possible d'expliquer cette différence.

Alors que *E. coli* est utilisé comme germe indicateur de contamination fécale, certains sérotypes de *E. coli* pathogènes pour l'Homme peuvent être disséminés dans l'environnement à partir de leurs réservoirs primaires animaux et se retrouver dans les mollusques bivalves. Ainsi, l'isolement

de *E. coli* O157:H7 de mollusques bivalves a été décrit dans deux études en 2000 et 2006. La première publication (Guyon *et al.*, 2000) relate une étude de 1996 au cours de laquelle une souche a été isolée à partir d'un échantillon d'huîtres présentant une contamination en coliformes fécaux de 276 UFC/100 g de tissus. La deuxième publication (Gourmelon *et al.*, 2006) décrit l'isolement de *E. coli* O157:H7 dans des prélèvements de mollusques bivalves au cours d'une enquête effectuée entre juillet 2002 et août 2004. Pour les auteurs de ce travail, il n'apparaît pas de corrélation entre les dénombrements de l'indicateur *E. coli* et l'isolement des souches de *E. coli* producteur de shigatoxines (STEC). D'une manière générale, la faible implication de ces bactéries dans les TIACs transmises par la consommation de coquillages crus ou mal cuits, s'expliquerait par leur faible capacité de survie dans ce milieu et par une bonne purification des coquillages vis-à-vis de ces pathogènes (Anses, 2013b).

Les **vibrions** sont des bactéries dont l'eau de mer peut constituer soit un habitat préférentiel (*Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*) soit un habitat potentiel (*Vibrio cholerae*, *Vibrio cholerae* non O1/non O139). Ces bactéries sont capables de survivre et de se multiplier dans le milieu marin et les coquillages après leur sortie de l'eau en fonction de la température. Il est à noter que si la présence de *Vibrio parahaemolyticus* dans l'eau de mer de plusieurs zones conchylicoles françaises est avérée, *Vibrio vulnificus* et *Vibrio cholerae* non O1/non O139 ont également été trouvés dans des coquillages du littoral français (Anses, 2012a ; Cantet *et al.*, 2013 ; Aubert *et al.*, 2001).

Les **virus** mis en évidence dans les coquillages sont le plus souvent des virus à ARN non enveloppés sauf les Adénovirus.

Bellou *et al.* (2013) montrent, à partir de 359 épidémies décrites dans le monde, que les deux virus les plus fréquemment impliqués dans les gastroentérites liées à la consommation de coquillages sont les norovirus (84 %) et le virus de l'hépatite A (13 %). Les autres virus entériques (rotavirus, astrovirus, Aichivirus et sapovirus) ont été isolés de façon très sporadique. En France, une étude de l'InVS (Vaillant, 2012) portant sur seize épisodes de TIAC virales associées à la consommation de coquillages entre 1992 et 2010, a montré que les norovirus ont été identifiés pour 11 d'entre elles. Pour les 5 autres, l'agent n'a pas été identifié.

Les virus entériques sont résistants dans l'environnement. Ils sont excrétés dans les selles et se retrouvent dans l'environnement *via* les eaux usées. Incapables de se multiplier hors de leurs cellules-hôtes, ils peuvent cependant persister et rester infectieux plusieurs jours, voire semaines, notamment à basses températures et en présence de MES. Ces virus sont susceptibles d'être rejetés dans l'eau de mer par les eaux usées traitées ou non et d'y persister. Les traitements habituellement utilisés dans les STEU ne permettent pas d'éliminer complètement les virus même si un traitement de désinfection est appliqué.

Les coquillages vont concentrer les virus présents dans l'eau par filtration de quantités parfois importantes d'eau (plusieurs litres d'eau à l'heure). Cependant, les virus entériques ne peuvent infecter les coquillages et donc s'y multiplier. Après ingestion de coquillages contaminés, ces virus traversent l'estomac grâce à leur résistance aux pH acides et atteignent leurs organes cibles où ils vont se multiplier (foie pour les virus des hépatites ou intestin pour les autres).

Cryptosporidium est un protiste excrété en grande quantité sous la forme d'oocystes par les humains ou animaux infectés (plus d'une centaine par gramme de selles pour un veau). Les oocystes se disséminent dans l'environnement et peuvent contaminer le milieu marin. La salinité de l'eau de mer pourrait affecter leur viabilité car une salinité de 45 g/L (*versus* 5 g/L) accélère la

perte de viabilité d'oocystes de *Cryptosporidium* stockés à 4°C d'un facteur 2, ou à 30°C d'un facteur 1,2. La salinité de l'eau de mer est comprise entre 35 et 39 g/L (Anses, 2013a).

Cependant, d'autres données indiquent que les oocystes de *C. parvum* peuvent demeurer vivants dans l'eau de mer à 6-8°C pendant une année (Erickson et Ortega, 2006). Leur identification dans les coquillages a été décrite de façon expérimentale dans les huîtres (Graczyk *et al.*, 2006), les moules (Graczyk *et al.*, 2001) et les praires (Freire-Santos *et al.*, 2002), mais également de façon naturelle aux USA (Fayer *et al.*, 1998 ; Graczyk *et al.*, 2003 ; Graczyk *et al.*, 2006) et en Europe (Li *et al.*, 2006 ; Gomez-Couso *et al.*, 2006a ; Pereira *et al.*, 2006 ; Melo *et al.*, 2006 ; Schets *et al.*, 2007). Peu d'auteurs se sont intéressés au risque sanitaire lié à la présence de ces espèces dans les coquillages. Les méthodes de détection des protistes dans les coquillages doivent prendre en compte le rendement de détection et la viabilité, dans le but d'obtenir une information effective sur le risque associé d'autant plus que la concentration en oocystes est très faible dans l'environnement (Afssa, 2002). *Cryptosporidium parvum* a été détecté dans des coquillages en France (Afssa, 2000).

2.1.3 Autres dangers microbiologiques

Les dangers microbiologiques listés ci-après n'ont pas été mis en évidence dans les TIACs associées à la consommation de coquillages produits en France ni identifiés dans les coquillages produits en France, mais identifiés dans des coquillages dans d'autres pays. Ces différents agents sont listés dans le tableau VI.

Tableau VI : Caractéristiques des agents microbiologiques pathogènes non associés à des TIACs et non isolés de coquillages en France (d'après Anses2008)

Agent microbiologique	Période d'incubation	Principaux signes cliniques	Sources de contamination
<i>Vibrio cholerae</i> (sérotypes O1 et O139)	1 à 5 jours (en moyenne 2 ou 3 jours)	Diarrhées aqueuses et abondantes, vomissements, déshydratation	Fèces humaines, eaux usées
Adenovirus	3 à 10 jours	Gastroentérites aiguës de l'enfant, Sérotypes 40 et 41 responsables de diarrhée, signes respiratoires dans 20% des cas	Fèces humaines, eaux usées
Virus de l'hépatite E ¹	40 jours	Hépatite aiguë, Hépatite fulminante	Fèces animales et humaines
<i>Giardia</i> ²	9 à 15 jours	Diarrhées de 8 jours jusqu'à 2 à 18 mois Sévérité plus ou moins forte suivant l'âge et l'état d'immunité de la personne Forme chronique possible	Fèces animales et humaines
<i>Toxoplasma</i> ³	2 à 3 semaines en moyenne	Atteintes bénignes à sévères suivant l'état de l'immunité de la personne et suivant le génotype rencontré Forme congénitale pouvant être sévère	Fèces animales (chat et félidés)

Plus de détails sont présentés dans les fiches de description de danger biologique transmissible par les aliments de l'Anses :

¹ « Virus de l'hépatite E » <https://www.anses.fr/sites/default/files/documents/MIC2010sa0145Fi.pdf>

² « *Giardia duodenalis* » <https://www.anses.fr/sites/default/files/documents/MIC2010sa0230Fi.pdf>

³ « *Toxoplasma gondii* » <https://www.anses.fr/sites/default/files/documents/MIC2010sa0274Fi.pdf>

Le **vibron** et notamment *Vibrio cholerae* (sérotypes O1 et O139) se diffuse *via* un large éventail de véhicules alimentaires. Parmi eux, les produits de la mer sont cités comme cause de cas primaires autochtones. Dans les pays en voie de développement, en complément des aliments, l'eau de boisson contaminée constitue toujours un vecteur fréquent de la transmission du choléra, alors que dans les pays économiquement développés, seule la transmission alimentaire intervient. Les produits de la mer, en particulier s'ils sont consommés crus ou partiellement crus, peuvent aussi servir de vecteur de transmission du choléra aussi bien sur le mode épidémique qu'endémique.

Dans les pays économiquement développés, les cas autochtones de choléra ont le plus souvent pour origine la consommation de crabes, de crevettes, de moules ou d'huîtres contaminés, produits localement. Ils peuvent être dus aussi à des aliments importés. Aux États-Unis des cas ont été déclarés dans le Maryland et le Colorado, associés à la consommation de produits de la mer provenant du Golfe du Mexique. Une petite épidémie de 8 cas s'est produite dans le New Jersey à la suite de la consommation de crabes achetés en Équateur et importés clandestinement. Par contre, aucun cas de ce type n'a été décrit en France.

L'infection due à *V. cholerae* O1/O139 commence par l'ingestion d'aliment ou d'eau contaminée par cette bactérie. Après passage à travers la barrière acide de l'estomac, les vibrions qui ont survécu colonisent l'épithélium de la partie proximale de l'intestin grêle. Grâce à leur mobilité due au flagelle polaire, ils traversent la couche de mucus et adhèrent aux entérocytes par les *pili*. Il n'apparaît pas d'invasion des cellules épithéliales, ni de la *lamina propria*. La production d'entérotoxine cholérique CT, qui est la principale toxine, perturbe le transport ionique par les cellules épithéliales de l'intestin. La perte consécutive d'eau et d'électrolytes conduit à la diarrhée explosive sévère caractéristique du choléra. Actuellement, en France métropolitaine aucun cas autochtone de choléra n'a été détecté.

Les **adénovirus** de sérotype 40 et 41 se transmettent par voie oro-fécale et peuvent donc potentiellement se retrouver dans les coquillages (FAO/OMS, 2008). Leur présence a été révélée dans des coquillages notamment au Maroc (Karamoko, 2005), en Espagne (Pina, 1998) et en Nouvelle Zélande (ESR, 2007).

Le **virus de l'hépatite E** fait l'objet d'une fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments¹². Sa présence dans les coquillages a été mise en évidence au Royaume-Uni (Crossan *et al.*, 2012).

En complément des dangers bactériens et viraux, la présence de **protistes** pathogènes dans les coquillages est avérée, principalement dans les mollusques bivalves (Robertson, 2007). Les protistes parasites, notamment *Cryptosporidium*, *Giardia* et *Toxoplasma gondii* présentent dans leur cycle une phase de dissémination environnementale, ils sont excrétés par différents hôtes (mammifères domestiques, sauvages, Homme) sous forme de kystes ou d'oocystes dont la caractéristique majeure est d'être particulièrement résistants aux conditions environnementales, notamment la température, l'ensoleillement, l'hygrométrie et la salinité.

Aucun cas de gastroentérite relié à la consommation de coquillages contaminés par des protistes n'est identifié dans la littérature et aucune référence sur la contamination des coquillages produits en France par des protistes parasites n'a été identifiée.

Les kystes de **Giardia**, comme les oocystes de *Cryptosporidium* sont issus de réservoirs humain ou animal avec un mode équivalent de dissémination environnementale. Ainsi, les kystes de *Giardia* ont été retrouvés de façon expérimentale dans les huîtres (Graczyk *et al.*, 1998a), dans les

¹² www.anses.fr/sites/default/files/documents/MIC2010sa0145Fi.pdf

moules et les clams (Graczyk *et al.*, 2001), et dans des huîtres et des moules du milieu naturel (Graczyk *et al.*, 2006 ; Gomez-Couso *et al.*, 2005). Schets *et al.* (2007) ont décrit la présence de ces deux protistes dans des huîtres destinées à la consommation humaine.

Toxoplasma gondii est nouvellement reconnu comme agent pathogène à transmission hydrique et potentiellement contaminant pour les coquillages. La contamination est due aux oocystes, excrétés par les félidés infectés. Ces protistes sont ainsi disséminés dans l'environnement sous forme non sporulée (non directement infectante). La sporulation se produit en quelques jours (selon les conditions de température et d'hygrométrie du milieu) et conduit à des formes infectantes qui sont extrêmement résistantes dans l'environnement. Les conditions de survie dans l'eau douce ont été évaluées expérimentalement à des températures environnementales. Les oocystes non sporulés ne perdent pas leur infectiosité après conservation à 4°C pendant 6 à 11 semaines (Lindsay *et al.*, 2002). La sporulation est possible dans l'eau de mer à 24°C (eau de mer artificielle à 15 et 32 g/L de salinité) (Lindsay *et al.*, 2003). Les oocystes sporulés peuvent survivre et rester infectieux dans l'eau douce à température ambiante pendant 15 mois, à 4°C pendant au moins 54 mois et sans perte d'infectiosité pendant 18 mois (Dubey, 1998), après 6 mois dans l'eau de mer (15 g/L) à température ambiante ou à 4°C (Lindsay *et al.*, 2003). Le rôle des huîtres dans la clairance d'oocystes de *T. gondii* de l'eau de mer et la survie de ces derniers dans les huîtres ont été bien étudiés (Lindsay *et al.*, 2001 ; Lindsay *et al.*, 2004). *Toxoplasma gondii* a été identifié en Turquie dans des huîtres naturellement infestées (Aksoy *et al.*, 2014).

Problèmes liés à la détection des protistes

Le degré de contamination des coquillages par les protistes est méconnu en raison principalement de la lourdeur des techniques de détection comparativement aux méthodes usuelles de détection des autres micro-organismes. Les méthodes habituelles s'appuient soit sur leur détection en microscopie en lumière blanche ou en immunofluorescence sur des homogénats de chair des mollusques, soit sur la détection de l'ADN parasitaire par PCR sur le même type de substrat (Li *et al.*, 2006 ; Gomez-Couso *et al.*, 2006b).

La détection, notamment de *Cryptosporidium* et *Giardia* dans les eaux n'est pas directement corrélée à celle des bactéries, indicateurs usuels de contamination fécale (*E. coli*, coliformes totaux ou entérocoques) (Santé Canada, 2012). D'autre part, la grande résistance des protistes aux procédés de désinfection couramment utilisés pour le traitement des eaux peut être un élément à prendre en considération pour les traitements applicables à la purification des coquillages.

Le GT souligne qu'il conviendrait de rechercher spécifiquement ces protistes dans les élevages de coquillages pour évaluer le risque sanitaire réel associé à leur présence dans les espèces destinées à la consommation humaine.

2.2 Dangers phytoplanctoniques et phycotoxiques

2.2.1 Dangers phytoplanctoniques

Parmi les 4 000 espèces d'algues planctoniques (distribuées dans la colonne d'eau) et épibenthiques¹³ recensées à l'échelle mondiale, environ 300 peuvent proliférer, c'est-à-dire atteindre des abondances ou des biomasses bien supérieures aux valeurs habituellement

¹³ Qui vit à la surface d'un substrat (sédiment, rocher, macroalgue) dans la zone de fond marin, avec une phase libre, mobile, en cas de détachement de ce substrat

rencontrées (on parle de bloom en anglais ou d'efflorescence en français). Parmi ces espèces, environ 70 sont actuellement connues comme toxiques pour la faune, la flore et parfois le consommateur de coquillages (Ifremer, 2005 ; IOC Harmful Algal Bloom Website).

En Europe, les principaux syndromes d'intoxication alimentaire chez l'Homme liés aux toxines produites par ces microalgues, sont le syndrome diarrhéique (DSP pour Diarrhetic Shellfish Poisoning), le syndrome paralysant (PSP pour Paralytic Shellfish Poisoning) et le syndrome amnésiant (ASP pour Amnesic Shellfish Poisoning). Il existe d'autres syndromes (tels que la ciguatéra), mais qui sont moins connus ou qui sont émergents dans les eaux tempérées européennes.

Depuis 2004, à la suite des recommandations d'un groupe mixte d'experts FAO/IOC/WHO, les toxines ont été classées en fonction de leur nature chimique en huit familles :

- acide okadaïque* et dinophysistoxines* (syndrome diarrhéique) ;
- saxitoxines (syndrome paralysant) ;
- acide domoïque (syndrome amnésiant) ;
- pecténotoxines* (toxicité chez l'animal, pas de syndrome rapporté chez l'Homme) ;
- yessotoxines* (toxicité chez l'animal, pas de syndrome rapporté chez l'Homme) ;
- brevéttoxines* (syndrome neurologique) ;
- azaspiracides* (syndrome diarrhéique) ;
- imines cycliques* (spiroptides, gymnodimines, pinnatoxines, ptériatoxines, proocentrolides, spiro-proocentrimines : toxicité chez l'animal, pas de syndrome rapporté chez l'Homme).

Il convient d'ajouter à cette liste une 9^e famille, celle des palytoxines (syndrome diarrhéique et neurologique), car cette toxine, ainsi qu'un analogue, l'ovatoxine a*, ont été détectées dans des oursins et des coquillages en Méditerranée (2008).

Le terme de « toxine lipophile » est aussi souvent utilisé, il s'applique aux toxines identifiées par un astérisque dans la liste ci-dessus.

Les phycotoxines réglementées en Europe sont listées dans le tableau X.

En termes de surveillance sanitaire, parmi les dispositions fixées par le Règlement CE n°854/2004 applicables aux mollusques bivalves, figurent les mesures suivantes :

« Les plans d'échantillonnage visant à rechercher la présence possible de plancton toxigène dans les eaux de production et de reparcage ainsi que de biotoxines dans les mollusques bivalves vivants doivent tenir compte en particulier des variations éventuelles de la présence de plancton contenant des biotoxines marines. L'échantillonnage doit comprendre :

- a) un échantillonnage périodique visant à détecter les changements dans la composition du plancton contenant des toxines et leur répartition géographique. Tout résultat permettant de suspecter une accumulation de toxines dans la chair des mollusques doit être suivi d'un échantillonnage intensif ;
- b) des tests périodiques de toxicité sur les mollusques de la zone affectée qui sont les plus sensibles à la contamination. »¹⁴

Ainsi, en France, dans le cadre du Réseau de Surveillance du Phytoplancton et des Phycotoxines (REPHY) mis en œuvre par l'Ifremer, des seuils d'abondance de cellules planctoniques dans l'eau de mer appelés « seuils d'alerte » (nombre de cellules par litre d'eau) ont été définis pour les trois genres de phytoplancton toxigène les plus fréquents (*Dinophysis*, *Alexandrium*, *Pseudo-nitzschia*), seuils au-delà desquels un contrôle des concentrations en toxines dans les coquillages

¹⁴ <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2004:226:0083:0127:FR:PDF> page 38, Annexe II Chapitre II section B4

est réalisé. Les seuils définis pour chaque espèce correspondent à des abondances cellulaires à partir desquelles il existe un risque potentiel à consommer des coquillages. Par ailleurs, pour les phycotoxines lipophiles, des contrôles systématiques sont réalisés lors des périodes définies comme étant à risque. Il est possible de se reporter au cahier de procédure REPHY publié sur le site internet de l'Ifremer pour obtenir plus d'information sur la notion de période à risque. Ces seuils sont repris dans les tableaux VII et VIII.

Il convient de noter que ce système de surveillance, basé sur la notion de seuil d'alerte de cellules planctoniques dans l'eau de mer, est peu adapté dans le cas d'espèces épibenthiques fixées sur un substrat mais connaissant une phase libre dans l'eau. Une surveillance spécifique doit être mise en place dans les zones concernées, comme c'est le cas pour la recherche du genre *Ostreopsis* en Méditerranée, producteur épibenthique de toxines de la famille des palytoxines.

Tableau VII : Microalgues productrices de toxines réglementées et seuils d'alerte REPHY

Famille de toxines	Microalgues productrices	Caractéristiques	Seuils d'alerte (cahier REPHY 2012/2013)
Acide okadaïque et des dinophysistoxines (AO/DTXs) toxines lipophiles historiquement DSP	<i>Dinophysis sp.</i> <i>D. acuminata</i> , <i>D. sacculus</i> , <i>D. caudata</i> , <i>D. rotundata</i>	taille petite à moyenne, entre 30 et 100 µm espèces planctoniques	pour toutes les espèces de <i>Dinophysis</i> : dès présence (à l'exception des zones dans lesquelles des toxicités n'ont jamais été observées avec des concentrations < 500 cellules par litre, le seuil de 500 pourra être utilisé)
	<i>Prorocentrum lima</i>	32-50 µm de long, 20-28 µm de large, fait des kystes de 70-75 µm de diamètre. espèce épibenthique	seuil provisoire de 10 000 cellules par litre
Pecténotoxines (PTXs) toxines lipophiles historiquement DSP	<i>Dinophysis sp.</i> <i>D. acuminata</i> , <i>D. sacculus</i> , <i>D. caudata</i> , <i>D. rotundata</i>	taille petite à moyenne, entre 30 et 100 µm espèces planctoniques	pour toutes les espèces de <i>Dinophysis</i> : dès présence (à l'exception des zones dans lesquelles des toxicités n'ont jamais été observées avec des concentrations < 500 cellules par litre, le seuil de 500 pourra être utilisé)
Azaspiracides (AZAs) toxines lipophiles historiquement DSP	<i>Azadinium spinosum</i>	12–16 µm de long, 7–11 µm de large espèce planctonique	seuil provisoire de 10 000 cellules par litre
Yessotoxines toxines lipophiles historiquement DSP	<i>Protoceratium reticulatum</i>	28-43 µm de long, 25-35 µm de large, fait des kystes de 30-40 µm de diamètre espèce planctonique	seuil provisoire de 10 000 cellules par litre
	<i>Gonyaulax spinifera</i>	24-50 µm de long, 30-40 µm de large espèce planctonique	seuil provisoire de 10 000 cellules par litre
	<i>Lingulodinium polyedra</i>	40-54 µm de long, 37-53 µm de large, fait des kystes de 35-50 µm de diamètre espèce planctonique	seuil provisoire de 10 000 cellules par litre
Saxitoxines (STXs) historiquement PSP	<i>Alexandrium minutum</i>	forme arrondie et de petite taille, entre 17 et 29 µm, fait des kystes de 20-25 µm de diamètre espèce planctonique	10 000 cellules par litre
	<i>Alexandrium tamarense/catenella</i>	<i>A. tamarense</i> et <i>A. catenella</i> sont très proches morphologiquement, de taille et de forme variable, entre 22–51 µm de long, 17–44 µm de large, font des kystes. espèces planctoniques	5000 cellules par litre (à l'exception de l'étang de Thau pour lequel le seuil est de 1000 cellules par litre)
Acide domoïque (DA) historiquement ASP	<i>Pseudo-nitzschia sp</i> <i>P. pseudodelicatissima</i> <i>P. multiseriis.</i>	de forme allongée, les cellules sont souvent assemblées en chaînes. Leur taille et leur largeur sont très variables d'une espèce à l'autre. Les principales espèces rencontrées ont une taille variant entre 50 et 180 µm et une largeur entre 1,5 et 3,4 µm. espèces planctoniques	<i>Pseudo-nitzschia</i> (groupe des fines) 300 000 cellules par litre <i>Pseudo-nitzschia</i> (autres groupes) 100 000 cellules par litre

Source : <http://species-identification.org/search.php> ; <http://www.eos.ubc.ca/research/phytoplankton/index.html>

Tableau VIII : Microalgues productrices de toxines non réglementées et seuils d'alerte du REPHY

Cas particuliers de microalgues productrices de toxines non réglementées			
Famille de toxines	Microalgues productrices	Caractéristiques	Seuils d'alerte (cahier REPHY 2012/2013)
Palytoxines (en Méditerranée) Toxines amphiphiles	<i>Ostreopsis spp.</i>	47-55 µm de long, 27-35 µm de large, produit du mucus et forme des agrégats en surface de l'eau (fleur) et à la surface des rochers, des macrophytes. espèces épibenthiques	4000 cellules par litre dans la colonne d'eau
Pinnatoxines (étang d'Ingril) toxines lipophiles famille des imines cycliques	<i>Vulcanodinium rugosum</i>	24–32 µm de long, 20–30 µm de large espèce benthique	pas de seuil défini
Spirolides toxines lipophiles famille des imines cycliques	<i>Alexandrium ostenfeldii</i>	espèce difficile à différencier des autres espèces d' <i>Alexandrium</i> espèce planctonique	pas de seuil défini

Source : <http://species-identification.org/search.php> ; <http://www.eos.ubc.ca/research/phytoplankton/index.html>

2.2.2 Dangers phycotoxiques réglementés et émergents

2.2.2.1 Phycotoxines lipophiles

Les phycotoxines lipophiles sont des molécules moyennement polaires à apolaires ayant une affinité pour les solvants organiques de polarité correspondante. Historiquement, elles ont été groupées dans une même catégorie car elles possèdent des propriétés physico-chimiques voisines, même si certaines d'entre elles présentent des activités biologiques différentes (Frémy et Lassus, 2001 ; Ifremer, 2006a ; Efsa, 2008a, b, c, 2009b, 2010).

Les phycotoxines lipophiles sont composées :

- de toxines responsables d'un syndrome diarrhéique chez l'Homme : il s'agit de la famille de l'acide okadaïque et des Dinophysistoxines (AO+DTXs) et de la famille des Azaspiracides (AZAs) ;
- de toxines pour lesquelles il n'existe pas d'effet démontré chez l'Homme ; néanmoins, les études toxicologiques menées chez l'animal ont montré des effets cardiotoxiques pour la famille des Yessotoxines (YTXs), ou des effets hépatotoxiques pour la famille des Pecténotoxines (PTXs).

Plus récemment, d'autres phycotoxines lipophiles ont été mises en évidence, notamment grâce au bio-essai sur souris avec injection par voie intra-péritonéale d'extraits de coquillages, par l'apparition rapide de symptômes neurotoxiques, conduisant à une mort de la souris en quelques minutes. Ces neurotoxines à action rapide (ou « Fast Acting Toxins », FAT) forment un groupe comprenant les spirolides, les gymnodimines, les pinnatoxines, les pteriatoxines, les prococontrolides et les spiro-prococontrolides. Elles font partie de ce que l'on appelle « les phycotoxines émergentes » et ne sont pas réglementées, que ce soit au niveau national, européen

et international. Les effets chez l'Homme ne sont pas connus et, à ce jour, aucun cas clinique n'a pu leur être imputé.

Les caractéristiques des phycotoxines réglementées (Règlements CE n°853/2004, n°15/2011 et n°786/2013) sont présentées dans le tableau IX, et les limites réglementaires dans les coquillages dans le tableau X.

2.2.2.2 Phycotoxines hydrophiles

2.2.2.2.1 Phycotoxines paralysantes

La saxitoxine (STX) et ses congénères (gonyautoxines et plus d'une vingtaine de dérivés) constituent une famille d'alkaloïdes neurotoxiques très hydrosolubles. Elles peuvent engendrer chez le consommateur de coquillages un syndrome associant des symptômes gastro-intestinaux à des symptômes neurologiques débutant par des paresthésies péri-buccales, du visage et du cou, pouvant aller jusqu'à la paralysie musculaire et à l'arrêt respiratoire. Il a été recensé des cas de décès dans différentes régions du globe, mais jamais en France. Les profils toxiques (nature des toxines, proportions relatives et niveaux de toxicité) montrent une très grande variabilité d'un épisode phytoplanctonique à un autre et même, selon la phase de prolifération cellulaire (début ou fin d'efflorescence) (Frémy et Lassus, 2001, Ifremer, 2006b ; Efsa, 2009a).

Les caractéristiques des phycotoxines paralysantes réglementées (Règlements 853/2004, 15/2011 et 786/2013) sont présentées dans le tableau IX, et leurs limites réglementaires dans les coquillages dans le tableau X.

2.2.2.2.2 Phycotoxines amnésiantes

L'acide domoïque (AD) et ses isomères sont des acides aminés tri-carboxyliques de nature hydrophile. Ils constituent une famille de neurotoxines dont le tableau clinique comporte un syndrome confusionnel associant parfois des troubles amnésiques. A ce jour, seuls l'acide domoïque et l'acide épidoïque sont pris en compte dans la réglementation, mais pour des raisons différentes. L'AD est le plus toxique et représente au moins 95% de la quantité en toxines tandis que l'acide épidoïque est conjointement quantifié car il est difficilement séparable par les méthodes chromatographiques. Quatre cas mortels et plus de 140 hospitalisations ont été recensés au Canada en 1987 lors de la découverte de ces toxines dans des moules (Frémy et Lassus, 2001 ; Ifremer, 2006c ; Efsa, 2009c). Aucun cas n'a été rapporté en France.

Les caractéristiques des phycotoxines amnésiantes réglementées (Règlements n°853/2004, n°15/2011 et n°786/2013) sont présentées dans les tableaux VII et IX, et leurs limites réglementaires dans les coquillages dans le tableau X.

2.2.2.2.3 Toxines émergentes non réglementées

- **Palytoxines**

Les palytoxines sont des composés complexes avec des zones hydrophiles et d'autres lipophiles. Elles ont une forte toxicité vis-à-vis des muscles cardiaques, squelettiques et lisses. La mort survient alors rapidement par paralysie généralisée. Des cas mortels chez l'Homme ont été signalés à Madagascar et aux Philippines, suite à la consommation de poissons ou de crustacés contaminés (Frémy et Lassus, 2001 ; Kermarec *et al.*, 2008 ; Efsa, 2009d).

Des toxines proches des palytoxines ont récemment été mises en évidence dans des coquillages des côtes méditerranéennes. Il s'agit des ovatoxines, produites par diverses espèces d'*Ostreopsis spp.* (données Ifremer). Outre les intoxications par voie alimentaire, ces toxines sont également toxiques par inhalation, provoquant des troubles respiratoires, et par contact cutané lors des baignades, entraînant des symptômes irritatifs au niveau de la bouche et de la gorge. Même si ces

toxines ne sont pas réglementées au niveau national ou européen, une attention particulière est portée par les agences sanitaires des départements du pourtour méditerranéen depuis 2007, qui ont mis en place une surveillance basée sur un seuil d'alerte durant les mois d'été.

Les caractéristiques des palytoxines sont présentées dans le tableau IX.

- **Pinnatoxines**

Les pinnatoxines appartiennent à la famille des imines cycliques (avec les spirolides, les gymnodimines, les ptériatoxines, les proocentrolides et les spiro-proocentrimines). Ce sont des toxines lipophiles qui causent la mort rapide des souris dans le cadre du bioessai utilisé jusqu'en 2010 pour le contrôle officiel des toxines réglementées de type diarrhéique (AO, DTXs, AZAs, YTXs et PTXs). L'Ifremer a ainsi décrit, en 2011, la présence de pinnatoxines G (PnTX-G) dans des moules et des palourdes de l'étang d'Ingril (Méditerranée). La pinnatoxine A a également été détectée mais en très faible proportion en comparaison de la PnTX-G. Plus récemment, la présence de PnTX-G a également été observée dans des coquillages des étangs de Thau, Leucate, Vic et Prévôt. Le captage de PnTX-G sous forme dissoute (par échantillonneur passif) dans l'étang d'Ingril montre que cette toxine se trouve dans la colonne d'eau (Ifremer, 2012, 2013).

Les pinnatoxines sont considérées comme des toxines émergentes et ne sont pas réglementées à ce jour en France ni dans aucun autre pays. Leur toxicité aiguë est démontrée chez les animaux de laboratoire (symptômes neurologiques rapides) après administration par voie intrapéritonéale et par voie orale, mais aucun effet n'a été décrit chez l'Homme (Frémy et Lassus, 2001 ; Efsa, 2010 ; Munday *et al.*, 2012).

- **Cyanotoxines marines**

En zone tempérée, il n'existe pas d'espèces de cyanobactéries proliférant en pleine mer ou colonisant les fonds, qui pourraient représenter un risque toxique. En revanche, les zones lagunaires peuvent héberger des cyanobactéries productrices de toxines (y compris des saxitoxines) de même que les zones estuariennes peuvent être contaminées par des toxines de cyanobactéries proliférant dans les rivières alimentant ces zones ou dans des retenues d'eau douce localisées sur ces rivières (par exemple des microcystines). Le pompage de l'eau utilisée pour alimenter les bassins est donc conseillé hors de ces zones lagunaires et estuariennes (Frémy et Lassus, 2001 ; ARVAM, 2012 ; Vergalli, 2013).

Tableau IX : Caractéristiques physico-chimiques disponibles pour les phycotoxines réglementées et symptômes chez l'Homme (Règlements n°853/2004, n°15/2011 et n°786/2013), incluant pour information le cas particulier des palytoxines et des pinnatoxines

Famille, groupe	Phycotoxines	Caractéristiques			Symptômes
PHYCOTOXINES LIPOPHILES Historiquement DSP	acide okadaïque (AO) et dinophysistoxines (DTX1, DTX2, DTX3*)		pKa**	logP**	troubles gastro-entériques (diarrhées, vomissements, douleurs abdominales), 30 minutes à 12 heures après consommation de coquillages contaminés. Aucune mortalité humaine rapportée.
		AO	3,8 - 4,9	4,45 - 5,05	
		DTX1		4,79 - 6,88	
		DTX2		4,46 - 5,61	
	pecténotoxines: PTX1 et PTX2		pKa**	logP**	pas d'effet décrit chez l'Homme à ce jour
	yessotoxines: YTX, 45 OH YTX, Homo YTX, et 45 OH Homo YTX	PTX2	pas de pKa	4,45 - 6,47	
	YTX	6,9	amphiphile		
	azaspiracides: AZA1, AZA2 et AZA3.		pKa**	logP**	troubles gastro-entériques (diarrhées, vomissements, crampes abdominales)
	AZA1	4,9 - 5,8	4,06 - 7,54		
	AZA2		4,32 - 8,18		

* DTX3 = terme générique regroupant les formes acétylées de AO, DTX1 et DTX2
 **pKa = constante d'acidité
 **logP = Kow = coefficient de partage octanol/eau

FAMILLE DES SAXITOXINES Historiquement PSP	Analogues retenus par l'Efsa (2009) : STX NeoSTX GTX1 GTX2 GTX3 GTX4 GTX5 GTX6 C2 C4 dc-STX dc-NeoSTX dc GTX2 GTX3 11-hydroxy-STX		pKa**	logP**	symptômes allant d'une légère sensation de picotement ou d'un engourdissement autour des lèvres à une paralysie respiratoire mortelle. Dans les cas mortels, l'arrêt respiratoire se produit 2 à 12 heures après la consommation de coquillages contaminés
		STX	8.1 - 11.5	hydrophile	
FAMILLE DE L'ACIDE DOMOÏQUE Historiquement ASP	Acide domoïque (AD) et acide épidoïque (épi-AD)		pKa**	logP**	troubles gastro-entériques (diarrhées, vomissements, crampes abdominales), et/ou des symptômes neurologiques (confusion, perte de mémoire ou autres signes graves tels que coma ou attaque) survenant dans les 24 à 48 heures après la consommation de coquillages contaminés
		AD	2,1 – 3,7 - 5,0 – 9,8	hydrophile	
Cas particuliers de toxines non réglementées					
PALYTOXINES	Ovatoxine A (côte méditerranéenne)	Amphiphile (plus hydrophile que lipophile)		troubles gastro-entériques (diarrhées, vomissements, crampes abdominales), et/ou symptômes neurologiques, peut être mortelle chez l'Homme	
PINNATOXINES	PnTX G (lagunes méditerranéennes)	lipophile		non connus chez l'Homme	
** Sources : Hess , 2010 http://archimer.ifremer.fr/doc/00015/12661/9548.pdf Efsa (2009a) Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on Marine Biotoxins in Shellfish – Saxitoxin Group. The EFSA Journal (2009) 1019, 1-76.					

Tableau X : Limites de salubrité, dans les coquillages, des phycotoxines réglementées (Règlements n°853/2004, n°15/2011 et n°786/2013)

Familles	Phycotoxines	Limites
PHYCOTOXINES LIPOPHILES	AO, DTX1, DTX2, DTX3, PTX1, PTX2	160 µg d'équivalent AO/kg de chair
	AZA1, AZA2, AZA3	160 µg d'équivalent AZA1/kg de chair
	YTX, 45 OH YTX, Homo YTX, 45 OH Homo YTX	3,75 mg d'équivalent YTX/kg de chair
PHYCOTOXINES PARALYSANTES (PSP)	STXs	800 µg équivalent SXT/kg de chair
PHYCOTOXINES AMNESIANTES (ASP)	AD, épi-AD	20 mg d'AD/kg de chair

2.2.3 Stabilité et biodisponibilité dans l'eau de mer des phycotoxines

Les phycotoxines étant des productions endogènes des cellules algales et très peu excrétées dans le milieu, la plus grande partie se trouve donc à l'intérieur des cellules. Néanmoins, en raison de la durée de vie limitée de l'efflorescence ou de perturbations environnementales, la lyse des cellules va libérer les toxines sous forme dissoute ou adsorbée à la surface de débris cellulaires dans l'eau de mer. Se pose alors la question de la biodisponibilité, pour les coquillages filtreurs, de ces toxines dissoutes ou liées aux particules.

Une analyse bibliographique détaillée a été réalisée à partir des quelques données disponibles sur la stabilité et la biodisponibilité des phycotoxines dissoutes ou liées aux particules (Annexe 5). Une grande partie des informations provient d'une étude menée par Ifremer entre 2008 et 2010, intitulée « Maintien de la Commercialisation par la Sauvegarde et la Détoxication des Mollusques (COMSAUMOL) ». Des articles publiés dans des revues internationales à comité de lecture ont également été pris en compte.

Il ressort de ces données, en particulier de celles issues de l'étude COMSAUMOL, que les toxines dissoutes de la famille des saxitoxines (PSP) sont stables dans l'eau de mer pendant au moins 15 jours (durée de l'étude). Les résultats relatifs aux toxines de la famille de l'acide okadaïque (DSP) ne sont pas exploitables et les toxines de la famille de l'acide domoïque (ASP) n'ont pas fait l'objet d'étude.

Concernant la biodisponibilité des toxines, c'est-à-dire leur aptitude à être bioconcentrées par les coquillages, les données de l'étude COMSAUMOL tendent à montrer une faible biodisponibilité pour la famille des saxitoxines (PSP) lorsque les toxines sont présentes sous forme dissoute. Cependant, aucune accumulation n'est observée lorsque des microalgues fourrages non toxiques destinées à nourrir les coquillages sont ajoutées au milieu.

Pour la famille des azaspiracides (DSP), les travaux de Jauffrais *et al.* (2013) ont montré que les toxines dissoutes étaient biodisponibles pour les moules, toutefois près de la moitié des toxines sont retenues dans leurs branchies. Dans les essais avec une concentration en toxines dissoutes de 7,5 µg/L (avec ou sans algue fourrage), la concentration en AZAs dans la chair totale était supérieure à la limite réglementaire européenne.

Dans le cas de la famille de l'acide okadaïque (DSP), les données obtenues par l'étude COMSAUMOL ne permettent pas de conclure, car des doutes persistent quant aux unités de mesure et aux matrices analysées. Il semble que les concentrations retrouvées dans les moules en présence de toxines dissoutes soient faibles mais qu'en présence de débris cellulaires (lyse des cellules microalgales productrices de toxines DSP) des concentrations supérieures à la limite réglementaire européenne puissent être observées.

Concernant l'acide domoïque (ASP), les travaux de Novaczek *et al.* (1991) sur la moule montrent une faible biodisponibilité sous forme dissoute (< 1%) avec une absorption préférentielle dans les branchies, le manteau et les reins. Toutefois il convient de noter que les essais ont été menés avec une faible température de l'eau (5°C).

Les phycotoxines peuvent être présentes dans l'eau de mer sous forme dissoute ou adsorbée à la surface de débris cellulaires, d'autres cellules algales ou débris organiques. La stabilité des toxines dissoutes dans l'eau de mer a été montrée expérimentalement pour la famille des saxitoxines (PSP) sur une période d'étude de deux semaines. Pour ce qui est de leur biodisponibilité, elle serait faible pour les toxines de la famille des saxitoxines (PSP) et la famille de l'acide domoïque (ASP). En revanche, elle serait élevée pour la famille des azaspiracides (DSP). Les résultats obtenus pour la famille de l'acide okadaïque (DSP) ne permettent pas de conclure avec certitude mais un potentiel ne peut pas être exclu, en particulier en présence de débris cellulaires.

En conclusion, dans le cas d'un bassin destiné à recevoir des coquillages filtreurs alimenté en eau de mer contaminée par du phytoplancton toxique et/ou des phycotoxines dissoutes ou adsorbées aux particules, il existe une possibilité réelle de contamination des coquillages, que ce soit par des microalgues toxiques entières, des débris issus de la lyse des cellules correspondantes ou par la libération des toxines dissoutes dans l'eau de mer.

2.3 Conclusions sur les dangers

Les principaux dangers microbiologiques susceptibles d'être trouvés en mer et de s'accumuler dans les coquillages sont des contaminants biologiques d'origine fécale. Il s'agit en particulier des norovirus et des salmonelles responsables de TIACs associées à la consommation de coquillages ainsi que le virus de l'hépatite A. À cette liste il faut ajouter *Vibrio parahaemolyticus*, bactéries autochtones des milieux estuariens et marins et également responsables de TIACs.

Tous les dangers phycotoxiniques visés par la réglementation européenne (Tableau X) sont susceptibles d'être trouvés dans l'eau de mer et doivent donc être maîtrisés par les traitements mis en œuvre pour la production d'eau de mer destinée à l'alimentation des bassins de conchyliculture. Bien que la famille des palytoxines ne soit pas réglementée à ce jour au niveau national ou européen, ce danger devrait également être maîtrisé, des cas de mortalité chez l'Homme ayant été observés dans les zones tropicales et sub-tropicales.

Afin de répondre à la définition de l'eau de mer « propre » au sens du Règlement CE n°852/2004¹⁵, un traitement de l'eau de mer contaminée par les cellules algales appartenant aux espèces identifiées comme étant productrices de toxines figurant dans les tableaux VII et VIII, devrait être mis en œuvre. Les caractéristiques morphologiques des microalgues montrent que les tailles des cellules à retenir lors d'un tel traitement de l'eau de mer varient de 7 à 180 µm.

Purification microbiologique des coquillages

Dans ce contexte, il est utile de rappeler qu'il est admis que le processus de purification des coquillages est globalement efficace vis-à-vis des entérobactéries terrestres et beaucoup moins vis-à-vis des virus, en particulier des norovirus et du VHA, ainsi que des *Vibrio* pour lesquels le milieu marin est un habitat.

À ce titre, il est estimé que la survie en eau de mer (18 à 22°C) exprimée en « temps pour réduire d'un logarithme décimal la population » (T90) est de 5 à 35 h pour *E. coli* et de 13 à 72 h pour *Salmonella*. De fait, plusieurs études ont été consacrées à l'efficacité du processus sur l'abatement de ces entérobactéries (principalement *Salmonella* et *E. coli*). La purification des

¹⁵ une eau de mer « ne contenant pas de micro-organismes, de substances nocives ou de plancton marin toxique en quantité susceptible d'avoir une incidence directe ou indirecte sur la qualité sanitaire des denrées alimentaires »

coquillages est basée sur le principe que le coquillage immergé dans une eau propre va « éliminer » naturellement les contaminants présents dans ses tissus et en particulier dans son système digestif. Les bactéries comme *Salmonella* et *E. coli* vont généralement se localiser dans le tractus digestif des coquillages, en particulier la glande digestive. Leur assimilation par le mollusque est facilitée si les bactéries sont en présence de particules ou de fèces. L'un des paramètres essentiels est la physiologie de l'animal qui doit rester active pour une auto-épuration efficace.

Dans ces conditions, d'autres facteurs extrinsèques à l'animal vont jouer un rôle comme la salinité, le taux d'oxygène dissous, la turbidité ou l'alimentation des animaux.

Après purification microbiologique, le suivi du dénombrement d'*E. coli*, indicateur bactérien de contamination fécale, ne sera pas forcément suffisant car les demi-vies dans les coquillages de certains pathogènes (norovirus, VHA, *Vibrio parahaemolyticus*) peuvent s'avérer supérieures à celle de *E. coli*. (FAO/WHO, 2008 ; Greening *et al.*, 2003; Lees, 2000 ; Le Guyader *et al.*, 2006 ; Loisy *et al.*, 2005).

3 Dispositifs de traitement envisageables et performances

La saisine porte sur le traitement d'une eau de mer contaminée par des algues toxigènes et/ou des micro-organismes et/ou des phycotoxines, afin de permettre un stockage de coquillages non contaminés durant un épisode de pollution microbiologique et/ou d'efflorescence algale.

Le travail réalisé dans ce chapitre s'appuie sur la connaissance des traitements utilisés pour la production d'eau destinée à la consommation humaine (EDCH) en considérant que les processus classiques de traitements utilisés pour l'EDCH pourraient convenir également pour l'eau de mer.

Les traitements peuvent être classés en deux catégories :

- Les **traitements de rétention** : ce sont, en général, des procédés physiques par filtration ou par adsorption. Les éléments à éliminer sont retenus par le matériau filtrant en fonction de leur taille ou par le matériau d'adsorption.
- Les **traitements de transformation** selon deux modes d'action :
 - Transformation de l'élément pour que sa rétention devienne possible : ce sont les traitements de clarification physico-chimique dont le but est l'élimination des particules et colloïdes. Un réactif est ajouté dans l'eau pour neutraliser les charges négatives des colloïdes et permettre ainsi facilement leur coagulation, floculation et séparation en vue de leur élimination.
 - Transformation de l'élément pour le laisser dans l'eau sous une forme qui ne présente pas de risque direct ou indirect pour la santé du consommateur. Par exemple, la désinfection physique (rayonnements UV) ou chimique (chlore, ozone) inactive les micro-organismes sans les éliminer.

Ces traitements doivent être mis en œuvre de façon à ne pas produire de molécules toxiques (sous-produits) et à ne pas laisser de résidus nocifs pouvant affecter la santé du consommateur dans l'eau traitée.

Une filière de traitement de l'eau comporte généralement plusieurs étapes majeures et successives dont les trois principales applicables à l'eau de mer sont :

- Une clarification physico-chimique, physique ou biologique pour retenir les particules en suspension et les colloïdes. Cette étape se termine toujours par une filtration.
- Une étape intermédiaire ou complémentaire d'affinage, par l'adsorption de certains composés dissous sur un support solide, peut dans certains cas être nécessaire.
- Une désinfection.

3.1 Clarification physico-chimique

La clarification physico-chimique est la plus utilisée compte tenu de son efficacité pour l'élimination des particules et colloïdes. Elle est la plus appropriée pour le traitement de l'eau de mer dans les situations justifiant la présente saisine.

Des réactifs chimiques coagulants, tels que des sels de fer ou d'aluminium, et des adjuvants de floculation, tels que polymères de synthèse (polyacrylamides) ou naturels (amidon, alginates), sont ajoutés pour neutraliser les charges des particules et colloïdes (coagulation) et assurer leur

cohésion (floculation). Concernant les algues, il a été montré que, compte tenu de leurs propriétés électrophorétiques, leurs suspensions restent en général chargées négativement (Ives, 1959) et que le processus de coagulation des algues se faisait souvent par un processus d'adsorption et de neutralisation de charges, comme pour les particules minérales (Mouchet et Bonnelye, 1998). Il a été montré qu'il était difficile d'obtenir des floccs de grande dimension et compacts car la densité des cellules algales peut être aussi faible que $1,02 \text{ g/cm}^3$ (Pieterse et Cloot, 1997).

Dans certains cas, pour éliminer les micropolluants organiques, du charbon actif en poudre (CAP) est injecté dans l'eau au cours de cette étape de clarification (§ 3.4.2.).

La séparation des particules neutralisées et floculées se fait en général dans deux ouvrages séparés, un décanteur ou un flottateur, puis par filtration sur un lit de sable. Le choix entre un décanteur ou un flottateur est orienté par les caractéristiques des matières en suspension (MES), des micro-organismes et des colloïdes (densité et point isoélectrique).

Le GT souligne que le fonctionnement du système doit être parfaitement maîtrisé et contrôlé par l'exploitant pour éviter la présence de résidus de réactifs de traitement dans l'eau des bassins.

3.1.1 Étapes de la clarification

3.1.1.1 Décantation

Connaissances en traitement des eaux douces pour la production d'EDCH

Les décanteurs sont utilisés habituellement quand la turbidité de l'eau est très élevée en raison d'une charge importante en particules et colloïdes minéraux. Les vitesses de décantation varient de 0,75 à 30 m/h selon les technologies. Il peut s'agir, soit d'une décantation statique simple, ou après lestage du floc par ajout de micro-sable, soit d'une décantation dynamique avec recirculation de boues. Des systèmes lamellaires comprenant des plaques parallèles inclinées permettent d'augmenter la surface disponible à la décantation et d'obtenir des vitesses de traitement plus élevées.

Les ouvrages de décantation dynamique à l'opposé des décanteurs statiques nécessitent un délai de démarrage avant d'être opérationnels. En effet, pour que la séparation soit optimale, le lit de boues doit être formé, ce qui nécessite un temps de fonctionnement de 6 à 12 heures avec les différents réactifs avant que l'eau en sortie d'ouvrage atteigne une turbidité minimale et soit donc considérée comme correctement traitée.

La décantation est une technique de séparation courante pour l'élimination d'algues pour le traitement des eaux douces de surface. Son efficacité dépend fortement de celle de l'étape préalable de coagulation/floculation destinée à produire des floccs capables de décanter rapidement (Vlaski *et al.*, 1997 ; AWWARF, 2004).

Les essais de coagulation réalisés sur une grande variété d'espèces d'algues avec des sels métalliques (sulfate ferrique, chlorure ferrique) et des polymères inorganiques ont montré des efficacités de rétention de l'ordre de 70 à 80 % selon les variétés d'algues considérées et pour des temps de décantation compris entre 10 minutes et 2 heures (Mouchet et Bonnelye, 1998).

L'optimisation de la coagulation est une étape clé de l'efficacité de la décantation. Le choix des conditions de coagulation (réactifs et dose) dépend des propriétés des algues, telles que leur morphologie, leur mobilité (présence de flagelles ou non), leur charge de surface, leur densité et la composition de l'eau (AWWARF, 2004).

De plus, si la coagulation n'est pas suffisamment efficace, les performances de la décantation en terme de rétention d'algues deviennent dépendantes des propriétés des algues, notamment de leur morphologie et de leur mobilité.

3.1.1.2 Flottation

Connaissances en traitement des eaux douces pour la production d'EDCH

Les ouvrages de flottation sont particulièrement recommandés lorsque les eaux sont chargées en particules légères et surtout en microalgues, car ces dernières libèrent des microbulles d'oxygène qui allègent le floc. Les microalgues présentent une bonne flottabilité qui rend leur rétention difficile dans les décanteurs classiques décrits dans le paragraphe 3.1.1.1.

Le principe de la flottation (Figure 4) consiste à introduire environ 10 % d'eau traitée, à une pression de 4,5 bars avec de l'air, en fond d'ouvrage afin de faire remonter les particules à la surface de l'eau par libération de très fines bulles d'air lors de la remise très rapide à la pression atmosphérique. Un écrémage de surface permet ensuite l'élimination des particules.

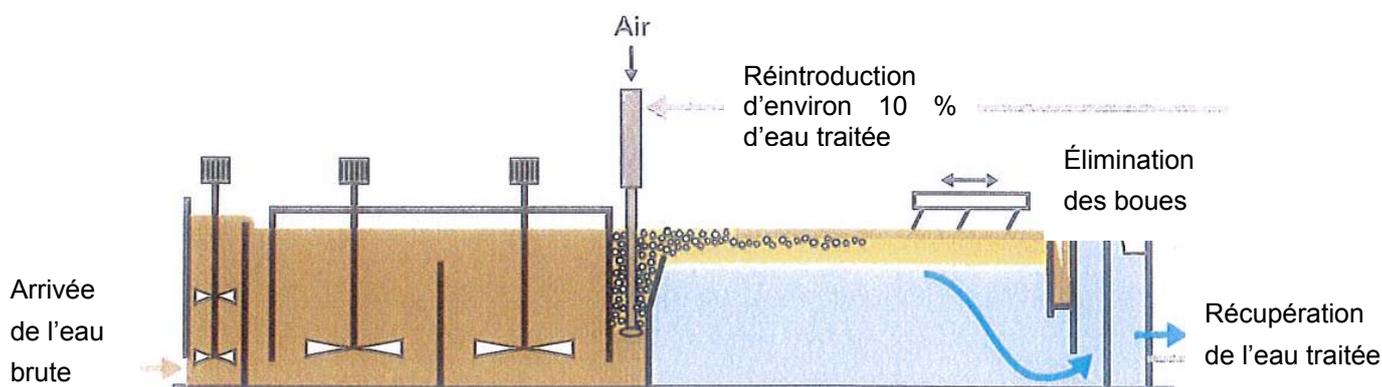


Figure 4 : Schéma d'un flottateur (Degrémont, 2005)

La technique de flottation est devenue la technique la plus utilisée pour l'élimination des algues car son efficacité est supérieure à celle de la décantation (AWWARF, 2004b).

Si le prétraitement et le procédé de flottation sont bien optimisés en fonction de la qualité de l'eau à traiter, la plupart des algues peuvent être très bien séparées et des taux d'élimination entre 96 et 99,8 % peuvent être obtenus. Toutefois, pour certains types d'algues d'eau douce (*Synedra*, *Asterionella*, *Scenedesmus* par exemple), du fait de leur forme et de leur mobilité, l'efficacité du procédé est plus faible, entre 58 et 80 % selon les espèces (Henderson *et al.*, 2008).

Connaissances en traitement de l'eau de mer

Dans le cas d'une eau de mer concernée par des proliférations algales, la flottation semble donc être la technique de clarification physico-chimique la plus performante (15 à 20 % d'amélioration du taux d'élimination pour divers coagulants et algues) et la plus robuste. Elle est devenue la technique prépondérante pour la séparation d'algues (Edzwald, 1993).

Les données de la littérature portent toutes sur les prétraitements utilisés pour éliminer les éléments colmatants lors du dessalement de l'eau de mer (Voutchkov, 2010 ; Bréhant *et al.*, 2002 Caron *et al.*, 2010).

Des résultats obtenus lors d'un fonctionnement de longue durée (4 ans) en Méditerranée avec un pilote industriel de prétraitement en amont d'une installation de dessalement, comportant une étape de coagulation au chlorure ferrique suivie d'une étape de flottation, montrent une faible rétention de bactéries et un taux d'élimination de 87 % des algues pendant les périodes d'efflorescence (Guastalli *et al.*, 2013).

3.1.1.3 Filtration

Connaissances en traitement des eaux douces pour la production d'EDCH

Après décantation ou flottation, l'eau doit être filtrée pour éliminer les micro-flocs. Les filtres utilisés lors d'une étape de clarification physico-chimique peuvent être gravitaires ou sous pression et ils diffèrent selon :

- La nature et les caractéristiques des matériaux (sable siliceux, anthracite ou charbon actif en grains,...) ;
- La hauteur du massif filtrant généralement comprise entre 0,8 m et 1,5 m ;
- La vitesse de filtration généralement comprise entre 5 et 10 m³/m².h ;
- La durée du cycle de filtration qui varie en fonction de la qualité de l'eau décantée ou flottée entrante et des caractéristiques du filtre ;
- Le nombre de couches de matériaux constituant le massif filtrant :
 - filtre monocouche constituée d'un seul matériau.
 - filtre bicouche constitué de deux matériaux : un matériau dense en partie basse, en général du sable, sur le tiers de la hauteur totale de matériau, et, au-dessus, une couche de matériau de densité plus faible et de taille effective plus importante (principalement de l'anthracite, ou du charbon actif en grains).

Les filtres produisent une eau de qualité acceptable après un délai de « maturation », c'est-à-dire que lors de la mise en service d'un filtre avec un matériau neuf, les premières eaux filtrées ne sont pas d'une qualité acceptable.

Les filtres s'encrassent au cours de leur utilisation, créant une accumulation de matières à la surface et dans le massif filtrant. Une opération de lavage à contre-courant est donc nécessaire afin de retrouver les performances initiales du filtre. Elle comprend plusieurs phases, selon le type du filtre : lavage à l'air et à l'eau pour du sable dont la taille effective est supérieure à 0,8 mm ou lavage à l'eau seule pour un sable de taille effective inférieure à 0,6 mm.

Pour la rétention des algues, la filtration peut être utilisée soit après une étape de décantation ou de flottation, soit directement selon la qualité de l'eau mais très souvent avec une succession d'étapes de filtration différentes mettant en œuvre des matériaux de plus en plus fins.

Connaissances en traitement de l'eau de mer

Très peu d'études ont porté sur l'élimination d'algues marines par filtration.

L'étude de Piclet *et al.* (2005) concerne l'utilisation de la filtration sur sable pour l'élimination ciblée du dinoflagellé toxique *Alexandrium minutum* de l'eau entrant dans un système d'élevage de bivalves. Castaing (2011), sur un pilote de laboratoire peu représentatif d'installations industrielles et en sélectionnant la taille du sable, a obtenu une élimination maximale de 90 % des algues.

L'étude de Guastalli *et al.* (2013), citée précédemment, s'est intéressée aux performances d'un filtre bicouche sable/anthracite placé après une coagulation/flottation. Un taux de rétention de 60 % seulement des algues a également été obtenu par la filtration.

Les filtres conventionnels utilisés pour le prétraitement de l'eau de mer, toujours en amont d'étapes de dessalement, sont généralement des filtres bicouches (sable et anthracite). Toutefois, dans certains cas où l'eau de mer présente une concentration élevée en composés organiques, algues ou MES, deux étapes de filtration successives sont utilisées. Dans cette configuration, la première étape de filtration est principalement conçue pour éliminer les solides grossiers (particules, algues) et les matières organiques en suspension. Les filtres du deuxième étage sont utilisés pour retenir les limons et les colloïdes et une partie (20 à 40 %) des matières organiques solubles contenues dans l'eau de mer (Voutchkov *et al.*, 2010).

3.1.2 Performances et contraintes d'exploitation de la clarification physico-chimique

Connaissances en traitement des eaux douces pour la production d'EDCH

Le traitement de clarification physico-chimique (coagulation + floculation + flottation + filtration) permet l'abattement des particules en suspension dans l'eau et, ainsi, de 99 % des cyanobactéries (Afssa et Afsset 2006; Hendricks *et al.*, 2005), 80 à 100 % des microalgues et aussi, indirectement, la réduction de la charge microbienne (adsorbée sur les particules et les colloïdes). Ainsi, il est admis qu'une clarification permet des abattements de 2 à 3 log de bactéries (notamment *E. coli*) (Hendricks *et al.*, 2005) et 2 à 3 log de virus (Afssa, 2007a; Anses, 2010a ; Hendricks *et al.*, 2005) et 3 à 4 log pour les protistes (OMS, 2011). Le traitement permet également l'élimination des substances très hydrophobes qui vont s'adsorber sur les floccs formés.

La maîtrise du traitement de clarification physico-chimique passe obligatoirement par une parfaite maîtrise des quantités de réactifs ajoutés (coagulants et adjuvants de floculation) et par le lavage régulier des filtres à sable (Hendricks *et al.*, 2005).

Le paramètre indicateur pertinent de l'efficacité de traitement est la turbidité de l'eau clarifiée après l'étape de filtration. Elle ne doit pas dépasser 0,5 Nephelometric Formazine Unit (NFU) pour garantir une efficacité optimale des étapes ultérieures de traitement. Ce traitement est adapté à des eaux brutes présentant une turbidité allant jusqu'à 50 NFU.

Un tel objectif est plus difficile à atteindre avec un ensemble de traitements coagulation + décantation + filtration compte tenu du pouvoir de flottaison élevé des algues.

Adaptation au traitement de l'eau de mer

La clarification physico-chimique (coagulation + floculation + flottation + filtration sur sable ou bicouche) semble bien adaptée pour retenir les cellules algales. Son application à l'eau de mer n'est pas documentée pour l'élimination des cellules algales objet de la présente saisine et nécessitera une étude de faisabilité pour adapter notamment la nature et les doses de produits coagulants et floculants optimaux.

3.2 Clarification biologique : filtration lente

Connaissances en traitement des eaux douces pour la production d'EDCH

La filtration lente est réalisée sur un massif de sable avec une vitesse de filtration variant de 2 à 6 m³/m²/jour. La taille effective des grains de sable est comprise entre 0,4 et 0,6 mm.

Elle permet la rétention des MES, ainsi que la neutralisation et le piégeage des colloïdes grâce à l'action de micro-organismes fixés à la surface du sable qui sécrètent des polysaccharides et neutralisent les charges négatives des colloïdes.

Pour le bon fonctionnement d'un filtre lent, la turbidité de l'eau admise ne doit pas être supérieure à 10 NFU. Le lavage du filtre ne porte que sur sa surface et il est réalisé à co-courant avec de l'eau préfiltrée. Il est accompagné d'un balayage des éléments flottants.

L'efficacité de la filtration lente dépend de la colonisation biologique en surface et en profondeur du filtre. Sa « maturation » nécessite un temps assez long qui dépend de la température de l'eau et peut varier d'une semaine en été à 20°C à un mois en hiver à 4-5 °C.

Il faut cependant noter que quelques études se sont intéressées à la rétention sur filtres lents de microcystines algales d'eaux douces. Des efficacités d'éliminations importantes (jusqu'à 95 %) ont été observées par Grützmacher *et al.* (2002). Ho *et al.* (2006) ont montré que le mécanisme

impliqué est essentiellement une biodégradation (ou une biocoagulation) qui se met en place après une phase de latence de 3 jours.

Adaptation au traitement de l'eau de mer

La clarification par voie biologique (filtration lente) présente deux inconvénients majeurs pour le traitement d'une eau de mer contaminée par un épisode de prolifération algale :

- elle nécessite des surfaces importantes et un entretien très régulier et lourd à mettre en œuvre (lavage manuel de bassins). La fréquence des nettoyages risque d'être élevée car les algues sont retenues en surface du filtre ;
- le temps de maturation nécessaire pour que le filtre devienne opérationnel ne permet pas d'envisager un fonctionnement intermittent, face à un événement ponctuel ou périodique dont l'occurrence peut être faible.

De plus, si des algues toxigènes se multiplient à la surface du filtre, elles peuvent à leur tour libérer des toxines. Toutes les toxines dissoutes objet de la présente saisine ne seront pas retenues par ce traitement.

Ce type de traitement n'apparaît donc pas adapté pour le traitement d'une eau de mer exposée aux contaminations justifiant la présente saisine.

3.3 Clarification physique : filtration membranaire

Connaissances en traitement des eaux douces pour la production d'EDCH

La filtration membranaire permet de retenir et d'éliminer les MES et les matières colloïdales, en faisant appel, comme barrière filtrante, à des matériaux poreux appelés membranes. Deux types de matériaux peuvent être utilisés :

- Les membranes minérales fabriquées à partir de poudres déposées sur un support poreux (céramique, carbone graphite, alumine, oxyde de titane, oxyde de zirconium ou acier fritté) puis traitées thermiquement ;
- Les membranes organiques fabriquées à partir de polymères. Elles sont autorisées pour produire de l'EDCH et sont les plus utilisées aujourd'hui. Elles peuvent être en acétate de cellulose, polysulfone, polyéther sulfone ou composés dérivés, polyamide, polyacrylonitrile, polyvinylidifluorure ou polypropylène. La plupart des membranes utilisées dans le domaine de la production d'EDCH se présentent sous forme de fibres creuses asymétriques. Elles sont dites à « peau interne » ou à « peau externe », selon que la paroi sélective (ou peau) se situe à l'intérieur ou à l'extérieur de la fibre. L'eau brute préfiltrée est admise à l'intérieur des premières ou à l'extérieur des secondes.

Les membranes de **microfiltration (MF)** possèdent des pores dont la taille moyenne est comprise entre 0,1 et 10 μm (Afssa, 2009). Les particules sont retenues à la fois en surface et à l'intérieur des membranes pour les colloïdes d'une taille voisine de celle des pores ; ce mécanisme est appelé « colmatage interne des pores ». Telle est la raison pour laquelle les traitements de microfiltration ne permettent pas une rétention suffisante des bactéries et des virus pour atteindre un objectif de désinfection de l'eau. Les membranes de microfiltration ne sont pas en mesure de retenir tous les virus sauf si des couplages coagulation-microfiltration sont mis en œuvre. Néanmoins, ces membranes sont très efficaces pour la rétention d'efflorescences algales et peuvent permettre un abattement de 3 log de cellules algales.

Les membranes d'**ultrafiltration (UF)** possèdent des tailles moyennes de pores plus faibles, comprises entre 2 et 100 nm (Afssa, 2009) et assurent en général par effet tamis, la rétention des composés solides ou colloïdaux (particules, bactéries, virus et protistes, etc.). Les seuils de

coupure correspondants varient entre 2 000 et 500 000 daltons. Les membranes commercialisées aujourd'hui ont des seuils de coupure compris entre 100 000 et 500 000 daltons. Lors de la filtration, un dépôt se constitue à la surface de la membrane et ce dépôt limite la productivité du procédé en créant une résistance hydraulique. Des rétrolavages fréquents sont nécessaires pour rétablir les performances de la membrane.

Ces traitements (MF et UF) ont l'avantage de ne pas nécessiter l'utilisation d'un réactif chimique en amont.

Pour les deux types de membranes (MF et UF), les composés solubles, minéraux et organiques traversent en très grande partie les membranes et sont faiblement retenus dans les dépôts.

Les toxines déjà présentes dans l'eau à traiter sous forme dissoute ne sont donc pas éliminées par la membrane. Gijbertsen *et al.* (2006) ont montré que l'UF permettait de retenir plus de 99,99 % de cyanobactéries. Cependant, les cyanotoxines dissoutes n'étaient pas éliminées par la membrane alors que les microcystines liées aux cellules étaient éliminées à 98 %.

Les traitements physiques par UF permettent une très bonne rétention des MES, d'une partie des colloïdes, des bactéries, des virus et des protistes à condition que les membranes présentent un seuil de coupure de 100 000 daltons (UF) et que la turbidité de l'eau brute se situe aux environs de 15 NFU sans jamais dépasser 50 NFU. Dans ces conditions, l'efficacité de tels traitements peut atteindre 6 log pour les algues (Afssa et Afsset, 2006), les bactéries et les virus (Afssa 2007a).

Connaissances en traitement de l'eau de mer

Des études portant sur la filtration par membranes d'eau de mer contenant des microalgues toxiques sont disponibles. Elles ont souvent été réalisées pour développer des prétraitements de l'eau de mer avant traitement de dessalement par osmose inverse (Kim et Yoon, 2005 ; Caron *et al.*, 2010 ; Ladner *et al.*, 2010 ; Di Profio *et al.*, 2011).

Différents types de membranes (matériaux et porosités) d'UF et de MF ont été étudiés et les travaux ont confirmé la bonne qualité d'eau produite au regard de celle produite avec d'autres procédés de clarification (Wilf *et al.*, 2001), notamment pour la rétention des microalgues par UF (Bréhant *et al.*, 2002, Guastalli *et al.*, 2013, Castaing *et al.*, 2010).

L'étude de Bréhant réalisée sur une durée de 4 mois à Gibraltar (20 000 à 60 000 cellules de phytoplancton par litre dans l'eau de mer pompée) avec des membranes d'UF précédées d'une coagulation à faible dose montre que ce procédé permet d'éliminer les éléments colmatants et d'obtenir une eau de qualité constante contrairement à la filtration bicouche.

Lors d'essais de filtration d'une suspension de microalgues à 30000 cellules par millilitre, Castaing a comparé, sur un pilote de laboratoire, l'élimination d'une suspension de 30000 cellules par mL de *Heterocapsa triquetra* par des membranes immergées (une membrane de MF et deux membranes d'UF de pouvoir de coupure 10 kDa et 300 kDa). Les meilleurs résultats ont été obtenus avec la membrane d'UF, avec une rétention supérieure à 99 %.

Lors de la filtration membranaire, les algues et les matières organiques qu'elles produisent contribuent au colmatage des membranes et induisent donc une consommation énergétique importante. Ce colmatage nécessite de nombreux lavages. Par ailleurs, les algues marines sont sensibles à la pression et au cisaillement (Ladner *et al.*, 2010) et peuvent, à partir de pressions de l'ordre de 0,4 à 0,6 bars ou quand elles sont soumises au cisaillement dans des pompes, se lyser et relarguer des toxines, des débris cellulaires et leur cytoplasme riche en polysaccharides. Ces derniers composés posent des problèmes importants de colmatage, entraînant des nettoyages très fréquents (Bonnelye *et al.*, 2008). Dans certains cas, il est nécessaire de fonctionner à pression inférieure à 0,4 bars pour éviter la lyse cellulaire (*cf* essais de Voutchkov, 2010, à Carlsbad en période d'efflorescence d'algues rouges). Les toxines ainsi relarguées constituent donc une problématique dans le cadre de la présente saisine.

En prétraitement de dessalement d'eau de mer, l'alternative la plus couramment proposée à l'échelle industrielle, pour pouvoir utiliser les membranes en tant que barrières pour les microalgues tout en limitant le colmatage, consiste à faire précéder la séparation membranaire (principalement UF) par une étape de coagulation-floculation-décantation (Bréhant *et al.*, 2002 ; Tatabatai *et al.*, 2014) ou de coagulation-floculation-flottation (Bonnelye *et al.*, 2008, Guastalli *et al.*, 2013). Guastalli *et al.* ont montré que l'UF (0,02 µm) permettait de retenir 99 % des cellules algales et 99,9 % des bactéries et que le couplage coagulation-flottation-ultrafiltration est plus performant que le couplage coagulation-flottation-filtration bicouche en terme de qualité de l'eau.

Il faut aussi souligner que les procédés membranaires et principalement l'UF sont utilisés aujourd'hui dans divers pays comme prétraitement avant osmose inverse dans des installations de dessalement d'eau de mer pour l'alimentation en EDCH (Voutchkov *et al.*, 2010). Ils sont généralement eux-mêmes précédés d'un prétraitement par coagulation et décantation ou flottation.

Adaptation au traitement de l'eau de mer

Pour le traitement des eaux concernées par des contaminations microbiologiques et/ou des efflorescences algales, les techniques de clarification physique par filtration membranaire ont des limites pour trois raisons principales :

- la taille des algues et du plancton, qui peut provoquer un colmatage des membranes très rapide nécessitant des lavages quasi permanents, surtout pour l'UF. Un traitement de MF permettrait de retenir plus de 3 log de cellules algales mais aurait peu d'effets sur la contamination microbiologique ou virale ;
- la pression nécessaire pour ces traitements qui pourrait détruire certaines cellules algales libérant alors des toxines ;
- l'impossibilité de garantir une intégrité permanente de la membrane d'ultrafiltration (problème de fibre cassée) et donc de garantir en permanence leur efficacité, notamment pour les virus non liés ou adsorbés sur des matières en suspension ou sur des colloïdes. Le traitement membranaire doit obligatoirement être suivi d'une étape de désinfection en cas de contamination microbiologique.

3.4 Traitements d'affinage de l'eau

Connaissances en traitement des eaux douces pour la production d'EDCH

Les procédés de clarification physique et physico-chimique ne sont pas efficaces pour retenir les toxines dissoutes identifiées dans les eaux douces (Mouchet et Bonnelye, 1998 ; Chow *et al.*, 1999).

Les procédés qui ont montré une efficacité pour la rétention de toxines sont l'adsorption sur du charbon actif (en grain ou en poudre), la nanofiltration, l'ozonation et la chloration (Mouchet et Bonnelye, 1998 ; Dixon *et al.*, 2010).

D'après la littérature (cf. § 2.2), les caractéristiques des toxines identifiées dans l'eau de mer, montrent que la plupart sont solubles et/ou lipophiles. Elles peuvent donc s'adsorber sur le floc lors de l'étape de coagulation-floculation-flottation, ou rester en solution. Les toxines présentant une valeur du logarithme du coefficient de partage octanol-eau supérieur à 2 (log Kow > 2) peuvent être retenues par adsorption sur du charbon actif.

À cet effet, trois techniques sont possibles : la filtration sur charbon actif en grains (CAG), les réacteurs à charbon actif en poudre (CAP) et la filtration par membranes de nanofiltration.

3.4.1 Filtration sur charbon actif en grains

Connaissances en traitement des eaux douces pour la production d'EDCH

L'eau clarifiée est admise sur un massif filtrant constitué de CAG. Les caractéristiques du charbon actif, notamment son indice d'iode, permettent de prévoir sa capacité d'adsorption. Le temps de contact est de 10 à 15 minutes pour une efficacité optimale. La densité du CAG est comprise entre 0,2 et 0,5 et le diamètre des grains compris entre 0,55 et 1 mm.

Les filtres à CAG peuvent fonctionner en mode gravitaire, comme les filtres à sable ou peuvent être alimentés sous pression. Pour de petites installations, les filtres sous pression sont recommandés car ils permettent l'usage d'une hauteur de charbon plus importante sans jamais dépasser 2 m et donc des vitesses de filtration assez élevées tout en maintenant un temps de contact d'environ 10 minutes.

Les capacités d'adsorption du charbon actif diminuent au cours du temps et le matériau doit être changé ou régénéré selon une fréquence qui dépend du type de charbon, de la concentration des éléments adsorbables et du volume d'eau filtrée.

Des lavages périodiques doivent être réalisés pour reclasser le matériau et assurer son bon fonctionnement en évitant la formation de passages préférentiels.

L'alimentation en eau du filtre doit être permanente et régulière pour éviter des phénomènes de réduction et de relargage dans l'eau filtrée de substances indésirables (nitrites *etc.*). Une alimentation par de l'eau recirculée peut permettre de pallier cet inconvénient important lorsque la contamination de l'eau n'est pas permanente et autorise donc une « mise en attente » du filtre. Il est fréquent d'installer des filtres à CAG en aval d'un traitement de clarification physico-chimique (coagulation + floculation + flottation + filtration rapide sur sable).

Connaissances en traitement de l'eau de mer

Le retour d'expérience en traitement d'eau de mer est faible car les filtres à CAG sont, à ce jour, peu utilisés dans ce domaine.

3.4.2 Réacteurs à charbon actif en poudre

Connaissances en traitement des eaux douces pour la production d'EDCH

Ces ouvrages sont de même conception que les décanteurs, dans lesquels du CAP est injecté en continu. Des réactifs doivent être ajoutés pour piéger le charbon actif au fond du décanteur. Un traitement par filtration est nécessaire en aval afin d'éliminer le floc contenant du CAP qui n'aurait pas été retenu et éliminé dans le réacteur. Le CAP est un matériau pulvérulent (95 % du matériau a une taille inférieure à 150 µm), d'une densité comprise entre 0,5 et 0,6.

Ces réacteurs présentent un avantage important qui est leur grande capacité d'adsorption liée au renouvellement permanent du CAP. Ils sont aujourd'hui souvent placés derrière un flottateur en amont de l'étape de filtration rapide sur sable.

La littérature montre que les systèmes à charbon actif en poudre peuvent être très efficaces pour retenir des cyanotoxines dissoutes dans de l'eau douce (Hitzfeld *et al.*, 2000) mais que le choix du charbon et son taux de traitement sont très importants. Mouchet *et al.* (1998) ont montré qu'une dose de CAP de 9 mg/L permettait d'abattre 98 % de nodularine mais qu'il fallait mettre en œuvre un taux de traitement de 60 mg/L pour abattre 98 % d'anatoxine-a (avec une concentration initiale en toxine de 50 µg/L).

Connaissances en traitement de l'eau de mer

L'adsorption sur CAP a fait l'objet de très peu d'études concernant l'eau de mer.

Les quelques études disponibles se sont intéressées à l'adsorption des matières organiques marines (notamment polysaccharides, protéines) (Tansakul *et al.*, 2011) en vue de limiter l'apport de matières organiques dissoutes en entrée des installations d'osmose inverse. Elles n'ont pas porté spécifiquement sur les phycotoxines.

Le choix d'un CAP (matériau, porosité, taille) et des conditions de sa mise en œuvre pour favoriser l'adsorption de toxines plutôt que d'autres matières organiques présentes dans l'eau de mer restent à étudier.

3.4.3 Nanofiltration

La nanofiltration (NF) est un procédé membranaire dans lequel la filtration est effectuée sous l'effet de la pression à travers un matériau de structure microporeuse, avec un diamètre inférieur à 2 nm. Dans la plupart des cas, le matériau porte des charges ioniques superficielles.

La nanofiltration peut retenir, par effet tamis, les colloïdes, les MES et micro-organismes, mais elle est généralement utilisée comme étape d'affinage pour retenir des espèces solubles, ions ou petites molécules organiques (200 à 2000 g/mol), notamment des micropolluants tels que les pesticides. Du fait de sa capacité à retenir des ions divalents, elle est aussi utilisée dans le traitement de l'eau destinée à la consommation humaine, pour un adoucissement partiel de l'eau ou pour diminuer les concentrations en sulfates. Lors de l'utilisation en eau de mer, une très grosse partie des sels minéraux seront retenus.

Comme la masse moléculaire des microcystines est de l'ordre de 1000 Daltons, leur rétention est possible par des membranes de nanofiltration.

Quelques études se sont intéressées à la rétention de toxines d'algues d'eaux douces par nanofiltration (Gijssbertsen-Abrahamse *et al.*, 2006 ; Teixeira et Rosa, 2005, 2006 a et b)

Lors d'expériences conduites avec un module spiralé de nanofiltration, des taux de rejet de > 99 %, > 99 %, > 99 % et 96 % ont respectivement été obtenus pour les microcystines RR (concentration initiale 1,2 à 7,8 µg/L), LR (concentration initiale de 5,5 à 9,4 µg/L), YR (concentration initiale de 7,1 à 8 µg/L) et l'anatoxine-a (concentration initiale de 4,6 à 4,8 µg/L) produites par des cyanobactéries (Gijssbertsen-Abrahamse *et al.*, 2006). Pour une large gamme de qualité d'eau, tous les variants de microcystine étudiés ont été retenus à plus de 97 % par une membrane de nanofiltration chargée négativement, quelle que soit la qualité de l'eau (Teixeira et Rosa, 2005).

Adaptation au traitement de l'eau de mer

L'affinage sur charbon actif en poudre ou en grains permet de retenir des molécules solubles présentant un log Kow ou log P > 2. En principe, cette technique de traitement est adaptée à la rétention des phycotoxines dans l'eau de mer. Des essais sur site conduits après une phase de sélection des charbons actifs sont nécessaires pour le vérifier.

La nanofiltration permet de retenir des molécules solubles de taille comprise entre 200 et 2000 Daltons. Cette technique de traitement ne paraît pas adaptée au traitement de l'eau de mer pour la conchyliculture en cas de contamination par des microalgues car elle modifie considérablement la qualité minérale de l'eau et peut retenir les nutriments essentiels à la vie des coquillages.

3.5 Désinfection

Connaissances en traitement des eaux douces pour la production d'EDCH

En cas de contamination microbiologique de l'eau prélevée dans le milieu, par des micro-organismes indésirables, une désinfection est nécessaire. Cette étape de désinfection est placée

en aval de la clarification et de l'adsorption si elle existe. Elle constitue l'étape finale de la filière de traitement. Le procédé peut être de type physique ou chimique.

Les procédés de désinfection évoqués ci-après sont mis en œuvre dans de nombreux pays pour maîtriser la qualité de l'eau de mer destinée à l'alimentation des systèmes de purification microbiologique des coquillages (OMS, 2009) ou de la production d'eau de mer propre pour d'autres usages alimentaires (EFSA, 2012b).

3.5.1 Désinfection physique par rayonnements ultraviolets (UV)

Connaissances en traitement des eaux douces pour la production d'EDCH

L'action germicide des rayonnements UV correspond à l'utilisation de rayonnements UV C, c'est-à-dire à des longueurs d'onde comprises entre 200 et 280 nm.

L'arrêté du 9 octobre 2013 du Ministère en charge de la santé, est relatif aux conditions de mise sur le marché et d'emploi des réacteurs équipés de lampes à rayonnements UV utilisés pour le traitement de l'EDCH. Il s'appuie sur un rapport de l'Anses de 2010 sur l'évaluation de l'innocuité et de l'efficacité des réacteurs équipés de lampes à rayonnements UV pour la désinfection des EDCH (Anses, 2010b). Cet arrêté fixe les conditions dans lesquelles ces traitements doivent être utilisés pour en garantir l'efficacité optimale. Elles portent sur la qualité de l'eau à traiter et sur le fonctionnement des installations :

- la turbidité de l'eau à traiter doit être inférieure ou égale à 0,5 NFU, associée à une très faible concentration en fer et en manganèse (50 µg/L et 20 µg/L respectivement) et à une transmittance de l'eau supérieure à 80 % ;
- le fonctionnement doit se faire en continu, si la mise en route ne peut pas être anticipée. Les lampes nécessitent un certain temps de « chauffage » (plusieurs minutes) avant que la dose de réduction équivalente soit effectivement délivrée.

Les réacteurs utilisés doivent être agréés par le Ministère chargé de la santé. Cette précaution permet de garantir que la dose moyenne délivrée est de 400 J/m² car des tests biodosimétriques sont exigés pour l'obtention de l'agrément. Ces tests permettent de vérifier l'efficacité des réacteurs sur des micro-organismes tests sélectionnés pour leur résistance sensiblement plus élevée que celle de *Giardia* et *Cryptosporidium* dans différentes conditions de fonctionnement.

Deux types de lampes peuvent être utilisés :

- soit des lampes à vapeur de mercure basse pression qui émettent principalement au niveau de la raie de résonance du mercure à 253,7 nm (85 % de l'émission photonique totale) ;
- soit des lampes à vapeur de mercure moyenne pression qui émettent tout le spectre de raies du mercure. La longueur d'onde de 253,7 nm ne représente que 8 à 10 % de l'émission photonique totale. Les longueurs d'onde inférieures à 253,7 nm conduisent à des réactions secondaires avec les ions iodure, les ions nitrate ou des réactions radicalaires avec les espèces organiques. Il est donc impératif que ces lampes soient équipées d'une gaine en quartz supprimant toutes les longueurs d'onde inférieures à 230 nm.

La dose classiquement appliquée pour le traitement des EDCH pour son effet bactéricide, virucide et contre les protistes est une dose de réduction équivalente (DRE)¹⁶ de 400 J/m². Elle permet un abattement de 5 log pour les bactéries, de 4 à 5 log pour la plupart des virus à l'exception des

¹⁶ DRE : Dose pour laquelle le niveau d'inactivation d'un micro-organisme test est obtenu en conditions réelles de fonctionnement d'un réacteur UV

adénovirus et de 3 à 4 log pour les protistes (annexe 6) (Anses 2010b). Pour les adénovirus, une dose de 600 J/m² avec une lampe moyenne pression est nécessaire pour atteindre une réduction de 4 log du sérotype 40 d'adénovirus (Linden *et al.*, 2007).

Des publications (Eischeid *et al.* 2009 ; Hijnen *et al.* 2006 ; Linden *et al.* 2007) montrent que, pour les virus, les rayonnements moyenne pression (rayonnement polychromatique) présentent une efficacité supérieure à celle des rayonnements basse pression (rayonnement monochromatique). En effet, les rayonnements moyenne pression lèsent de façon plus importante les protéines virales (Eischeid et Linden, 2011). De plus, les phénomènes de réparation de l'ADN (photo réactivation ou phénomène de « dark repair ») sont plus importants avec des lampes basse pression (Anses 2010b; Linden *et al.* 2007), ce qui réduit leur efficacité.

De Abreu Correa *et al.* (2012) ont montré l'efficacité des rayonnements UV à une dose d'environ 43 à 85 mJ/cm² (430 à 850 J/m²) pour désinfecter une eau de mer contaminée par l'Adenovirus humain 2 (HAdV2). Avec cette dose, une forte réduction (> 5 log) en nombre de copies de génome a été atteinte après 120 h, et une inactivation totale de HAdV2 a été observée après 72 h. Ce résultat pourrait s'expliquer par l'effet cumulatif de l'irradiation UV puisque ces essais ont été réalisés en circuit fermé avec six recyclages de l'eau par heure.

Les lampes à rayonnements UV moyenne pression sont plus efficaces pour éliminer les adénovirus, Shin et Lee (2010) ont montré qu'une dose de 40 mJ/cm² (400 J/m²) était suffisante pour réduire de trois log le nombre d'adénovirus, pour un log seulement avec une lampe basse pression à la même longueur d'onde. Ces résultats sont confirmés par l'étude de Beck *et al.* (2014).

Connaissances en traitement de l'eau de mer

Penru *et al.* (2012) ont montré que des rayonnements UV à une dose de 4 à 19 J/cm² (40 000 à 190 000 J/m²) permettent une désinfection (évaluée par mesure d'ATP) de l'eau de mer. Aucune augmentation des concentrations en bromates et en chlorates n'a été observée.

Adaptation au traitement de l'eau de mer

Dans le cas de l'eau de mer, l'hypothèse de réactions secondaires d'oxydation d'ions présents dans cette eau (bromures en bromates, chlorures en chlorates) accompagnant cette utilisation doit être évoquée. La littérature n'apporte pas de réponse quant à la toxicité de ces composés pour les coquillages et leur possible accumulation qui pourrait nuire à la qualité alimentaire des coquillages.

Pour la désinfection d'une eau de mer, les lampes à rayonnements UV « moyenne pression » constituent donc une solution envisageable, sous réserve que soient respectées les conditions de mise en œuvre (qualité de l'eau à désinfecter mesurée notamment par la turbidité, la transmittance, les concentrations en fer et manganèse de l'eau à traiter, maintenance du réacteur UV) et que soit levée l'hypothèse de réactions secondaires évoquée précédemment.

3.5.2 Désinfection chimique

Connaissances en traitement des eaux douces pour la production d'EDCH

La désinfection par voie chimique fait appel à des réactifs biocides : chlore, dioxyde de chlore ou ozone.

- **Chlore**

Dans l'eau, le chlore se dissocie en acide hypochloreux et ions hypochlorite. Dans l'eau de mer, il conduit à l'oxydation des ions bromure en acide hypobromeux et ions hypobromite et à l'oxydation des iodures en iode, en acide hypoiodeux et ions hypoiodites. Ces espèces sont rémanentes dans

l'eau et toxiques pour les coquillages. Le chlore ne peut donc pas être utilisé, sans s'assurer que les difficultés liées à l'élimination de ces espèces peuvent être maîtrisées. De plus, la très forte concentration en ions chlorure déplace l'équilibre : $\text{Cl}_2 + \text{H}_2\text{O} = \text{HOCl} + \text{Cl}^- + \text{H}^+$.

- **Dioxyde de chlore**

Le ClO_2 ne réagit pas avec les ions bromure mais oxyde les ions iodure. Le dioxyde de chlore est très stable dans l'eau et possède un grand pouvoir rémanent. Comme pour le chlore, un traitement complémentaire de réduction difficile à maîtriser devrait être mis en place.

- **Ozone**

L'ozone est un gaz très oxydant qui agit sur les bromures et les iodures présents dans l'eau de mer. Certaines espèces formées (bromates, iodates) possèdent un grand effet rémanent et ne peuvent pas être retirées de l'eau, même par un traitement de réduction.

Adaptation au traitement de l'eau de mer

Les traitements de désinfection chimique ne peuvent pas être recommandés pour l'eau de mer en l'absence d'évaluation des risques sanitaires pour l'homme liés aux sous-produits formés qui ne peuvent plus être retirés de l'eau. De plus, ils nécessitent un savoir-faire important, notamment afin d'ajuster les doses de réducteurs à ajouter.

3.6 Conclusion sur les dispositifs de traitement

Aucune solution simple de traitement n'a été identifiée par le GT. Le traitement de l'eau de mer potentiellement contaminée par du phytoplancton et/ou des phycotoxines et/ou des bactéries, des virus et autres micro-organismes est une opération complexe qui comprend plusieurs étapes et nécessite un savoir-faire que ne possèdent actuellement pas les professionnels intéressés.

En vue de garantir une qualité d'eau de mer non contaminée pour l'alimentation des bassins de coquillages, c'est-à-dire permettant une maîtrise des dangers identifiés dans le présent rapport, le tableau XI présente différentes filières théoriquement appropriées en fonction de la contamination à maîtriser.

La figure 5 présente une filière appropriée, pour maîtriser les dangers microbiologiques et phycotoxiniques en amont des bassins conchylicoles qui comporte trois étapes :

- Pour éliminer les particules en suspension (micro-algues, agrégats, colloïdes, etc.) : coagulation + floculation + flottation + filtration rapide sur sable ou matériau bicouche ou microfiltration ou ultrafiltration. Il sera néanmoins impératif de s'assurer que les très fortes concentrations en ions chlorure n'interfèrent pas sur la formation des hydroxydes de fer ou d'aluminium lors de la coagulation ;
- le cas échéant, pour éliminer les toxines libres par adsorption : filtration sur charbon actif en grains ou mise en œuvre d'un réacteur à charbon actif en poudre en amont de la filtration sur sable ou sur matériau bicouche ;
- en cas de contamination microbiologique : désinfection physique avec traitement par rayonnements UV permettant de délivrer une dose de 400 J/m^2 .

Le fonctionnement de chaque étape doit être suivi attentivement pour optimiser les paramètres de traitement dont les principaux ont été décrits ci-dessus. La turbidité après chaque étape de traitement est un paramètre majeur qui devra être suivi en continu.

Mode de fonctionnement continu ou intermittent

Le traitement de clarification physico-chimique (coagulation/floculation/flottation/filtration) est un traitement difficile à mettre en œuvre et à stabiliser. Il est donc recommandé de faire fonctionner cette étape en continu.

Le traitement de clarification physique nécessite une maîtrise importante afin d'éviter un colmatage complet des membranes. Les cycles de lavage devront être adaptés.

Les réacteurs à CAP sont également une étape de traitement difficile à stabiliser. Un fonctionnement en continu est recommandé pour les filtres à CAG. Ils peuvent être arrêtés en absence de contamination par des phycotoxines mais il est alors indispensable de les vider complètement de leur eau durant l'arrêt et de les laver avant leur remise en service.

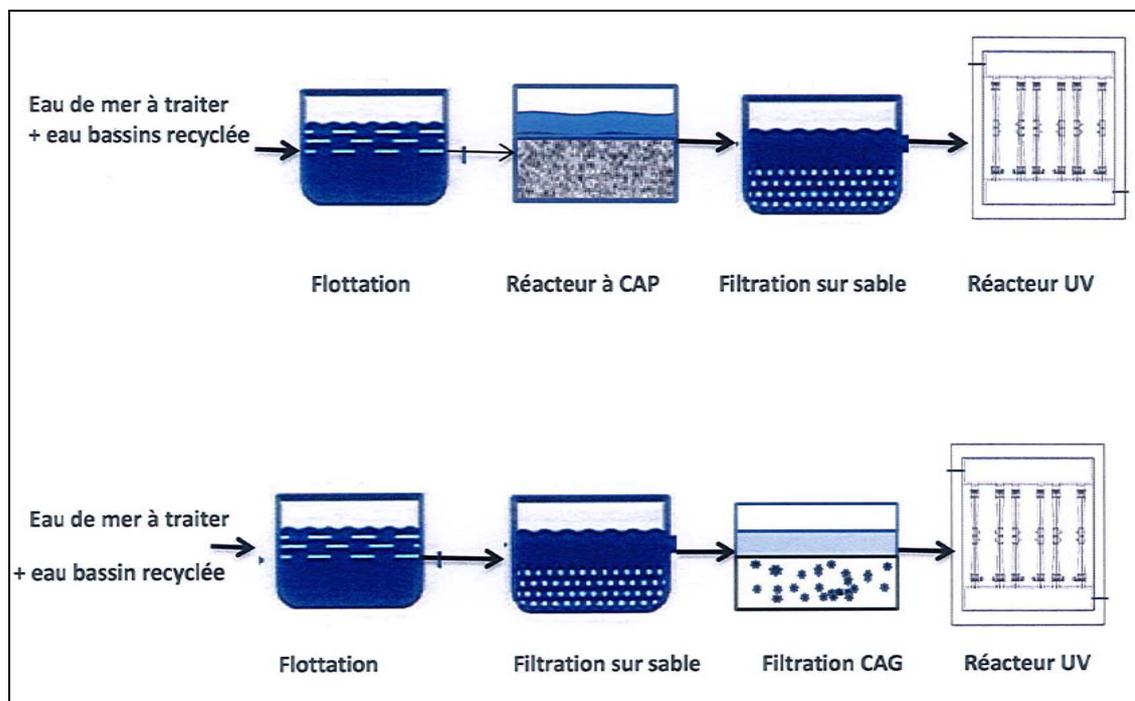
De la même façon, les réacteurs à rayonnements UV peuvent également être arrêtés si l'eau de mer alimentant les bassins n'est pas contaminée microbiologiquement. Dans ce cas, il faut souligner que l'efficacité désinfectante des réacteurs UV ne sera atteinte que plusieurs minutes après chaque remise en service. Il est donc très important lors de leur utilisation de privilégier un fonctionnement en continu.

De plus, l'eau des bassins en recirculation devra impérativement passer à nouveau par la totalité de la filière de traitement afin d'éviter tout risque de contamination des bassins.

Effluents générés

La filière de traitement proposée va générer un certain nombre d'effluents :

- boues de flottation et éventuellement du réacteur à CAP qui devront subir un traitement d'épaississement et devront être évacuées dans une filière de valorisation ou en décharge ;
- eaux de lavage des filtres à sable ou des membranes d'ultra ou de microfiltration qui devront être traitées également par épaississement ;
- eaux de lavage des filtres à charbon actif en grains qui pourront être éventuellement recyclées en tête de la filière complète de traitement.



(CAP charbon actif en poudre, CAG charbon actif en grains, UV rayonnements ultraviolets)

Figure 5 : Schéma des filières de traitement possibles pour produire l'eau de mer de qualité maîtrisée

Tableau XI : Scenarii et abattements attendus

Qualité de l'eau de mer utilisée pour alimenter les bassins à terre	Dangers concernés	Filière de traitement envisageable	Objectif mesurable à atteindre	Abattements admis pour l'EDCH
Eau de mer reconstituée à partir d'une eau destinée à la consommation humaine		Aucune		
Zone conchylicole classée A ouverte		Aucune		
Zone conchylicole classée A fermée pour contamination phycotoxinique	Phytoplancton Phycotoxines	<u>Première étape</u> : clarification (coagulation, floculation, flottation, filtration) ou microfiltration ou ultrafiltration	0,5 NFU maximum dans l'eau filtrée	80 à 100 % élimination matières en suspensions dont les cellules planctoniques
		<u>Deuxième étape</u> : affinage avec du charbon actif (poudre ou grain)		95 à 98 % élimination si traitement avec 20 mg/L CAP (poudre) et/ou si âge du CAG (grains) < 1 an
Zone conchylicole classée B ou C ET Zone conchylicole classée A, B ou C fermée pour contamination microbiologique	Microbiologiques	<u>Première étape</u> : clarification (coagulation, floculation, flottation, filtration) ou microfiltration ou ultrafiltration	0,5 NFU maximum dans l'eau filtrée	2 à 3 log en bactéries si turbidité < 0,2 NFU 2 log en virus 3 à 4 log pour les protistes
		<u>Deuxième étape</u> : désinfection aux rayonnements ultraviolets*	Dose de traitement de 400 J/m ²	5 log en bactéries 4 log en protistes 4 à 5 log en virus (à l'exception d'adénovirus)
Zone conchylicole classée B ou C fermée pour contamination phycotoxinique ET Zone non classée**	Microbiologiques Phytoplancton Phycotoxines	<u>Première étape</u> : clarification (coagulation, floculation, flottation, filtration) ou microfiltration ou ultrafiltration	0,5 NFU dans l'eau traitée	2 à 3 log en bactéries si turbidité très basse < 0,2 NFU 2 log en virus 3 à 4 log pour les protistes 80 à 100% élimination cellules
		<u>Deuxième étape</u> : affinage avec du charbon actif (poudre ou grain)		95 à 98 % élimination si traitement avec 20 mg/L CAP et si âge du CAG < 1 an
		<u>Troisième étape</u> : désinfection aux rayonnements ultraviolets*	Dose de traitement de 400 J/m ²	5 log en bactéries 4 log en protistes 4 à 5 log en virus (sauf adénovirus)
* si l'eau à traiter présente les caractéristiques physico-chimiques compatibles avec le traitement (turbidité, transmittance, concentrations en fer et manganèse)				
** l'exploitant doit s'assurer que les efficacités du traitement permettront la maîtrise des risques en réalisant une caractérisation de son eau d'alimentation				

Tableau XII : Abattement maximum théorique de la filière sur les micro-organismes cibles

Agents microbiologiques confirmés dans le cas de TIAC coquillères en France	Concentration maximum dans les eaux usées brutes (d'après Anses, 2012b)	Clarification* (log d'abattement)	Désinfection par rayonnements ultraviolets (log d'abattement) (Anses, 2009)	Filière proposée (log d'abattement théorique)
Norovirus	10 ⁷ UG/L	2	5,9	7,9
VHA	10 ⁵ UG/L	2	5,4	7,4
Salmonelles	10 ³ UFC/L	3	5,6	8,6
<i>E. coli</i>	10 ⁹ UFC/L	3	6	9
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> **		3	4	7
<i>Vibrio vulnificus</i> **		3	4	7
<i>Vibrio cholerae</i>	10 ⁵ UFC/L	3	5,8	8,8

* L'étape de clarification permet de réduire la charge microbienne de l'eau mais n'est pas mise en œuvre dans cet objectif

** Ces micro-organismes se développent naturellement dans l'eau de mer aussi leurs concentrations dans les eaux usées brutes ne représentent pas forcément les plus importantes concentrations rencontrées dans le milieu naturel

Pour les principaux agents microbiologiques mis en cause dans des TIACs coquillères en France métropolitaine, le GT a comparé les concentrations maximales détectées dans les eaux usées brutes qui sont la principale source de contamination en cas de fonctionnement dégradé des STEU, et les taux d'abattement maximum que la filière permet d'atteindre. Ainsi le gestionnaire dispose d'une information sur l'efficacité potentielle (sous réserve de la vérification de l'efficacité avec l'eau de mer en conditions de terrain) et pourra décider des dispositifs à employer pour maîtriser la qualité microbiologique de l'eau produite à partir d'une eau provenant d'une zone fermée pour contamination microbiologique.

Pour les dangers phytoplanctoniques, une telle approche n'est pas possible car une seule étape est destinée à les abattre. C'est donc l'efficacité de la clarification par coagulation + floculation flottation + filtration ou microfiltration qui est prise en compte.

Pour les dangers phycotoxiques, l'étape de clarification permet de retenir toutes les toxines intracellulaires des algues. Pour les toxines dissoutes dans l'eau, c'est l'efficacité de l'adsorption sur charbon actif qui pourra être prise en compte.

Une bonne connaissance de la qualité de l'eau brute d'alimentation de la filière et une maîtrise de la vulnérabilité du site de pompage utilisé pour alimenter la filière de traitement est un préalable pour pouvoir vérifier que les moyens mis en œuvre sont adaptés. Ces bonnes pratiques sont rappelées dans différents ouvrages internationaux (FAO, 2010 ; *Codex alimentarius*, 2007) et documents de l'Agence (Afssa, 2007b ; Anses 2010a). Certains points sont repris en annexe 7.

Compte tenu de la complexité de la problématique, face à laquelle les professionnels intéressés risquent d'être démunis, il apparaît prudent que des formalités analogues à celles que prescrit le Code de la santé publique pour la production d'EDCH soient requises pour le traitement de l'eau de mer dans de telles circonstances. Une autorisation administrative de la filière de traitement, l'utilisation de procédés agréés et un plan de surveillance de la qualité de l'eau traitée devraient être prescrits.

4 Points importants pour le contrôle des dispositifs de traitement de l'eau de mer par les services de l'État

La mise en œuvre des traitements d'eau de mer nécessite des connaissances et des compétences spécifiques pour conduire les installations. Il conviendrait que toutes les informations sur les paramètres de traitement et les opérations réalisées soient consignées et tenues à la disposition des services de contrôle. Les enregistrements devront être conservés pour assurer la traçabilité de ces opérations.

Ces éléments s'inscrivent dans le cadre plus général du plan de maîtrise sanitaire.

De la même façon que pour le traitement de l'EDCH, le GT propose aussi que l'exploitant tienne à jour un registre analogue au carnet sanitaire. Sur ce carnet devront être consignés tous les jours le débit traité, le temps de fonctionnement de l'installation, les taux de traitement appliqués en coagulant et floculant, les dysfonctionnements et autres anomalies observés, les vitesses de filtration, les lavages de filtres et les conditions de lavage appliquées, les doses de rayonnements UV appliquées, le mode de fonctionnement du réacteur UV.

Pour chaque étape de traitement, dans le cadre de la surveillance, les enregistrements des analyseurs en continu devraient être archivés et exploités afin d'amener la preuve que le traitement a été correctement appliqué. En l'absence d'analyseur en continu, les résultats des prélèvements et des analyses ponctuelles devraient être renseignés. Par exemple :

- Pour l'étape de coagulation + floculation + flottation + filtration ou l'étape de microfiltration, la turbidité de l'eau flottée et de l'eau filtrée devraient *a minima* être tracées et enregistrées.
- Pour le charbon actif :
 - s'il est injecté en poudre, le taux de traitement doit être connu ;
 - s'il est utilisé en grains, la vitesse de filtration/le temps de contact devraient être renseignés, la durée de fonctionnement et la turbidité de l'eau filtrée devraient être tracées.
- Pour le traitement par des rayonnements UV, la turbidité, les concentrations en fer et en manganèse et la transmittance de l'eau devraient être tracées, ainsi que le temps de fonctionnement des lampes, les changements de lampe et les nettoyages des lampes. L'Anses (2010b) présente tous les éléments à contrôler dans son rapport sur les réacteurs UV utilisés pour la désinfection des EDCH.

Tous les analyseurs en continu devraient disposer d'un plan de maintenance et de vérification des valeurs. Ces informations devraient être également tracées ainsi que le résultat des contrôles et des comparaisons effectuées par rapport à des analyses de vérification réalisées en laboratoire.

Le plan de surveillance des installations devrait également être documenté et l'ensemble des résultats des analyses de surveillance devrait être consigné et archivé.

Toutes les opérations de maintenance sur les analyseurs en continu et sur les installations de traitement devraient être décrites et enregistrées sur le carnet sanitaire (ou registre analogue).

Le guide écossais d'inspection des systèmes de purification des coquillages (Food Standards Agency Scotland, 2009) est très complet et pourra aider les services dans leurs inspections.

Les principaux éléments de traçabilité à vérifier lors du contrôle pour s'assurer du bon fonctionnement des installations seraient :

- Les doses de réactifs appliquées (coagulant, flocculant notamment) ;
- La turbidité en sortie de clarification qui doit être inférieure ou égale à 0,5 NFU ;
- La dose moyenne de rayonnements UV qui doit être de 400 J/m², l'absorption UV de l'eau avant passage dans le réacteur, le débit d'eau dans le réacteur.

Les éléments de traçabilité pour répondre aux prescriptions d'ordre réglementaire à vérifier sont :

- La recherche du paramètre *Escherichia coli* dans les coquillages ;
- L'absence de cellule algale toxigène dans l'eau de mer des bassins et les réserves alimentant les bassins ;
- En cas de zone fermée à la suite d'une contamination phycotoxinique, la recherche de toxines dans les coquillages.

5 Conclusions et perspectives

Les objectifs de la saisine sont, dans le cadre des dérogations accordées par la DGAI pour le pompage de l'eau de mer dans une zone en période de fermeture pour contamination phycotoxinique et dans le cadre de l'alimentation des bassins de conchyliculture alimentés avec de l'eau ne provenant pas d'une zone conchylicole classée A :

- de fournir une étude des dangers biologiques et chimiques qu'il conviendrait de maîtriser pour produire de l'eau d'alimentation des bassins de conchyliculture qui hébergent des coquillages sains pouvant être considérée comme « propre » au sens du règlement CE n°854/2004 ;
- de fournir des informations sur l'efficacité potentielle de divers dispositifs destinés à maîtriser ces dangers dans l'eau de mer.

L'instruction technique DGAL/SDSSA/2013-9910 du 20 décembre 2013 prévoit des obligations de moyens car il n'est pas possible de suivre en continu la qualité de l'eau des bassins sur les paramètres concernés. C'est pourquoi, les autorités sanitaires ont interrogé l'Anses sur les traitements envisageables pour maîtriser le risque en cas de contamination phycotoxinique ou microbiologique et sur les mesures de contrôle afférentes que les services de l'État concernés doivent appliquer.

Pour aider le gestionnaire du risque à prendre des décisions sur ces mesures, un groupe de travail dédié a été créé par l'Anses. L'expertise s'est appuyée sur un bilan des connaissances disponibles sur les dangers phytoplanctoniques, phycotoxiques et microbiologiques liés à la consommation de coquillages et sur les produits et procédés utilisés pour le traitement de l'eau. Toutefois, l'essentiel des connaissances disponibles étant relatives au traitement des eaux douces, il n'est pas possible d'affirmer que l'efficacité des dispositifs de traitement sera la même pour l'eau de mer. Une expérimentation sera nécessaire pour vérifier leur efficacité et leur niveau de performances dans les conditions du terrain.

En l'absence d'information sur les niveaux de dangers considérés par le gestionnaire du risque comme acceptables dans l'eau de mer propre, les experts ne peuvent se prononcer sur la conformité ou la non-conformité de l'eau qui serait produite par ces traitements.

Le groupe de travail tient à rappeler que le présent rapport ne porte ni sur les bassins submersibles, ni sur les bassins contenant des coquillages provenant d'une zone fermée ou non autorisée. Le travail se limite à décrire des modalités de production d'eau de mer de qualité sanitaire améliorée à partir d'une eau contaminée provenant de ces zones.

5.1 Consultation du CES ERCA

Lorsque le CES ERCA a été consulté, il a émis les remarques suivantes :

- L'approche envisagée dans ce rapport visant à traiter de l'eau de mer contaminée pour alimenter des bassins de coquillages à terre ne semble pas en totale cohérence avec la directive cadre stratégie pour le milieu marin (directive 2008/56/CE du Parlement européen et du Conseil du 17 juin 2008) dont l'objectif est de conduire les États membres de l'Union européenne à prendre les mesures nécessaires pour réduire les impacts des activités sur

ce milieu afin de réaliser ou de maintenir un bon état écologique du milieu marin au plus tard en 2020.

- La complexité de mise en œuvre et le coût associés aux dispositifs de traitement de l'eau de mer contaminée identifiés par le Groupe de Travail conduisent à s'interroger sur la viabilité économique de cette approche.
- Le CES ERCA s'interroge sur la nature des garanties quant à l'absence de contamination des coquillages (« coquillages sains ») mis en bassin avant la fermeture de la zone de production conchylicole.
- Concernant l'utilisation de sels d'aluminium en tant qu'agent flocculant lors de l'étape de clarification, le CES ERCA s'interroge sur les risques de contamination des coquillages en cas de résidus dans l'eau de mer traitée. De plus, cette approche générerait des boues contaminées qui nécessiteraient un circuit de traitement adapté. Se pose également la question de la prise en charge de l'eau de mer lors de la vidange des bassins.

5.2 Consultation du CES BIORISK

Le rapport tient compte des suggestions du CES Biorisk, qui n'a pas de remarque supplémentaire à formuler.

Bien que cela sorte du champ de la présente saisine, des informations complémentaires pourraient vraisemblablement être obtenues grâce à l'expérience accumulée sur des dispositifs existants pour la fourniture, le recyclage ou le rejet d'eau de mer traitée (viviers, centrales thermiques, etc.).

Recommandation du CES BIORISK à l'attention du gestionnaire du risque :

Selon le règlement 178/2002, le gestionnaire du risque ne donne pas aux exploitants des obligations de moyens mais des obligations de résultat. La surveillance et l'inspection des traitements décrits dans ce rapport ne pourront donc pas être faites tant que des critères d'acceptabilité de l'eau de mer propre n'auront pas été fixés pour les dangers biologiques, chimiques et physiques. Le règlement 2073/2005 donne l'exemple de tels critères pour les aliments autres que l'eau.

Le CES Biorisk recommande donc que les gestionnaires du risque des pays membres de l'Union européenne adoptent de façon harmonisée des critères d'acceptabilité de l'eau de mer propre, ainsi d'ailleurs que de l'eau douce propre.

5.3 Conclusions du GT et du CES EAUX

Les dangers microbiologiques et phycotoxiniques qui doivent être maîtrisés par les traitements mis en œuvre pour la production d'eau de mer destinée à l'alimentation des bassins de conchyliculture sont :

1. Les principaux dangers microbiologiques susceptibles d'être trouvés en mer et de s'accumuler dans les coquillages sont en particulier :
 - 1.1. des norovirus et des salmonelles responsables de TIACs associées à la consommation de coquillages ;
 - 1.2. du virus de l'hépatite A responsable d'hépatite ;
 - 1.3. des dangers de la flore marine que sont les *Vibrio parahaemolyticus* également responsables de TIACs.

2. Tous les dangers phycotoxiques figurant dans les réglementations ainsi que la famille des palytoxines sont susceptibles d'être retrouvés dans l'eau de mer.

Les phycotoxines peuvent être présentes dans l'eau de mer sous forme dissoute ou adsorbée à la surface de particules, de débris cellulaires, d'autres cellules algales ou de débris organiques. La stabilité des toxines dissoutes dans l'eau de mer a été confirmée expérimentalement pour les toxines de la famille des saxitoxines (PSP) au cours d'une période d'étude de deux semaines. Pour ce qui est de leur biodisponibilité, elle serait faible pour les toxines de la famille des saxitoxines (PSP) et la famille de l'acide domoïque (ASP). En revanche, il serait élevé pour la famille des azaspiracides (ASP). Les résultats obtenus pour la famille de l'acide okadaïque (DSP) ne permettent pas de conclure avec certitude mais une certaine biodisponibilité ne peut pas être exclue, en particulier en présence de débris cellulaires.

Dans le cas d'un bassin destiné à recevoir des coquillages filtreurs alimenté en eau de mer contaminée par du phytoplancton toxique et/ou des phycotoxines dissoutes ou adsorbées sur des particules, il existe une possibilité réelle de contamination des coquillages, que ce soit par des microalgues toxiques entières, par des débris issus de la lyse des cellules ou par la libération des toxines dissoutes dans l'eau de mer.

En vue de garantir une qualité d'eau de mer adaptée pour l'alimentation des bassins de conchyliculture, c'est-à-dire permettant de maîtriser les dangers identifiés dans le présent rapport, le groupe de travail constate qu'il n'existe pas de solution de traitement simple et rustique de l'eau de mer. En fonction des contaminations, les filières paraissant les plus appropriées comprennent plusieurs étages de traitement et leur mise en œuvre exige des compétences spécifiques. À partir des connaissances sur les traitements utilisés en production d'EDCH, les procédés de traitement à mettre en œuvre dans ces filières seraient les suivants :

- Pour éliminer la quasi-totalité des particules en suspension (microalgues, agrégats, colloïdes, *etc.*) : la filière comportera les étapes de coagulation + floculation + flottation + filtration rapide sur sable ou microfiltration ou ultrafiltration. Il sera impératif de s'assurer préalablement que les très fortes concentrations en ions chlorure n'interfèrent pas sur la formation des hydroxydes de fer ou d'aluminium lors de la coagulation ;
- Pour retenir les toxines libres, le cas échéant : une étape d'adsorption soit par filtration sur charbon actif en grains, soit par mise en œuvre d'un réacteur à charbon actif en poudre en amont de la filtration sur sable est nécessaire ;
- Pour atteindre un abattement de 4 log en bactéries et en protistes et de 2 à 3 log en virus une désinfection physique aux rayonnements UV permettant de délivrer une dose de 400 J/m².

Si le rapport indique l'efficacité théorique des traitements, il n'étudie pas leur conséquence en termes de risque pour la santé publique. Les informations manquent tant sur les concentrations des dangers dans les eaux à traiter que sur les concentrations à atteindre dans les eaux traitées afin d'obtenir le risque sanitaire que l'autorité compétente souhaite ne pas dépasser.

Une approche par appréciation quantitative du risque, telle que décrite dans la bibliographie (Afssa, 2002 ; OMS, 2001 ; Haas *et al.*, 1999), devrait être menée au minimum pour les dangers à maîtriser et pour la consommation des coquillages, afin de préciser le niveau de traitement à mettre en place sur l'eau de mer alimentant les bassins dans différents contextes de contamination initiale de l'eau de mer et suivant le niveau de risque acceptable dans les coquillages défini par les autorités compétentes.

Études préalables sur site

Sur chaque site où il est envisagé de traiter de l'eau de mer pour alimenter des bassins conchylicoles à partir d'une eau de mer contaminée, des essais en installation pilote/semi-industrielle devraient être réalisés pour établir les doses de traitement adaptées et valider la

pertinence du projet de filière envisagé pour traiter l'eau de mer concernée par rapport à une autre solution d'alimentation en eau de mer non contaminée (eau de mer provenant d'une zone A non fermée, eau de mer reconstituée, etc.).

Maîtrise des installations et de la qualité de l'eau produite

La maîtrise de la qualité devra reposer sur un plan de contrôle pertinent au regard du procédé mis en œuvre qui s'appuiera sur un démarche qualité (type HACCP) avec une traçabilité des analyses. Les points importants à contrôler sont les résultats des enregistrements qui attestent que l'eau a été correctement traitée. En effet, lors des essais préalables, les traitements auront été validés pour leur efficacité dans certaines conditions d'utilisation et d'entretien et une qualité d'eau pouvant évoluer par la suite. Les utilisateurs devront donc prouver qu'ils respectent ces conditions. Pour ce faire, la tenue d'un carnet sanitaire (ou registre équivalent) est un outil indispensable pour consigner et tracer les paramètres de fonctionnement, les interventions de maintenance sur le matériel, les anomalies et les mesures correctives apportées. Les installations doivent idéalement être équipées d'analyseurs en continu calibrés et entretenus dont les résultats doivent être conservés.

De plus, un plan d'assurance qualité doit être mis en place pour le suivi du fonctionnement de la filière, en vue de garantir l'absence de contaminants dans l'eau dans laquelle les coquillages doivent être stockés pendant un épisode de contamination phycotoxinique ou microbiologique.

La mise en œuvre d'une filière de traitement nécessite une maîtrise des technologies de traitement de l'eau qui n'entre pas dans le domaine de compétences habituelles des éleveurs de coquillages. Il est aussi probable que les aspects économiques liés à l'investissement et à la gestion seront un autre obstacle pour la plupart des éleveurs (Éléments de coûts présentés en annexe 4). Face à ces difficultés, une mutualisation des moyens peut être une solution envisageable pour produire de l'eau de mer de qualité maîtrisée. D'autres modalités d'alimentation en eau de mer non contaminée des établissements conchylicoles sont également présentées en introduction. Telles sont les raisons pour lesquelles le groupe de travail estime que, dans le cas où la seule solution serait le traitement d'une eau de mer affectée par des contaminations microbiologiques et phycotoxiques sporadiques, la mise en œuvre d'une unité de traitement devra être exploitée par du personnel compétent et formé, le cas échéant dans le cadre d'une mutualisation.

Recensement et validation des procédés

Par ailleurs, le groupe de travail propose de mettre en place un système d'évaluation et de validation des procédés de traitement et de leurs conditions de mise en œuvre en s'appuyant sur l'exemple du système d'autorisation pour les produits et procédés de traitement utilisés pour la production d'eau destinée à la consommation humaine. Sans imposer un procédé particulier, il apportera à la profession une information qui manque actuellement sur la pertinence des procédés qui leur sont proposés.

Sur ce dernier point, un état des lieux des pratiques de traitement de l'eau de mer alimentant les bassins à terre au niveau des pays producteurs de coquillages de la communauté européenne pourrait utilement être diligenté. À partir de ces données un travail d'évaluation pourrait être confié à une agence européenne en vue de définir une position communautaire.

Autres points importants que le GT tient à rappeler

- Le passage de coquillages contaminés en bassins à la suite de contaminations phycotoxiques en zones A, B et même C est interdit. **La présente saisine concerne uniquement la production d'une eau de mer de qualité maîtrisée sur les plans microbiologique et phycotoxinique pour conserver des coquillages prélevés en zones A, B ou C avant contamination.**
- Il convient de vérifier par des essais préalables, que le traitement envisagé est adapté à la qualité de l'eau de la ressource.

- La bonne mise en œuvre d'un traitement efficace ne permet pas à elle seule la maîtrise des risques. Une surveillance du fonctionnement par l'exploitant et un contrôle par les services de l'État sont indispensables.
- Les bonnes pratiques de pompage et la bonne connaissance de la qualité de l'eau d'alimentation des bassins et de ses variations permettent une meilleure maîtrise des risques.
- L'installation d'une unité de traitement de l'eau de mer ne doit pas conduire à une suppression ou à un allègement des mesures nécessaires pour reconquérir ou préserver la qualité de la ressource.
- Le passage en bassin de purification est destiné à abaisser le taux de bactéries indicatrices dans les coquillages. Il ne constitue pas un moyen de maîtrise pour les coquillages contaminés par des virus ou des phycotoxines.
- En aucun cas, la surveillance en continu des paramètres de fonctionnement des installations de traitement de l'eau de mer **ne peut permettre de faire l'économie des contrôles effectués directement sur les coquillages**. Ces deux niveaux d'action sont indispensables pour s'assurer de la maîtrise des risques sur l'ensemble de la filière.

5.4 Incertitudes

Il convient d'abord de rappeler que :

- les conclusions du présent rapport ont été établies en l'état des connaissances en mars 2014 et devront être adaptées en fonction de leur évolution. Par exemple, de nouveaux dangers microbiologiques et/ou phycotoxiniques peuvent apparaître en France métropolitaine en liaison avec le réchauffement climatique ou des technologies innovantes et adaptées peuvent se développer dans l'avenir.
- **La liste des dangers retenus a été réalisée dans le cadre de la production conchyicole métropolitaine et doit faire l'objet d'ajustements s'il est souhaité de l'appliquer à d'autres régions, notamment aux productions conchyicoles des départements et régions d'outre mer.**
- Les dangers ont été examinés individuellement et l'analyse ne peut intégrer les risques liés aux expositions cumulées.

D'autres incertitudes portent sur les aspects suivants :

- Les analyses

Concernant les dangers, notamment pour les phycotoxines, les méthodes d'analyses ne permettent pas une analyse directe dans l'eau de mer. La surveillance de la qualité de l'eau de mer, particulièrement dans le cas des zones conchyicoles, est réalisée *via* des analyses de coquillages, moules ou huîtres qui filtrent de grandes quantités d'eau et accumulent ainsi les micro-organismes. Les mollusques sont donc utilisés comme des préleveurs accumulateurs en temps continu. Un prélèvement ponctuel d'échantillons d'eau en un lieu et une profondeur ne permet pas d'évaluer les évolutions de la qualité de l'eau.

- Les dangers microbiologiques

Les données épidémiologiques sur lesquelles s'appuie le rapport pour retenir les principales espèces à cibler vis-à-vis des traitements sont issues d'un système de surveillance qui ne permet d'enregistrer que les épidémies déclarées. De plus la consommation de coquillages n'est pas forcément identifiée dans les causes et l'agent responsable de l'épidémie n'est pas toujours

confirmé comme le montre le tableau III. Enfin, de nombreux cas de contaminations ne sont pas déclarés par les consommateurs.

- Les dangers phycotoxiques

La connaissance de l'ensemble des analogues des différentes familles de toxines n'est pas exhaustive, soit parce que les méthodes d'analyse n'existent pas, soit parce que de nouvelles molécules émergent en lien avec l'impact des changements climatiques sur le milieu marin (modification de température, salinité par exemple).

De plus, les effets sur la santé des phycotoxines identifiées à ce jour ne sont pas toujours bien connus et, d'une façon générale, les doses réponses sont difficiles à définir.

- Les autres dangers

Le rapport n'aborde que les dangers microbiologiques, phytoplanctoniques et phycotoxiques, alors que de nombreux autres éléments notamment chimiques (métaux, contaminants organiques *etc.*), peuvent se trouver dans l'eau de mer, contaminer les coquillages et présenter un risque sanitaire lors de leur consommation. Le risque chronique associé à la contamination chimique des coquillages n'est pas traité dans ce rapport. Cependant, il faut souligner que la filière proposée comporte des étapes de traitement qui ne sont pas spécifiques à un seul danger et que la succession des procédés dans la filière permet de faire face à une liste de dangers plus large que ceux qui justifient la saisine.

- Les effets néfastes sur la santé

Les risques liés à certains effets sur la santé tels que les effets à long terme des phycotoxines, ne sont pas encore assez scientifiquement établis et il n'a pas été possible d'en tenir compte dans le cadre de la présente expertise.

- Les traitements

Peu de données bibliographiques sont disponibles sur les traitements permettant de décontaminer l'eau de mer pour le type d'application envisagé et à moindre coût, ce qui a orienté les réflexions vers une adaptation théorique des connaissances sur l'eau destinée à la consommation humaine. De ce fait, l'impact éventuel des procédés de traitement sur la qualité de l'eau de mer nécessaire à la survie des coquillages présents dans le bassin n'a pas pu être étudié.

Le rapport n'aborde pas non plus la problématique liée à la composition des matériaux mis en œuvre dans les traitements qui doit être compatible avec une utilisation en contact avec de l'eau de mer. Des essais devront également être menés sur ce point.

5.5 Recommandations d'études et de recherche

La biodisponibilité des toxines dissoutes dans l'eau de mer doit faire l'objet d'études complémentaires afin de valider la nécessité de les traiter et, dans ce cas, il conviendra d'étudier l'efficacité des procédés proposés dans le présent rapport.

Des essais sont aussi nécessaires pour vérifier les hypothèses sur lesquelles s'est appuyé le groupe de travail :

- Les traitements doivent faire l'objet d'essais de taille semi -industrielle avec de l'eau de mer contaminée pour valider la transposition des efficacités retenues qui valent pour des unités de production d'eau destinée à la consommation humaine.
- Une étude sur la compatibilité des matériaux des dispositifs de traitement avec l'eau de mer devra également être réalisée afin de définir des recommandations et des procédures d'entretien appropriées.

Concernant les risques de formation de sous-produits toxiques après traitement notamment après la désinfection, le groupe de travail recommande de réaliser des essais, notamment pour évaluer le potentiel de formation de bromates dans l'eau de mer lorsqu'elle est traitée par des rayonnements ultraviolets dans les conditions requises pour maîtriser une contamination microbiologique.

**Date de validation du rapport d'expertise collective par le groupe de travail et le CES Eaux :
2 septembre 2014**

6 Bibliographie

6.1 Publications

Afssa (2000). Avis relatif à la demande d'évaluation des risques sanitaires liés à l'ingestion de coquillages contaminés par *Cryptosporidium*. Ref 2000-SA-0223
www.anses.fr/sites/default/files/documents/MIC2000sa0223.pdf

Afssa (2002). Rapport sur les infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau : évaluation scientifique des risques associés à *Cryptosporidium* sp.. Ref 2000-SA-0023.
www.anses.fr/fr/documents/EAUX-Ra-Crypto.pdf

Afssa, Afsset (2006). Évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, à la baignade et autres activités récréatives. Ref 2001-SA-0035.
www.anses.fr/sites/default/files/documents/EAUX-Ra-Cyanobacteries.pdf

Afssa (2007a). Bilan des connaissances relatives aux virus transmissibles à l'homme par voie orale. Ref 2002-SA-0118.
www.anses.fr/sites/default/files/documents/MIC-Ra-VirusOral.pdf

Afssa (2007b). Avis relatif à la mise en place de règles hygiéniques d'utilisation de l'eau de mer propre pour la manipulation des produits de la pêche. Ref 2006-SA-0314.
www.anses.fr/sites/default/files/documents/RCCP2006sa0314.pdf

Afssa (2008). Évaluation du dispositif de surveillance microbiologique des zones de production conchylocoles et du risque lié à la consommation des coquillages, notamment dans la situation du bassin d'arcachon. Ref 2006-SA-0254.
www.anses.fr/sites/default/files/documents/MIC2006sa0254bRa.pdf

Afssa (2009). Lignes directrices pour l'évaluation de l'innocuité des modules de filtration et de l'efficacité des procédés membranaires. Ref 2005-SA-0214.
www.anses.fr/sites/default/files/documents/EAUX-Ra-Membranes.pdf

Anses (juin 2006 – janvier 2014). Bibliothèque des fiches de description des dangers biologiques transmissibles par les aliments.
www.anses.fr/fr/content/fiches-de-dangers-biologiques.

Anses (2010a). Contamination de coquillages marins par le virus de l'hépatite A. Ref 2009-SA-0044.
www.anses.fr/sites/default/files/documents/MIC2009sa0044-2.pdf

Anses (2010b). Évaluation de l'innocuité des réacteurs équipés de lampes à rayonnements ultraviolets et de l'efficacité de ces procédés pour la désinfection des eaux destinées à la consommation humaine. Ref 2009-SA-0002.
www.anses.fr/sites/default/files/documents/EAUX2009sa0002Ra.pdf

Anses (2012a). Évaluation du risque lié à *Vibrio parahaemolyticus* lors de la consommation de coquillages vivants. Ref 2010-SA-0301.
www.anses.fr/fr/documents/BIORISK2010sa0301Ra.pdf

Anses (2012b). Réutilisation des eaux usées traitées pour l'irrigation des cultures, l'arrosage des espaces verts par aspersion et le lavage des voiries. Ref 2009-SA-0329

www.anses.fr/sites/default/files/files/EAUX2009sa0329Ra.pdf

Anses (2013a). évaluation des risques sanitaires liés aux piscines – Partie II : bains à remous. Ref 2007-SA-0409

www.anses.fr/sites/default/files/documents/EAUX2007sa0409Ra-2_0.pdf

Anses (2013b). Évaluation du risque lié à la présence d'*E. coli* dans les coquillages. Ref 2012-SA-0197.

www.anses.fr/sites/default/files/documents/BIORISK2012sa0197.pdf

ARVAM (2012). Analyse de risques toxiques liés au développement de cyanobactéries benthiques marines en zone tropicale, 3p.

<http://www.arvam.com/IMG/pdf/ARISTOCYA.pdf>

Aksoy, U., Marangi, M., Papini, R., Ozkoc, S., Bayram Delibas, S., Giangaspero, A. (2014). Detection of *toxoplasma gondii* and *cyclospora cayetanensis* in *mytilus galloprovincialis* from izmir province coast (turkey) by real time PCR/High-resolution melting analysis (HRM). *Food Microbiology*, 44, 128-135.

Aubert, G., Carricajo, A., Vermesch, R., Paul, G., Fournier, JM. (2001). Isolement de vibrions dans les eaux côtières françaises et infection à *V. cholerae* non-O1/non-O139. *La Presse Médicale* 30, 631-633.

AWWARF [American water works research fundation] (2004a). Coagulation of algae-laden waters. Algae detection and removal strategies for drinking water treatment plants, 165-332.

AWWARF (2004b). Comparison of conventional gravity sedimentation, microsand-enhanced flocculation and dissolved air flotation. Algae detection and removal strategies for drinking water treatment plants, 333-386.

Beck, S. E., Rodriguez, R. A., Linden, K. G., Hargy, T. M., Larason, T. C., Wright, H. B. (2014). Wavelength dependent UV inactivation and DNA damage of adenovirus as measured by cell culture infectivity and long range quantitative PCR. *Environmental Science and Technology*, 48(1), 591-598.

Bellou, M., Kokkinos, P., Vantarakis, A. (2013). Shellfish-borne viral outbreaks: A systematic review. *Food and Environmental Virology*, 5(1), 13-23.

Bonnélye, V., Guey, L., Del Castillo, J. (2008). UF/MF as RO pre-treatment: the real benefit, *Desalination*, 222(1-3), 59-65.

Bréhant, A., Bonnélye, V., Perez, M. (2002). Comparison of MF/UF pretreatment with conventional filtration prior to RO membranes for surface seawater desalination. *Desalination*, 144 (1-3), 353-360.

Cantet, F., Hervio-Heath, D., Caro, A., Le Mennec, C., Monteil, C., Quéméré, C., Monfort, P. (2013). Quantification of *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* and *Vibrio cholerae* in french mediterranean coastal lagoons. *Research in Microbiology*, 164(8), 867-874.

Caron, D.A., Garneau, M.E., Seubert, E., Howard, M.D.A., Darjany, Schnetzer, A., Cetinić, I., G. Filteau, G., Lauri, P., Jones, B., Trussell S. (2010) Harmful algae and their potential impacts on Desalination operations off southern California. *Water Research*, 44 (2), 385-416.

Castaing, J.-B., Massé, A., Pontié, M., Séchet, V., Haure, J., Jaouen, P. (2010) Investigating submerged ultrafiltration (UF) and microfiltration (MF) membranes for seawater pre-treatment dedicated to total removal of undesirable micro-algae. *Desalination*, 253 (1-3), 71-77.

Castaing, J.-B. (2011). Procédés de traitement de l'eau de mer en conchyliculture pour la sauvegarde et le maintien de la qualité des mollusques bivalves. Thèse de doctorat, Université de Nantes. http://www.info.univ-angers.fr/~gh/Tools/gap/these_castaing.pdf

Chow, C.W.K, Drikas, M., House, J., Burch, M.D., Velzeboer R.M.A. (1999). The impact of conventional water treatment processes on cells of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*, *Water Research*, 33 (15), 3253-3262.

Codex alimentarius (2007). Code d'usage pour les poissons et les produits de la pêche (CAC/RCP 52-2003) révision de 2007.

Crossan, C., Baker, P. J., Craft, J., Takeuchi, Y., Dalton, H. R., Scobie, L. (2012). Hepatitis E virus genotype 3 in shellfish, United Kingdom. *Emerging Infectious Diseases*, 18(12), 2085-2087.

De Abreu Corrêa, A., Souza, D. S. M., Moresco, V., Kleemann, C. R., Garcia, L. A. T., Barardi, C. R. M. (2012). Stability of human enteric viruses in seawater samples from mollusc depuration tanks coupled with ultraviolet irradiation. *Journal of Applied Microbiology*, 113 (6), 1554-1563.

Degrémont (2005). *Mémento Technique de l'Eau* (Tome 2). Degrémont Suez. p 878.

Di Profio, G., Ji, X., Curcio, E., Drioli, E. (2011). Submerged hollow fiber ultrafiltration as seawater pretreatment in the logic of integrated membrane desalination systems. *Desalination*, 269 (1-3) 128-135.

Dixon, M.B., Falconet, C., Ho, L., Chow, C.W.K, O'Neill, B.K., Newcombe, G. (2010). Nanofiltration for the removal of algal metabolites and the effects of fouling. *Water Science and Technology* 61, 1189-1199.

Doré, B., Keaveney, S., Flannery, J., Rajko-Nenow, P. (2010). Management of health risks associated with oysters harvested from a norovirus contaminated area, Ireland, February-March 2010. *Eurosurveillance*, 15 (19).

Doyle, A., Barataud, D., Gallay, A., Thiolet, J. M., Le Guyaguer, S., Kohli, E., Vaillant, V. (2004). Norovirus foodborne outbreaks associated with the consumption of oysters from the etang de thau, france, december 2002. *Euro Surveillance : Bulletin Européen sur les Maladies Transmissibles*, 9 (3), 24-26.

Dubey, J. P. (1998). *Toxoplasma gondii* oocyst survival under defined temperatures. *Journal of Parasitology*, 84 (4), 862-865.

Duizer, E., Bijkerk, P., Rockx, B., De Groot, A., Twisk, F., Koopmans, M. (2004). Inactivation of caliciviruses. *Applied and Environmental Microbiology*, 70 (8), 4538-4543.

Edzwald, J.K. (1993). Coagulation in drinking water treatment: Particles, organics and coagulants. *Water Science and Technology*, 27 (11), 21-35.

Efsa (2008a). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food chain on a request from the European Commission on marine biotoxins in shellfish – okadaic acid and analogues. *The Efsa Journal* 2008, 589, 1-62.

<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/589.pdf>

Efsa (2008b). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food chain on a request from the European Commission on marine biotoxins in shellfish – azaspiracids. The Efsa Journal 2008, 723, 1-53.

<http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/s723.pdf>

Efsa (2008c). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food chain on a request from the European Commission on marine biotoxins in shellfish – yessotoxin group. The Efsa Journal 2008, 907, 1-62.

<http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/s907.pdf>

Efsa (2009a). Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on Marine Biotoxins in Shellfish – Saxitoxin Group. The Efsa Journal 2009, 1019, 1-76.

<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/1019.pdf>

Efsa (2009b). Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on marine biotoxins in shellfish – pectenotoxin group. The Efsa Journal 2009, 1109, 1-47.

<http://www.efsa.europa.eu/de/efsajournal/doc/1109.pdf>

Efsa (2009c). Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on marine biotoxins in shellfish – domoic acid. The Efsa Journal 2009, 1181, 1-61.

<http://www.efsa.europa.eu/fr/scdocs/doc/1181.pdf>

Efsa (2009d). Efsa Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); Scientific Opinion on marine biotoxins in shellfish – Palytoxin group. The Efsa Journal 2009, 7(12):1393.

<http://www.efsa.europa.eu/fr/search/doc/1393.pdf>

Efsa (2010). Efsa Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); Scientific Opinion on marine biotoxins in shellfish – Cyclic imines (spiroptides, gymnodimines, pinnatoxins and pteriatoxins). The Efsa Journal 2010, 8(6):1628.

<http://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/doc/1628.pdf>

Efsa (2012a). Efsa Panel on biological hazards (BIOHAZ); Scientific opinion on Norovirus (NoV) in oysters: methods, limits and control options. The Efsa Journal 2012, 10(1):2500.

<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2500.pdf>

Efsa (2012b). Scientific opinion of panel on biological hazards and panel on contaminants in food chain on the minimum hygiene criteria to be applied to clean seawater and on the public health risks and hygiene criteria for bottled seawater intended for domestic use. The Efsa Journal 2012, 10(3):2613.

<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2613.pdf>

Eischeid, A. C., Meyer, J. N., Linden, K. G. (2009). UV disinfection of adenoviruses: Molecular indications of DNA damage efficiency. Applied and Environmental Microbiology, 75 (1), 23-28.

Eischeid, A. C., Linden, K. G. (2011). Molecular indications of protein damage in adenoviruses after UV disinfection. Applied and Environmental Microbiology, 77 (3), 1145-1147.

Erickson, M. C., Ortega, Y. R. (2006). Inactivation of protozoan parasites in food, water, and environmental systems. Journal of Food Protection, 69 (11), 2786-2808.

ESR - Institute of Environmental Science and Research New Zealand. (2007). FRST Report : Virus prevalence in NZ shellfish.

<http://www.esr.cri.nz/SiteCollectionDocuments/ESR/PDF/FoodSafety/FRSTShellfish-Report-Final-Aug07.pdf>

EURLMB [European Union Reference Laboratory for Marine Biotoxins] (2010). Standard operating procedure for determination of domoic acid (ASP toxins) in molluscs by UPLC-MS.

http://aesan.msssi.gob.es/CRLMB/docs/docs/metodos_analiticos_de_desarrollo/EURLMB_SOP_Domoic_acid_UPLC-MS.pdf

FAO (2010). Purification des coquillages bivalves: aspects fondamentaux et pratiques. Lee, R.; Lovatelli, A; Ababouch, L. FAO Document technique sur les pêches. N°. 511. Rome, FAO. 155p.

<http://www.fao.org/docrep/013/i0201f/i0201f.pdf>

FAO/OMS [Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization]. (2008). Microbiological hazards in fresh leafy vegetables and herbs: Meeting Report. Microbiological Risk Assessment Series N° 14. Rome. 151 p.

<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/011/i0452e/i0452e00.pdf>

Fayer, R., Graczyk, T. K., Lewis, E. J., Trout, J. M., Parley, C. A. (1998). Survival of infectious *Cryptosporidium parvum* oocysts in seawater and eastern oysters (*Crassostrea virginica*) in the Chesapeake Bay. Applied and Environmental Microbiology, 64 (3), 1070-1074.

Flannery, J., Keaveney, S., Rajko-Nenow, P., O'Flaherty, V., Doré, W. (2013a). Norovirus and FRNA bacteriophage determined by RT-qPCR and infectious F-RNA bacteriophage in wastewater and oysters. Water Research, 47 (14), 5222-5231.

Flannery, J., Rajko-Nenow, P., Keaveney, S., O'Flaherty, V., Doré, W. (2013b). Simulated sunlight inactivation of norovirus and F-RNA bacteriophage in seawater. Journal of Applied Microbiology, 115 (3), 915-922.

Food and Drug Administration – US (2012). Bad Bug Book : Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook.

http://pdf.usaid.gov/pdf_docs/PNADO152.pdf

Food Standards Agency – Scotland (2009). Guidance for inspection of shellfish purification systems for Local Food Authorities. Version 2.

<http://multimedia.food.gov.uk/multimedia/pdfs/publication/shellfishpurificationsystemsscot.pdf>

Freire-Santos, F., Gómez-Couso, H., Ortega-Iñarrea, M., Castro-Hermida, J., Oteiza-López, A., García-Martín, O., Ares-Mazás, M. (2002). Survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts recovered from experimentally contaminated oysters (*Ostrea edulis*) and clams (*Tapes decussatus*). Parasitology Research, 88 (2), 130-133.

Frémy, J.M., Lassus, P. (2001). Toxines d'algues dans l'alimentation. Edition Ifremer, 560 p.

Gentry, J., Vinjé, J., Lipp, E. K. (2009). A rapid and efficient method for quantitation of genogroups I and II norovirus from oysters and application in other complex environmental samples. Journal of Virological Methods, 156(1-2), 59-65.

Gijsbertsen-Abrahamse, A.J., Schmidt, W., Chorus, I., Heijman, S.G.J., Removal of cyanotoxins by ultrafiltration and nanofiltration, Journal of Membrane Science, 276 (1–2) 252-259.

- Gómez-Couso, H., Méndez-Hermida, F., Castro-Hermida, J. A., Ares-Mazás, E. (2005). Occurrence of *Giardia* cysts in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) destined for human consumption. *Journal of Food Protection*, 68(8), 1702-1705.
- Gómez-Couso, H., Méndez-Hermida, F., Castro-Hermida, J. A., Ares-Mazás, E. (2006a). *Cryptosporidium* contamination in harvesting areas of bivalve molluscs. *Journal of Food Protection*, 69(1), 185-190.
- Gómez-Couso, H., Méndez-Hermida, F., Ares-Mazás, E. (2006b). Levels of detection of *Cryptosporidium* oocysts in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) by IFA and PCR methods. *Veterinary Parasitology*, 141(1-2), 60-65.
- Gourmelon, M., Montet, M.P., Lozach, S., Le Menec, C., Pommepuy, M., Beutin, L., Vernozzy-Rozand, C. (2006). First isolation of Shiga toxin 1d producing *Escherichia coli* variant strains in shellfish from coastal areas in France. *Journal of Applied Microbiology*, 100, 85-97.
- Graczyk, T. K., Farley, C. A., Fayer, R., Lewis, E. J., Trout, J. M. (1998). Detection of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in the tissues of eastern oysters (*Crassostrea virginica*) carrying principal oyster infectious diseases. *Journal of Parasitology*, 84(5), 1039-1042.
- Graczyk, T. K., Marcogliese, D. J., De Lafontaine, Y., Da Silva, A. J., Mhangami-Ruwende, B., Pieniazek, N. J. (2001). *Cryptosporidium parvum* oocysts in zebra mussels (*Dreissena polymorpha*): Evidence from the St. Lawrence river. *Parasitology Research*, 87(3), 231-234.
- Graczyk, T. K., Conn, D. B., Marcogliese, D. J., Graczyk, H., De Lafontaine, Y. (2003). Accumulation of human waterborne parasites by zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) and asian freshwater clams (*Corbicula fluminea*). *Parasitology Research*, 89(2), 107-112.
- Graczyk, T. K., Girouard, A. S., Tamang, L., Nappier, S. P., Schwab, K. J. (2006). Recovery, bioaccumulation, and inactivation of human waterborne pathogens by the chesapeake bay nonnative oyster, *Crassostrea ariakensis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(5), 3390-3395.
- Greening, G.E., Lake, R., Hudson, J.A., Cressey, P., Nortje, G. (2003). Risk profile: Norwalk-like virus in mollusca (raw). Client Report FW0312 prepared for NZ Food Safety Authority, January 2003.
- Grützmacher, G., Böttcher, G., Chorus, I., Bartel, H. (2002). Removal of microcystins by slow sand filtration. *Environmental Toxicology* 17 (4), 386-394.
- Guastalli, R., Simon, F.X., Penru, Y., de Kerchove, A., Llorens, J., Baig, S. (2013). Comparison of DMF and UF pre-treatments for particulate material and dissolved organic matter removal in SWRO desalination. *Desalination* (322) 144-150.
- Guyon, R., Dorey, F., Collobert, J., Foret, J., Goubert, C., Mariau, V., Malas, J. (2000). Detection of shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 in shellfish (*Crassostrea gigas*). *Sciences Des Aliments*, 20(4-5), 457-466.
- Haas, C.N., Rose, J.B., Gerba, C.P. (1999). *Quantitative Microbial Risk Assessment*. Wiley, New York, USA.
- Henderson, R., Parsons, S.A., Jefferson, B. (2008). The impact of algal properties and pre-oxidation on solid-liquid separation of algae, *Water Research* 42 (8-9), 1827-1845.

Hendricks, D. W., Clunie, W. F., Sturbaum, G. D., Klein, D. A., Champlin, T. L., Kugrens, P., Allen, M. J. (2005). Filtration removals of microorganisms and particles. *Journal of Environmental Engineering*, 131(12), 1621-1632.

Hensilwood K., Dore W.J., Anderson, A., Lees, DN. (2003). The development of a quantitative assay for the detection of Norwalk like virus and its application to depuration. *Molluscan shellfish Safety*. 451-465.

Hess, P. (2010). Contributions to the characterization of risks posed by marine biotoxines. Mémoire de HDR. <http://archimer.ifremer.fr/doc/00015/12661/9548.pdf>

Hijnen, W. A. M., Beerendonk, E. F., Medema, G. J. (2006). Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water: A review. *Water Research*, 40(1), 3-22.

Hitzfeld, B.C., Höger, S.J., Dietrich, D.R. (2000). Cyanobacterial toxins:removal during drinking water treatment, and human risk assessment, *Environmental Health Perspective* 108 (Suppl. 1), 113 -118.

Ho, L., Meyn, T., Keegan, A., Hoefel, D., Brookes, J., Saint, C.P., Newcombe, G. (2006). Bacterial degradation of microcystin toxins within a biologically active sand filter. *Water Research*, 40 (4), 768-774.

Hutson, A. M., Atmar, R. L., Estes, M. K. (2004). Norovirus disease: Changing epidemiology and host susceptibility factors. *Trends in Microbiology*, 12(6), 279-287.

Ifremer (2005). Incidences des épisodes d'efflorescences de microalgues toxiques sur les écosystèmes et sur les pêcheries de coquillages en baie de Douarnenez, 88p. <http://archimer.ifremer.fr/doc/2005/rapport-1262.pdf>

Ifremer (2012). Pinnatoxines en lien avec l'espèce *Vulcanodinium rugosum*. Rapport 09-2012 - R.RBE/EMP/PHYC 12-05, 144 p. <http://archimer.ifremer.fr/doc/00094/20518/18190.pdf>

Ifremer (2013). Pinnatoxines-phase 2, en lien avec l'espèce *Vulcanodinium rugosum*, Etat d'avancement, décembre 2013, 15 p.

Ifremer (2006a). Guide d'information. Complexe des toxines lipophiles : diarrhéiques (DSP) et associées, 17 p. http://envlit.ifremer.fr/content/download/27373/222270/version/2/file/guide_dsp_2006.pdf

Ifremer (2006b). Guide d'information. Phycotoxines paralysantes (PSP), 6 p. http://envlit.ifremer.fr/content/download/27374/222273/version/2/file/guide_psp_2006.pdf

Ifremer (2006c). Guide d'information. Phycotoxines amnésiantes (ASP), 6 p. http://envlit.ifremer.fr/content/download/27375/222276/version/2/file/guide_asp_2006.pdf

InVS (2011). Surveillance des toxi-infections alimentaires collectives, Données de la déclaration obligatoire. <http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-declaration-obligatoire/Toxi-infections-alimentaires-collectives/Donnees-epidemiologiques>

IOC Harmful Algal Bloom Website, Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, http://hab.ioc-unesco.org/index.php?option=com_content&view=article&id=5&Itemid=16

Ives, K.J., (1959). The significance of surface charges on algae in water purification. Journal of Biochemical and Microbiological Technology and Engineering, 1(1), 37-43.

Jauffrais, T., Kilcoyne, J., Herrenknecht, C., Truquet, P., Séchet, V., Miles, C. O., Hess, P. (2013). Dissolved azaspiracids are absorbed and metabolized by blue mussels (*Mytilus edulis*). Toxicon, 65, 81-89.

Karamoko, Y., Ibenyassine, K., Aitmhah, R., Idaomar, M., Ennaji, M. (2005). Adenovirus detection in shellfish and urban sewage in Morocco (Casablanca region) by the polymerase chain reaction. Journal of Virological Methods, 126 (1-2), 135-137.

Kermarec F., Dor F., Armengaud, A., Charlet, F., Kantin, R., Sauzade, D., de Haro, L. (2008). Les risques sanitaires liés à la présence d'*Ostreopsis ovata* dans les eaux de baignade ou d'activités nautiques. Environnement, Risques & Santé 7 (5), 357-363.
<http://archimer.ifremer.fr/doc/2008/publication-6164.pdf>

Kim, S-H., Yoon, J-S. (2005). Optimization of microfiltration for seawater suffering from red-tide contamination. Desalination, 182 (1-3), 315-321.

Koopmans, M., Vennema, H., Heersma, H., Van Strien, E., Van Duynhoven, Y., Brown, D., Lopman, B. (2003). Early identification of common-source foodborne virus outbreaks in Europe. Emerging Infectious Diseases, 9 (9), 1136-1142.

Ladner, D.A., Vardon, D.R., Clark, M. (2010). Effects of shear on microfiltration and ultrafiltration fouling by marine bloom-forming algae, Journal of Membrane Science, 356 (1-2), 33-43.

Le Guyader, F. S., Neill, F. H., Dubois, E., Bon, F., Loisy, F., Kohli, E., Atmar, R. L. (2003). A semiquantitative approach to estimate norwalk-like virus contamination of oysters implicated in an outbreak. International Journal of Food Microbiology, 87 (1-2), 107-112.

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, 12 (6), 931-936.

Lee, J., Zoh, K., Ko, G. (2008). Inactivation and UV disinfection of murine norovirus with TiO₂ under various environmental conditions. Applied and Environmental Microbiology, 74 (7), 2111-2117.

Lees, D. (2000). Viruses and bivalve shellfish. International Journal of Food Microbiology, 59, 81-116.

Li, X., Guyot, K., Dei-Cas, E., Mallard, J., Ballet, J. J., Bresseur, P. (2006). *Cryptosporidium* oocysts in mussels (*Mytilus edulis*) from Normandy (France). International Journal of Food Microbiology, 108(3), 321-325.

Linden, K. G., Thurston, J., Schaefer, R., Malley Jr., J. P. (2007). Enhanced UV inactivation of adenoviruses under polychromatic UV lamps. Applied and Environmental Microbiology, 73 (23), 7571-7574.

Lindsay, D. S., Phelps, K. K., Smith, S. A., Fuck, G., Sumner, S. S., Dubey, J. P. (2001). Removal of *Toxoplasma gondii* oocysts from sea water by eastern oysters (*Crassostrea virginica*). Journal of Eukaryotic Microbiology, 48 (Suppl.) 197-198.

Lindsay, D. S., Blagburn, B. L., Dubey, J. P. (2002). Survival of nonsporulated *Toxoplasma gondii* oocysts under refrigerator conditions. Veterinary Parasitology, 103 (4), 309-313.

Lindsay, D. S., Collins, M. V., Mitchell, S. M., Cole, R. A., Flick, G. J., Wetch, C. N., Dubey, J. P. (2003). Sporulation and survival of *Toxoplasma gondii* oocysts in seawater. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 50 (Suppl.), 687-688.

Lindsay, D. S., Collins, M. V., Mitchell, S. M., Wetch, C. M., Rosypal, A. C., Flick, G. J., Dubey, J. P. (2004). Survival of *Toxoplasma gondii* oocysts in eastern oysters (*Crassostrea virginica*). *Journal of Parasitology*, 90 (5), 1054-1057.

Loisy, F., Atmar, R.L., Le Saux, J.-C., Cohen, J., Caparis, M.-P., Pommeypuy, M., Le Guyader, S.F. 2005. Use of Rotavirus virus like particles as surrogates to evaluate virus persistence in shellfish. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 6049–6053.

Maalouf, H., Zakhour, M., Pendu, J. L., Le Saux, J., 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*, 76 (16), 5621-5630.

McLeod, C., Hay, B., Grant, C., Greening, G., Day, D. (2009). Inactivation and elimination of human enteric viruses by pacific oysters. *Journal of Applied Microbiology*, 107 (6), 1809-1818.

Melo, P. C., Teodosio, J., Reis, J., Duarte, A., Costa, J. C., Fonseca, I. P. (2006). *Cryptosporidium spp.* in freshwater bivalves in Portugal. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 53 (Suppl. 1), 28-29.

Miossec, L., Le Guyader, F., Haugarreau, L., Pommeypuy, M. (2000). Importance de la pluviométrie sur la contamination virale du milieu littoral lors de phénomènes épidémiques dans la population. *Revue d'Epidémiologie et de Santé Publique*, 48 (Suppl. 2), 62-71.

Morrison, C.M., Armstrong, A.E., Evans, S., Mild, R.M., Langdon, C.J., Joens, L.A., Survival of *Salmonella* Newport in oysters (2011). *International Journal of Food Microbiology*, 148 (2), 93-98.

Mouchet, P., Bonnelye, V. (1998). Solving algae problems : french expertise and worldwide applications. *Journal of Water Services Research Technology – Aqua* 47 (3), 125-141.

Munday R., Selwood A.I., Rhodes L. (2012). Acute toxicity of pinnatoxins E, F and G to mice. *Toxicon*, 60 (6), 995-999.

Muntisov, M., Trimboli, P. (1996). Removal of algal toxins using membrane technology, *Water*, 23 (3), 3.

Nappier, S. P., Graczyk, T. K., Schwab, K. J. (2008). Bioaccumulation, retention, and depuration of enteric viruses by *Crassostrea virginica* and *Crassostrea ariakensis* oysters. *Applied and Environmental Microbiology*, 74 (22), 6825-6831.

Novaczek, I., Madhyastha, M. S., Ablett, R. F., Johnson, G., Nijjar, M. S., Sims, D. E. (1991). Uptake, disposition and depuration of domoic acid by blue mussels (*Mytilus edulis*). *Aquatic Toxicology*, 21 (1-2), 103-118.

OMS (2001). Guidelines, Standards, and Health : assessment of risk and risk management for water-related infectious disease. Edited by L. Fewtrell, J. Bartram. IWA Publishing, London, UK.
www.who.int/water_sanitation_health/dwg/iwaforeword.pdf

OMS (2009). Safe Management of Shellfish and Harvest Waters. Edited by G. Rees, K. Pond, D. Kay, J. Bartram and J. Santo Domingo. IWA Publishing, London, UK.
http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241563826_eng.pdf

OMS (2011). Guidelines for Drinking-water quality. 4th ed. WHO publication.
http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241548151_eng.pdf

Pereira, M. A., Nunes, M. M., Nuernberg, L., Schulz, D., Vieira Batista, C. R. (2006). Microbiological quality of oysters (*Crassostrea gigas*) produced and commercialized in the coastal region of Florianópolis - Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 37 (2), 159-163.

Penru, Y., Guastalli, A., Esplugas, S., Baig, S. (2012). Application of UV and UV/H₂O₂ to seawater: Disinfection and natural organic matter removal. *Journal of Photochemistry and Photobiology A : Chemistry*, 233, 40-45.

Piclet, G., Le Saux, J.C., Le Gal, D., Nézan, E., Raguénès, P. (1995). Etude de l'efficacité d'un système de filtration d'une eau colorée (*Alexandrium minutum*) dans un établissement de purification - Maintien de la salubrité des coquillages. Rapport interne Ifremer, Ifremer Concarneau.

Pieterse, A.J.H., Cloot, A. (1997) Algal cells and coagulation, flocculation and sedimentation. *Processes. Water Science and Technology*, 36 (4) 111-118.

Pina, S., Puig, M., Lucena, F., Jofre, J., Girones, R. (1998). Viral pollution in the environment and in shellfish: Human adenovirus detection by PCR as an index of human viruses. *Applied and Environmental Microbiology*, 64 (9), 3376-3382.

Pintó, R. M., Costafreda, M. I., Bosch, A. (2009). Risk assessment in shellfish-borne outbreaks of hepatitis A. *Applied and Environmental Microbiology*, 75 (23), 7350-7355.

Robertson, L. J. (2007). The potential for marine bivalve shellfish to act as transmission vehicles for outbreaks of protozoan infections in humans: a review. *International Journal of Food Microbiology* 120 (3), 201-216.

Rzezutka, A., Cook, N. (2004). Survival of human enteric viruses in the environment and food. *FEMS Microbiology Reviews*, 28 (4), 441-453.

Santé Canada (2012). Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada : document technique - Protozoaires entériques : *Giardia* et *Cryptosporidium*. Bureau de l'eau, de l'air et des changements climatiques, Direction générale de la santé environnementale et de la sécurité des consommateurs, Santé Canada, Ottawa (Ontario).
http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/alt_formats/pdf/pubs/water-eau/protozoa/protozoa-fra.pdf

Schets, F. M., van den Berg, H. H. J. L., Engels, G. B., Lodder, W. J., de Roda Husman, A. M. (2007). *Cryptosporidium* and *Giardia* in commercial and non-commercial oysters (*Crassostrea gigas*) and water from the Oosterschelde, the Netherlands. *International Journal of Food Microbiology*, 113 (2), 189-194.

Shin, G. A., Lee, J. K. (2010). Inactivation of human adenovirus by sequential disinfection with an alternative ultraviolet technology and monochloramine. *Canadian Journal of Microbiology*, 56 (7), 606-609.

Tabatabai, S.A.A., Schippers, J.C., Kennedy, M.D. (2014). Effect of coagulation on fouling potential and removal of algal organic matter in ultrafiltration pretreatment to seawater reverse osmosis. *Water Research*, 59, 283-294.

Tansakul, C., Laborie, S., Cabassud, C. (2011). Adsorption combined with ultrafiltration to remove organic matter from seawater. *Water Research*, 45 (19), 6362-6370.

Teixeira, M. R., Rosa, M.J. (2005). Microcystins removal by nanofiltration membranes. *Separation*

and Purification Technology, 46 (3) 192-201.

Teixeira, M.R., Rosa, M.J. (2006a). Neurotoxic and hepatotoxic cyanotoxins removal by nanofiltration. Water Research, 40 (15), 2837-2846.

Teixeira, M.R., Rosa, M.J. (2006b). Integration of dissolved gas flotation and nanofiltration for *M. aeruginosa* and associated microcystins removal, Water Research, 40 (19), 3612-3620.

Teunis P.F.M., Kasuga F., Fazil A., Ogden I.D., Rotariu O., Strachan N.J.C. (2010). Dose-response modeling of *Salmonella* using outbreak data. International Journal of Food Microbiology 144 (2), 243-249.

Thébault, A., Le Saux J.C., Pommepuy M., Le Guyader, S., Lailier R., Denis J.-B. (2012). Quantitative Approach of Risk Management Strategies for Hepatitis A Virus-Contaminated Oyster Production Areas. Journal of Food Protection, 75 (7), 1249-1257.

Thébault, A., Teunis, P. F. M., Le Pendu, J., Le Guyader, F. S., Denis, J. –B. (2013). Infectivity of GI and GII noroviruses established from oyster related outbreaks. Epidemics, 5 (2), 98-110.

US-FDA (2005). Quantitative Risk Assessment on the Public Health Impact of Pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in Raw Oysters.
<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/RiskSafetyAssessment/ucm050421.htm>

Vaillant V., Jourdan-Da Silva N., Quilici M.L., Couturier E., Le Guyader S., Delmas G., Le Saux J.C. (2012). Surveillance des risques biologiques liés à la consommation de coquillages en France. Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire (INVS), HS, 34-37.
<http://archimer.ifremer.fr/doc/00092/20362/18023.pdf>

Vergalli J. (2013). Versatilité écologique de la cyanobactérie potentiellement toxique *Planktothrix agardhii* : Influence de la salinité? Thèse de doctorat, Faculté des Sciences et Techniques de Saint-Jérôme Université Aix-Marseille, 255 p.
<http://85.31.222.100/alexandrie-7/dyn/portal/index.seam?page=alo&aloid=6050&fonds=&cid=220>

Vlaški, A., Van Breemen, A.N., Alaerts G.J. (1997). The role of particle size and density in dissolved air flotation and sedimentation. Water Science and Technology, 36 (4), 177-189.

Voutchkov, N. (2010). Considerations for selection of seawater filtration pretreatment system, Desalination, 26 (3), 354-364.

Wilf, M., Schierach, M.K. (2001). Improved performance and cost reduction of RO seawater systems using UF pretreatment. Desalination, 135(1–3), 61-68.

Yeung, P. S., Boor, K. J. (2004). Epidemiology, pathogenesis, and prevention of foodborne *Vibrio parahaemolyticus* infections. Foodborne Pathogens and Disease, 1 (2), 74-88.

6.2 Législation et réglementation

Règlement (CE) n°852/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 relatif à l'hygiène des denrées alimentaires

<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32004R0852:FR:NOT>

Règlement (CE) n° 853/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 fixant les règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale

<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32004R0853:FR:NOT>

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

<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32004R0854&from=FR>

Règlement (UE) n° 15/2011 de la commission du 10 janvier 2011 modifiant le règlement (CE) n° 2074/2005 en ce qui concerne les méthodes d'analyse reconnues des biotoxines marines chez les mollusques bivalves vivants.

<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:006:0003:0006:FR:PDF>

Règlement (UE) n° 786/2013 de la commission du 16 août 2013 modifiant l'annexe III du règlement (CE) n° 853/2004 du parlement européen et du conseil en ce qui concerne les limites autorisées de yessotoxines dans les mollusques bivalves vivants.

<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2013:220:0014:0014:FR:PDF>

DGAL (2013). Mesures de gestion lors d'alertes bactériologiques dans les zones de production de coquillages. Note de service DGAL/SDSSA/N2013-8166 du 15 octobre 2013.

DGAL (2013). Mesures de gestion lors d'alertes liées à la présence de phycotoxines et de phytoplanctons toxiques dans les zones de production de coquillages. Instruction technique DGAL/SDSSA/2013-9910 du 20 décembre 2013.

DGAL (2011). Mesures de gestion complémentaires aux fermetures des zones de production de coquillages lors de contamination de coquillages par des phycotoxines. Note de service DGAL/SDSSA/MUS/N2011-8001 du 4 janvier 2011.

ANNEXES

Annexe 1 : Lettre de saisine



MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DE L'AGROALIMENTAIRE ET DE LA FORET

Direction Générale de l'Alimentation
Service de l'Alimentation
Sous-direction de la Sécurité Sanitaire des Aliments
Bureau des produits de la mer et d'eau douce
251, rue de Vaugirard
75732 Paris cedex 15

Dossier suivi par : Nadège GIRAUDET
Tél. : 01 49 55 84 19
Fax : 01 49 55 56 80
Mél : bpped.sdssa.dgal@agriculture.gouv.fr

Réf. : 13-040_AST_filtration_purification.doc n° 0129-SA1300156

Le Directeur Général de l'Alimentation

à

Monsieur le Directeur Général de l'Agence nationale
de sécurité sanitaire de l'alimentation, de
l'environnement et du travail

27-31, avenue du Général Leclerc
94701 MAISONS-ALFORT CEDEX

Paris, le 3 avril 2013

Objet : Appui scientifique et technique de l'ANSES relative à l'efficacité des dispositifs de filtration de l'eau de mer contaminée par les phycotoxines et de traitement de l'eau de mer

Conformément à l'article R. 1313-1 du code de la santé publique, j'ai l'honneur de demander l'appui scientifique et technique de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail en vue de l'évaluation de l'efficacité de certains dispositifs de **filtration de l'eau de mer contaminée par les phycotoxines** et de l'évaluation des dispositifs de **traitement de l'eau de mer**.

A- Contexte

I- L'efficacité des systèmes de filtration de l'eau de mer contaminée par les phycotoxines

Les modalités de surveillance de ces toxines sont définies au niveau européen par les règlements (CE) n° 853/2004, n° 854/2004 et n° 2074/2005¹⁷. Actuellement, en France, les phycotoxines sont surveillées dans les coquillages dans le milieu naturel de production grâce au réseau REPHY géré par l'IFREMER. Cette surveillance, dont les cahiers techniques de prescriptions sont revus annuellement repose, sur :

- des **tests dans l'eau** 1 à 2 fois par mois visant à rechercher la présence anormale d'algues

¹⁷ Règlement (CE) n°853/2004 fixant les règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale

Règlement (CE) n°854/2004 fixant les règles spécifiques d'organisation des contrôles officiels concernant les produits d'origine animale destinés à la consommation humaine

Règlement (CE) n°2074/2005 établissant les mesures d'application relatives à certains produits régis par le règlement n°853/2004 et à l'organisation des contrôles officiels

productrices de toxines (**comptages cellulaires**) ;

- la **quantification des toxines lipophiles dans les coquillages**. Cette recherche est effectuée :
 - lorsque des **algues productrices de toxines (ou toxinogènes)** sont identifiées dans l'eau **en quantité anormale** (supérieure à un seuil d'alerte fixé en fonction des zones et pour chaque famille d'algues¹⁸) et sont donc susceptibles d'entraîner la contamination des coquillages à des niveaux inacceptables, supérieurs aux limites autorisées (seuils sanitaires) fixées dans le règlement (CE) n° 853/2004 (fréquence d'une fois par semaine) ;
 - de façon systématique sur 11 points de référence répartis sur l'ensemble du littoral français (fréquence d'une fois par mois) ;
 - de façon systématique dans les zones à risque et pendant les périodes à risque (fréquence d'une fois par semaine).

La période à risque, recouvre l'ensemble des mois à risque pour chacune des zones à risque, sachant qu'un résultat supérieur au seuil sanitaire sur un mois d'une des trois dernières années conduit à définir le mois concerné comme un mois à risque.

En cas de dépassement d'un des seuils sanitaires (cf annexe) pour les phycotoxines, le préfet prend des mesures d'interdiction de la pêche, du ramassage, de la récolte des coquillages présents dans la zone concernée par la contamination ainsi que du pompage inconditionnel de l'eau de mer issue de cette zone.

Toutefois, l'eau issue d'une zone de culture en mer « fermée » (frappée de l'interdiction précitée de mise sur le marché des coquillages, contaminés à des niveaux non-conformes à la réglementation) **peut être utilisée sous condition par les éleveurs de coquillages dans leurs établissements à terre**.

Cette disposition est justifiée car **les coquillages surveillés par le REPHY peuvent montrer une contamination issue de la persistance des toxines dans leur organisme du fait de la fixation relativement durable des toxines en leur sein alors même que les algues toxinogènes à l'origine de leur contamination ont décru drastiquement dans le milieu** (disparition progressive, et parfois rapide, de l'efflorescence algale donc des cellules dans le milieu marin). Il est donc possible de pomper une eau présentant des teneurs cellulaires inférieures aux seuils de risque alors que les coquillages surveillés dans le milieu marin ne sont pas conformes à la réglementation sur les toxines.

Les exploitants peuvent donc pomper cette eau de mer potentiellement contaminée en phycotoxines s'ils peuvent démontrer via des auto-contrôles que l'eau pompée utilisée dans leurs bassins de détention des coquillages est exempte de cellule algale toxinogène (cette exigence d'une absence est justifiée par les éléments que l'IFREMER avait déjà pu fournir dans un document du 20 juin 2008 où il était établi à dire d'experts que la simple présence en bassins compte tenu du confinement et de l'environnement particulier -conditions physico-chimiques différentes de celles de la pleine eau- justifiait des précautions particulières).

Pour ce faire, les bassins sont équipés de dispositif de filtration. Il existe actuellement plusieurs dispositifs de filtration de l'eau de mer contaminée par les phycotoxines qui répondent à l'exigence citée supra (cf données travaux COMSAUMOL¹⁹ joint électroniquement à la présente).

¹⁸ Dès présence de toxines lipophiles (>500/l dans certaines zones), en cas de présence > 1 million pour les *Pseudo-nitzschia* ou encore X pour les PSP (*Alexandrium spp*).

¹⁹ Travaux COMSAUMOL de l'IFREMER

II- Évaluation des dispositifs de traitement de l'eau de mer

Cette eau pompée dans une zone classée est utilisée par les professionnels dans leurs bassins

II. A. Zone de pompage, qualité initiale de l'eau de mer

Dans les zones classées B, les professionnels doivent mettre leurs coquillages en bassins de purification pendant une certaine durée avant d'être commercialisés. En France, les coquillages sont classés en trois groupes :

1. gastéropodes (buccin *etc.*), tuniciers (violet) et échinodermes (oursins)
2. mollusques bivalves filtreurs et fouisseurs (coques, palourdes, *etc.*)
3. mollusques bivalves filtreurs mais non fouisseurs (huîtres, moules)

Seuls les mollusques bivalves filtreurs doivent être purifiés s'ils proviennent d'une zone conchylicole classée B.

Dans le cadre de leurs activités, les expéditeurs et les purificateurs doivent disposer d'eau de mer propre pour les opérations d'immersion des coquillages (simple stockage, finition en bassin, cycles de purification). Pour la mise sur le marché, les temps d'immersion vont en général de quelques heures à quelques jours.

Cette eau de mer est également utilisée pour d'autres usages tel que le lavage externe des coquillages ou celui des locaux et du matériel (notamment en l'absence de raccordement à un réseau de distribution public de l'eau).

Les professionnels ont donc une obligation de résultats et décident et évaluent les moyens qu'ils mettent en œuvre pour atteindre cet objectif.

En l'absence de critère qualitatif pour définir l'eau de mer propre dans la réglementation européenne, il est nécessaire d'en définir un. Le règlement (CE) n°852/2004 (article 2 point 1h) définit l'eau de mer propre comme une eau salée ou saumâtre naturelle, artificielle ou purifiée ne contenant pas de micro-organismes, de substances nocives ou de plancton marin toxique en quantités susceptibles d'avoir une incidence directe ou indirecte sur la qualité sanitaire des denrées alimentaires.

Le classement et la surveillance des zones de production, notamment par le réseau de surveillance microbiologique de l'Ifremer (REMI), donnent une première indication de la qualité microbiologique de l'eau de mer, tout du moins au niveau des concessions (points REMI). Cette qualité n'est cependant estimée qu'indirectement, les analyses portant exclusivement sur les coquillages. Cette surveillance est mensuelle.

De la même manière, les aspects phytoplanctoniques et chimiques de l'eau de mer sont gérés par les résultats de la surveillance de surveillance phytoplanctoniques et chimiques de l'Ifremer, respectivement, du REPHY et du ROCCH.

Par ailleurs, les établissements pompent l'eau de mer dans des zones non surveillées en dehors des concessions, le plus souvent proches du littoral, à la fois éloignés des points de surveillance REMI et plus proches de rejets potentiels ou bien situés très en amont du littoral.

Ces situations permettent difficilement de statuer réellement sur la qualité initiale de l'eau utilisée par les établissements et la nécessité d'appliquer ou non un traitement permettant de la rendre propre.

II. B. Traitements de l'eau appliqués par les professionnels

Actuellement, les professionnels utilisent, parfois de manière qui semble empirique et/ou inspirée de recommandations d'IFREMER, différentes méthodologies pour obtenir de l'eau de mer propre (= qualité initiale, maintien de cette qualité ou moyens pour la rendre propre) :

- pompage depuis une zone classée A ou dans un chenal communiquant in fine avec une zone classée A ;
- pompage depuis une zone classée B mais à une période de la marée où l'eau est réputée de meilleure qualité (soit 1 à 2 h avant/après l'étalement de haute mer) ;
- application éventuelle de divers « traitements » :
 - simple décantation préalable,
 - aération forcée (flottation),

- filtration,
- utilisation d'un procédé de désinfection (lampes UV, ozonisation, chloration) ,
- combinaison de plusieurs traitements.

Hormis les techniques de désinfection, les autres groupes de procédés ont pour vocation principale de réduire la turbidité par élimination des particules en suspension et des contaminations potentiellement adsorbées. Ils visent principalement le danger microbiologique et éventuellement ont une action sur certaines particules chimiques adsorbées.

Pour répondre à l'objectif de résultat, dans les faits, les professionnels réalisent seulement des analyses sur les produits finis, en revanche, ils ne vérifient pas ou peu l'efficacité de ces techniques citées supra.

L'évaluation de ces pratiques nécessite de disposer d'éléments techniques et scientifiques permettant d'en apprécier la pertinence ainsi que la maîtrise de la qualité sanitaire de l'eau de mer ainsi obtenue (suivi, vérification).

B- Questions adressées à l'ANSES

Dans ce contexte, je vous saurais gré de bien vouloir examiner les questions suivantes en tenant compte des documents joints à l'appui scientifique et technique sur la filtration de l'eau de mer contaminée par les phycotoxines et sur les traitements de l'eau de mer :

- 1. quels sont les points clés dans les dispositifs de filtration l'eau de mer qui permettent de maîtriser le risque phycotoxinique ? Même question pour le traitement de l'eau de mer avec le risque microbiologique ?**
- 2. pouvez-vous classer les systèmes de filtration et de traitement de l'eau de mer selon leur efficacité ?**

Pour vous aider dans cette démarche des travaux COMSAUMOL pour la filtration de l'eau de mer et des études ainsi que d'autres documents pour le traitement de l'eau de mer sont à votre disposition suivant ce lien vers notre site ftp :
<ftp://ftp.agriculture.gouv.fr/Documents%20AST%20ANSES/>

- 3. quels sont les points incontournables dans le dispositif de filtration et de traitement de l'eau de mer qui doivent impérativement être inspectés par les services de l'État pour vérifier l'efficacité du système.**

Les éléments de réponse apportés seront utiles pour la révision des modalités de la note de service de service référencée DGAL/SDSSA/MUS n°2011-8001 du 4 janvier 2011 intitulée mesures de gestion complémentaire aux fermetures des zones de production de coquillages lors de contamination de coquillages par des phycotoxines (cf P.J.).

Mes services se tiennent à votre disposition pour vous apporter toute information complémentaire.

Je vous remercie de bien vouloir accuser réception de la présente demande et de m'apporter une réponse dans un délai de 9 mois.

Le Directeur Général de l'Alimentation
Patrick DEHAUMONT

Copies :

- DGAL/ BAST
- DPMA
- LNR phycotoxines des coquillages (Anses Maisons-Alfort)

Annexe de la lettre de saisine :

Phycotoxines		Coquillage		Eau	
		Désignation	Seuil réglementaire	Désignation	Seuil réglementaire
DSP	AO+DTXs+PTXs l'acide okadaïque, les dinophysistoxines et les pectenotoxines	Diarrheic Shellfish Poisoning	160 µg d'équivalent [AO + PTX2] par kg de chair de coquillage	<i>Dinophysis</i>	Dès présence de <i>Dinophysis</i> dans l'eau, des analyses chimiques sur les coquillages sont déclenchées.
	AZAs azaspiracides		160 µg d'équivalent AZA1 par kg de chair de coquillage		
	YTXs yessotoxines		1000 µg d'équivalent YTX par kg de chair de coquillage		
PSP du groupe de la saxitoxine		Paralytic Shellfish Poisoning	800 µg d'équivalent saxitoxine par kg de chair de coquillage	<i>Alexandrium minutum</i> <i>Alexandrium catenella</i> / <i>tamarense</i>	Dès, pour <i>Alexandrium minutum</i> , 10 000 cellules par litre dans l'eau et pour <i>Alexandrium catenella</i> / <i>tamarense</i> 5 000 cellules par litre dans l'eau, à l'exception de l'étang de Thau pour lequel le seuil est 1 000 cellules par litre dans l'eau, des analyses chimiques sur les coquillages sont déclenchées
ASP du groupe de l'acide domoïque		Amnesic Shellfish Poisoning	20 mg d'acide domoïque par kg de chair de coquillage	<i>Pseudo-nitzschia</i>	Dès pour <i>Pseudo-nitzschia</i> (groupe des fines) 300 000 cellules par litre dans l'eau et pour <i>Pseudo-nitzschia</i> (autres groupes) 100 000 cellules par litre dans l'eau, des analyses chimiques sur les coquillages sont déclenchées

Annexe 2 : Extrait des mesures de gestion lors d'alertes liées à la présence de phycotoxines et de phytoplanctons toxiques dans les zones de production de coquillages (instruction technique DGAL/SDSSA/2013-9910 du 20 décembre 2013)

D - Mesures de gestion de l'eau de mer

1 - Utilisation de l'eau provenant de la zone de production fermée

La réglementation communautaire prévoit l'utilisation d'eau propre pour le travail des coquillages vivants¹⁴ et définit l'eau de mer propre¹⁵ sans pour autant fixer de critères : la qualité de l'eau est davantage déterminée en fonction de l'usage qui en est fait et des conséquences possibles sur les produits.

Dans le cadre de la mise sur le marché des coquillages vivants, l'eau est utilisée dans les établissements conchylicoles :

- pour le lavage extérieur des coquillages, sans immersion ;
- pour l'immersion des coquillages dans des bassins de l'établissement, en vue du stockage, des opérations de finition ou de la purification de coquillages provenant de zones B.

En cas de présence de phytoplanctons toxiques dans l'eau de mer et/ou lors de toxicité des coquillages, il convient de déterminer les restrictions et les usages possibles de l'eau de mer de la zone concernée (pompage, devenir de l'eau préalablement pompée et stockée dans les réserves et bassins des établissements).

2 - Restriction générale d'utilisation de l'eau de mer

a - Période de contamination de l'eau de mer

Selon un schéma équivalent avec la détermination des phases de toxicité des coquillages aboutissant aux mesures de retrait et rappel (cf. point II.C2), la période à laquelle l'eau de mer de la zone sera considérée comme contaminée (c'est-à-dire susceptible d'entraîner une toxicité des coquillages qui y sont immergés) :

- correspondra, au minimum, à la phase de contamination avérée des coquillages et de fermeture de la zone ;
- pourra être étendue à la phase de contamination progressive des coquillages si le risque est jugé élevé.

A contrario, l'eau de mer pompée dans la zone pendant la phase de non-contamination avérée peut être utilisée, sous réserve que les professionnels apportent les garanties quant à sa traçabilité (enregistrement de la date du pompage, etc.).

Comme pour le retrait/rappel des lots, ce schéma général décisionnel ne préjuge pas des situations particulières où les autorités peuvent décider de prendre des mesures complémentaires ou préventives en fonction des risques pesant sur la santé publique.

b - Immersion de coquillages sains en bassins

Dans son avis du 20 juin 2008 (saisine DGAL/DPMA n° 1288 du 10 juin 2008), l'IFREMER précise que la présence d'espèces d'algues toxiques dans un bassin fermé avec un faible volume d'eau, même à des concentrations

14 Point 1.b du chapitre VII de l'annexe II du règlement (CE) n°852/2004 ; points 1 et 5 du A et point 2 du B du chapitre IV de la section VII de l'annexe III du règlement (CE) n°853/2004.

15 Règlement (CE) n°852/2004 : Article 2 points h ("eau de mer propre" : l'eau de mer ou saumâtre naturelle, artificielle ou purifiée ne contenant pas de micro-organismes, de substances nocives ou de plancton marin toxique en quantités susceptibles d'avoir une incidence directe ou indirecte sur la qualité sanitaire des denrées alimentaires) et i ("eau propre" : eau de mer propre et eau douce d'une qualité similaire).

inférieures aux seuils d'alerte utilisés dans le cadre de la surveillance, ne peut conduire à la même estimation du risque qu'en milieu ouvert.

On ne peut pas garantir que le retrempage en bassins de coquillages sains, dans une eau contaminée en cellules phytoplanctoniques, est sans conséquence sur leur toxicité, quels que soient l'espèce de coquillages et le type de phytoplancton toxique.

Compte-tenu des deux points précédents, une mesure d'interdiction générale d'utilisation de l'eau de mer pour l'immersion des coquillages doit être prise.

Cette mesure concernera :

- l'eau de mer susceptible d'être pompée dans la zone fermée,
- l'eau de mer déjà pompée lors de la période de contamination déterminée.

Par défaut, cette interdiction dure de la date à laquelle l'eau est considérée comme contaminée (point 2.a précédent) jusqu'à la réouverture de la zone.

En ce qui concerne le lavage extérieur des coquillages, sans immersion, aucune restriction n'est à envisager.

Remarque : Dans le cas de fermeture partielle (cf. point II.C3), cette interdiction générale ne s'oppose pas à la récolte ou à la pêche des espèces de coquillages reconnus non toxiques dans la zone fermée et à leur commercialisation, dès lors qu'ils ne sont pas immergés dans des bassins contenant de l'eau contaminée.

3 - Utilisation dérogatoire de l'eau de mer

Suite à la fermeture d'une zone et parallèlement à l'échantillonnage des coquillages pour la recherche des toxines, la surveillance de la flore algale toxigène est maintenue au niveau des points REPHY. Le positionnement de ces points étant souvent à distance de la côte (pour donner une indication précoce en terme de risques), il est tout à fait envisageable qu'au niveau des points de pompage des établissements, plus proches de la côte, la concentration en phytoplancton toxigène soit différente voire nulle.

Sur la base des avis scientifiques de l'IFREMER et de l'ANSES et de manière dérogatoire, il est possible de pomper de l'eau dans la zone fermée et de remplir les bassins en vue d'y immerger des coquillages sains dans les conditions suivantes :

Dans une zone fermée pour présence de biotoxines dans les coquillages, **l'utilisation de l'eau de mer pour l'immersion de coquillages sains est possible de manière dérogatoire dans les conditions suivantes :**

- **en cas de présence de toxines ASP et/ou PSP** : les professionnels doivent démontrer l'absence de cellule algale productrice de toxine dans l'eau de mer pompée par l'établissement. Cette recherche doit être réalisée sur l'eau des bassins ou des réserves alimentant les bassins et renouvelée à chaque nouveau pompage d'eau issue de la zone contaminée.
- **en cas de présence de toxines lipophiles** : en complément des mesures décrites pour les toxines ASP et PSP et compte-tenu de la spécificité des toxines lipophiles (contamination possible avec très peu de cellules, difficilement détectables), des autocontrôles (recherche de toxines lipophiles) doivent être pratiqués sur les lots de coquillages avant leur mise sur le marché (au moins un lot ayant séjourné au minimum 48h dans les bassins). Ces analyses doivent être renouvelées à chaque nouveau pompage d'eau de mer issue de la zone pour évaluer la qualité de ce nouvel apport.

Ces deux possibilités s'appliquent indépendamment de la situation de la flore algale au niveau des points REPHY.

Des dispositifs destinés à filtrer l'eau de mer et à éliminer les algues ont fait l'objet d'une étude afin d'évaluer leur efficacité (filtre sur sable et sur membranes). Ces travaux sont en cours d'évaluation par l'ANSES.

4 - Utilisation d'eau ayant une autre provenance

a - Eau de forage

De l'eau de forage peut être utilisée pour approvisionner en eau les établissements conchylicoles. Une étude, menée en 2009 à la demande de la DGAL sur la qualité de ces eaux ¹⁶, démontre qu'il n'aurait pas été détecté de micro-algues marines ni leurs toxines dans ces eaux salées ou saumâtres utilisées en conchyliculture. Cependant, il convient que les utilisateurs de ces forages réalisent des analyses afin de s'en assurer, principalement si le forage est situé à proximité de la zone fermée et est susceptible de communiquer avec le milieu contaminé.

L'utilisation d'eau issue de forages est donc permise sous réserve que le forage soit déclaré auprès des services préfectoraux et que des autocontrôles soient réalisés afin de vérifier, notamment, l'absence de cellules de phytoplancton producteur de toxines dans l'eau.

b - Autres possibilités

Il reste également envisageable d'utiliser :

- de l'eau de mer reconstituée dès lors qu'elle offre toute les garanties d'une eau de mer propre (qualité sanitaire de l'eau et des ingrédients utilisés) ;
- de l'eau de mer provenant d'une zone non contaminée sous réserve d'en assurer la traçabilité (provenance, date de pompage, quantité) et la qualité du transport.

Annexe 3 : Extrait des mesures de gestion lors d'alertes bactériologiques dans les zones de production de coquillages (note de service DGAL/SDSSA/N2013-8166 du 15 octobre 2013)

c - Utilisation de l'eau de mer

Les centres d'expédition ou de purification ont l'obligation d'utiliser de l'eau de mer propre pour y immerger leurs coquillages. Il leur appartient, dans le cadre de leur plan de maîtrise sanitaire, de déterminer les moyens à mettre en œuvre pour garantir la bonne qualité de leur eau, notamment en fonction de la qualité initiale de l'eau pompée.

Selon un schéma similaire aux procédures de retrait / rappel des produits, l'eau de la zone sera considérée comme contaminée (au delà de la qualité correspondant au classement initial de la zone) depuis la date supposée ou avérée de la contamination du milieu.

Les professionnels pompant dans cette zone devront donc adapter et vérifier que les moyens qu'ils utilisent sont bien de nature à garantir l'innocuité pour les denrées produites de l'utilisation d'une eau de mer propre. Sur ce point, la preuve de l'efficacité des dispositifs utilisés devra être apportée (PMS et des PrPo correspondants conformément à la NDS/ DGAL/ SDSSA/N2012-8156 du 24 juillet 2012 relative aux procédures HACCP).

Le suivi de la gestion de l'eau sera notamment un élément important pour évaluer et tracer l'efficacité des mesures prises (enregistrement des dates de pompage , analyses bactériologiques ...).

Annexe 4 : Éléments de coût d'investissement et de fonctionnement

Étape	Coût d'investissement estimatif par m ³ /h de capacité de production	Coût de fonctionnement estimatif par m ³ produit
Coagulation / floculation / flottation / filtration sur sable	1000 à 1500 euros HT	0,002 euros HT
Filtration sur charbon actif en grains	1500 à 1700 euros HT	0,007 euros HT
Réacteur à rayonnements UV	de 200 à 500 euros HT	0,001 à 0,0015 euros HT

Ces éléments sont indicatifs, les conchyliculteurs devront s'adresser à des entreprises ou bureaux d'étude spécialisés dans le traitement de l'eau pour obtenir des éléments plus précis et adaptés à leurs contraintes.

De plus les coûts de traitement des effluents ne sont pas présentés et devront être estimés dans les projets en fonction des installations existantes localement.

Annexe 5 : Analyse des publications et travaux traitant de la stabilité et de la biodisponibilité des phycotoxines libres (dissoutes)

1. Analyse des publications et travaux traitant de la stabilité et de la biodisponibilité des phycotoxines lipophiles libres (dissoutes)

1.1. STABILITÉ DANS L'EAU DE MER DES TOXINES LIPOPHILES DISSOUTES

Étude de référence COMSAUMOL (rapport final + actes de la conférence ICMSS 2011)

Protocole expérimental

Des SPAT (capteurs passifs) ont été utilisés dans deux expériences de décontamination de moules naturellement contaminées par des toxines lipophiles provenant de Kervoyal, en baie de Vilaine (*nature et concentration des toxines non précisées*).

Résultats

Les résultats sont contradictoires :

- dans un cas, aucune toxine n'a été détectée (durée de l'essai non précisé)
- dans l'autre cas, des toxines sous forme dissoute ont été détectées au cours des 21 jours de détoxication (*nature et concentration des toxines non précisées*).

Autres données

Aucune autre donnée n'a été identifiée dans la littérature.

Étude non publiée :

Un rapport d'Ifremer réalisé dans le cadre d'une convention avec le MAAF (Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt) et le MAAS (Ministère des affaires sociales et de la santé) mentionne l'étude de la présence de toxines dissoutes à l'aide d'échantillonneurs passifs (résines) dans l'étang d'Ingril. La figure ci-dessous met en évidence la présence d'acide okadaïque, de dinophysistoxine-1 et de pectenotoxine-2 dans l'eau de mer (Ifremer, décembre 2013, Pinnatoxines-phase 2, en lien avec l'espèce *Vulcanodinium rugosum*. Suivis de la contamination de mollusques bivalves dans le milieu et au laboratoire, 15 p).

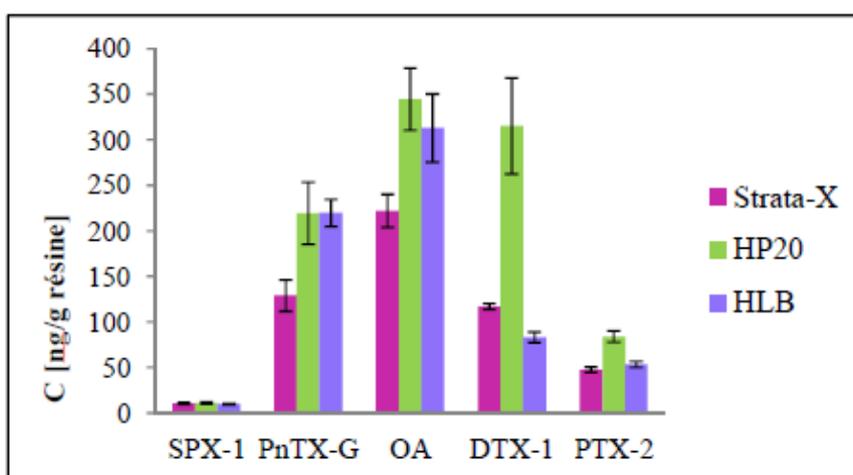


Figure : Concentrations de spirolide, pinnatoxine G, acide okadaïque, dinophysistoxine-1 et pectenotoxine-2 dans trois échantillonneurs passifs (semaine 27, début juillet 2013).

1.2. BIODISPONIBILITÉ DES TOXINES LIPOPHILES DISSOUTES

Étude de référence COMSAUMOL (rapport final + actes de la conférence ICMSS 2011)

Protocole expérimental

Des moules ont été mises en contact pendant 10 jours avec :

- 1) une culture de *Prorocentrum lima* (témoin toxique) [Culture vivante]
- 2) des fragments cellulaires après lyse d'une culture de concentration cellulaire équivalente de *P. lima* et récupération du surnageant de centrifugation [Lysat de culture]
- 3) le surnageant après filtration d'une culture [Filtrat de culture]

Les bacs utilisés présentaient une capacité de 160 litres et chaque bac contenait 4 poches de 1 kg de moules chacune. La température de l'eau était maintenue à 16°C.

Les analyses effectuées par couplage de chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse ont porté sur la glande digestive des moules et comprenait une étape d'hydrolyse alcaline (pour DTX3).

Les informations suivantes ne sont pas précisées:

- l'étape de filtration (taille des pores)
- le nombre de cellules de *P. lima* en culture
- la toxicité des cellules de *P. lima*

Résultats

Le rapport conclut que la contamination par les toxines en suspension ou dissoutes dans l'eau est bien plus faible que celle mesurée dans le cas où les moules sont en contact avec des cellules vivantes.

Les résultats présentés sous forme d'histogrammes ne sont pas interprétables dans la mesure où il manque la légende de l'axe des ordonnées (toxines mesurées ? unité ? chair totale ou glande digestive ?). Il est toutefois possible de constater que la hauteur des histogrammes est très faible avec le filtrat de culture et un peu plus élevé avec le lysat de cellule (facteur 10 par rapport au filtrat) mais que celui-ci est plus faible d'un facteur 4 par rapport à la culture vivante.

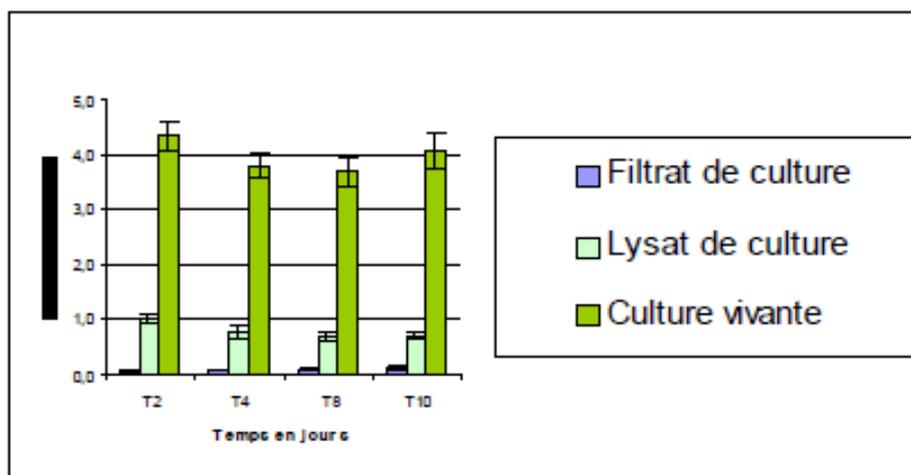
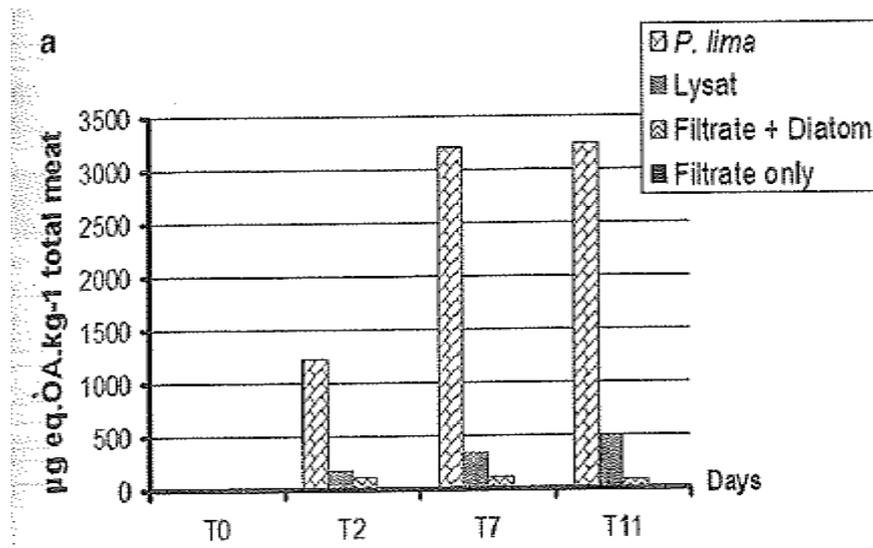


Figure : Concentration en toxines (non précisées) dans les moules (chair ou glande digestive, non précisé) en fonction du temps

Les résultats présentés dans les actes de la conférence ICMSS 2011 sous forme d'histogrammes diffèrent de ceux présentés dans le rapport final :

- les temps indiqués en axe des abscisses sont T2, T4, T8 et T10 dans le rapport final et T2, T7, T11 dans les actes de la conférence
- une 4ème série de données (filtrat + diatomées) figure dans les actes de la conférence
- la forme des histogrammes et les valeurs en axe des ordonnées ne sont pas les mêmes (en particulier pour les résultats de culture vivante qui sont stables (autour de 4,0) pour les 4 temps testés dans le rapport final alors qu'ils sont très variables entre T2 et T7 dans les actes de la conférence
- Il y a une incohérence quant à la matrice analysée (chair totale selon l'axe des ordonnées mais glande digestive dans le texte). Il est possible que l'analyse ait porté sur la glande digestive mais que le résultat soit rapporté à la chair totale.



NB : limite réglementaire = 160 µg eq AO/kg chair (16 µg eq AO/100g) ou 800 µg eq. AO/kg glande digestive (80 µg eq AO/100g GD).

Figure : Concentration en toxines (équivalent acide okadaïque) dans les moules en fonction du temps

Ainsi, selon les résultats présentés ci-dessus, et en partant de l'hypothèse que la légende de l'axe des ordonnées soit correcte, il serait possible d'obtenir des moules avec une concentration supérieure à la limite réglementaire après mise en contact avec du lysat de culture (nombre de cellules de *P. lima* non précisé) mais pas après mise en contact avec du filtrat de culture (conditions de filtration non précisées). Il est à noter que la présence d'algue non toxique (*Skeletonema costatum* ?) augmente légèrement la biodisponibilité des toxines dissoutes (certainement par adsorption à la surface).

Autre étude 1:

Jauffrais T., Kilcoyne J., Herrenknecht C., Truquet P., Séchet V., Miles C.O., Hess P. 2013. Dissolved azaspiracids are absorbed and metabolized by blue mussels (*Mytilus edulis*). *Toxicon* 65: 81-89.

Protocole expérimental

Des moules ont été mises en contact pendant 24h avec :

- une culture de *Azadinium spinosum* (témoin toxique)
- des fragments cellulaires après lyse d'une culture de concentration cellulaire équivalente de *A. spinosum*
- un extrait d'AZA-1 et AZA-2 à partir d'une culture de *A. spinosum*
- un extrait d'AZA-1 et AZA-2 à partir d'une culture de *A. spinosum* avec une algue fourrage (*Isochrysis* aff. *galbana*).

Les bacs utilisés pour les essais présentaient une capacité de 10 litres et chaque bac contenait 5 moules pour 8 litres d'eau de mer. L'eau était maintenue à température ambiante (16°C). Les essais ont été réalisés en triplicat.

Table 1
Experimental conditions to which mussels were exposed for 24 h.

Treatment ^a	Algae			AZAs extract		Total AZAs ^b
	Species	Form	Cell/mL	Vol (mL)	Conc (ug/L)	
1	-	-	0	0.541	7.5	
2	-	-	0	0.054	0.75	
3	T-Iso	Live	1 × 10 ⁶	0.541	7.5	
4	<i>A. spinosum</i>	Live	1 × 10 ⁵	-	7.5	
5	<i>A. spinosum</i>	Lysed	1 × 10 ⁵	-	7.5	
6	<i>A. spinosum</i>	Live	1 × 10 ⁴	-	0.75	
7	<i>A. spinosum</i>	Lysed	1 × 10 ⁴	-	0.75	
8 (control)	-	-	0	- ^c	0	

^a Treatment in triplicate.

^b AZA1 + AZA2 (76:24).

^c 0.541 mL MeOH was added.

Résultats

Les résultats montrent une accumulation des AZAs dissoutes dans la moule, ~ 40% dans les branchies et ~ 20% dans la glande digestive (comparé à respectivement 3-12% et 75-90% avec du plancton toxique). Les profils des analogues d'AZAs retenues dans les branchies indiquent que les toxines ont été métabolisées (à un taux plus rapide que dans la glande digestive). **Dans les essais avec la forte concentration en toxines dissoutes (avec ou sans algue fourrage), la concentration en AZAs dans la chair totale était supérieure à la limite réglementaire européenne.**

Table 2
AZA metabolite composition (%) for each tissue sample,^a and total AZA concentrations^b in mussel tissues (µg kg⁻¹).

	Tissue	AZA metabolite profile (% of total ^b) by tissue							Conc AZAs (µg kg ⁻¹) ^b		Conc reg AZAs (µg kg ⁻¹ AZA1eq) ^c	
		AZA1	AZA2	AZA3	AZA6	AZA7-8	AZA17	AZA19	By tissue	Mussel ^d	By tissue	Mussel ^d
		Treatment 1	DG	55	20	2	0	0	19	4	458 ± 91	530
	Gills	25	11	4	0	0	50	10	1931 ± 64		950 ± 125	
	RF	27	10	5	2	1	47	9	307 ± 25		156 ± 31	
Treatment 2	DG	65	20	0	0	0	13	2	91 ± 26	94	90 ± 24	71
	Gills	39	14	3	0	0	37	7	368 ± 52		247 ± 33	
	RF	43	13	0	0	1	38	7	45 ± 1		30 ± 1	
Treatment 3	DG	67	24	1	0	0	6	1	947 ± 81	557	1025 ± 76	402
	Gills	25	9	4	0	1	50	12	498 ± 147		232 ± 53	
	RF	23	8	5	1	0	52	11	413 ± 31		181 ± 9	
Treatment 4	DG	54	22	2	0	2	17	3	1910 ± 414	694	1811 ± 342	591
	Gills	34	14	4	0	1	40	8	876 ± 58		552 ± 40	
	RF	37	11	3	0	2	39	7	167 ± 29		102 ± 16	
Treatment 5	DG	67	21	1	0	1	9	1	1179 ± 237	498	1219 ± 271	445
	Gills	38	13	4	0	0	38	7	771 ± 41		507 ± 60	
	RF	43	12	3	0	1	35	6	172 ± 39		118 ± 36	
Treatment 6	DG	60	23	1	0	1	12	2	1654 ± 221	464	1685 ± 258	462
	Gills	41	14	3	0	0	35	6	147 ± 16		101 ± 9	
	RF	52	14	0	0	0	32	2	41 ± 7		32 ± 5	
Treatment 7	DG	72	21	1	0	0	6	1	802 ± 119	249	857 ± 120	255
	Gills	44	16	2	0	0	32	6	196 ± 28		147 ± 22	
	RF	57	15	0	0	0	28	0	35 ± 1		30 ± 2	
Treatment 8 (Control)	DG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Gills	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	RF	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

^a Major metabolites (≥20%) are highlighted in grey; DG = Digestive gland, RF = remaining flesh.

^b Total AZAs = AZA1 + AZA2 + AZA3 + AZA6 + AZA7 + AZA8 + AZA17 + AZA19.

^c Regulated AZAs = AZA1 + (AZA2 × 1.8) + (AZA3 × 1.4).

^d Calculated from the tissue concentrations by assuming a mussel composition of 25.5% DG, 11.7% gills, and 62.8% remaining flesh, by weight.

D'autres travaux ont étudié la biodisponibilité de toxines dissoutes (azaspiracides, brevétoxines) chez la moule ou chez l'huître mais les essais ont été conduits uniquement en présence d'algue fourrage (Plakas *et al.*, 2002 ; O'Driscoll *et al.*, 2011).

Autre étude 2 :

O'Driscoll, D., Škrabáková, Z., O'Halloran, J., Van Pelt, F.N.A.M., James, K.J. 2011. Mussels increase xenobiotic (azaspiracid) toxicity using a unique bioconversion mechanism. *Environmental Science and Technology* 45 (7): 3102-3108.

Protocole expérimental

Des moules ont été mises en contact pendant 10 jours avec :

- un extrait d'AZA-1 pure (3 µg/jour) mélangé avec une préparation alimentaire commerciale à base d'algues non toxiques (*Isochrysis sp*, *Pavlova sp*, *Thalassiosira weissflogii*, et *Tetraselmis sp*).

Les bacs utilisés pour les essais avaient une capacité de 20 litres et chaque bac contenait 10 moules pour 10 litres d'eau de mer. La température de l'eau était de 14°C. Six moules ont été prélevées après 10 jours d'exposition. Les 4 moules restantes ont été nourries pendant 3 jours supplémentaires, sans ajout d'extrait d'AZA-1, puis prélevées.

Les tissus prélevés (glande digestive, branchies et autres tissus) ont été analysés par LC/MS.

Résultats

Les résultats montrent une accumulation de toxines par les tissus de la moule après exposition 10 jours à un extrait d'azaspiracide dissoute (3 µg/10L/jour soit 0,3 µg/L) en présence d'algues non toxiques, préférentiellement dans les branchies (50%) comparé la glande digestive (15%) et aux autres tissus (35%). L'objectif de cette expérience était d'étudier le schéma métabolique d'AZA-1 chez la moule. Aucun résultat de concentration tissulaire (µg AZA/kg) n'est présenté dans l'article publié.

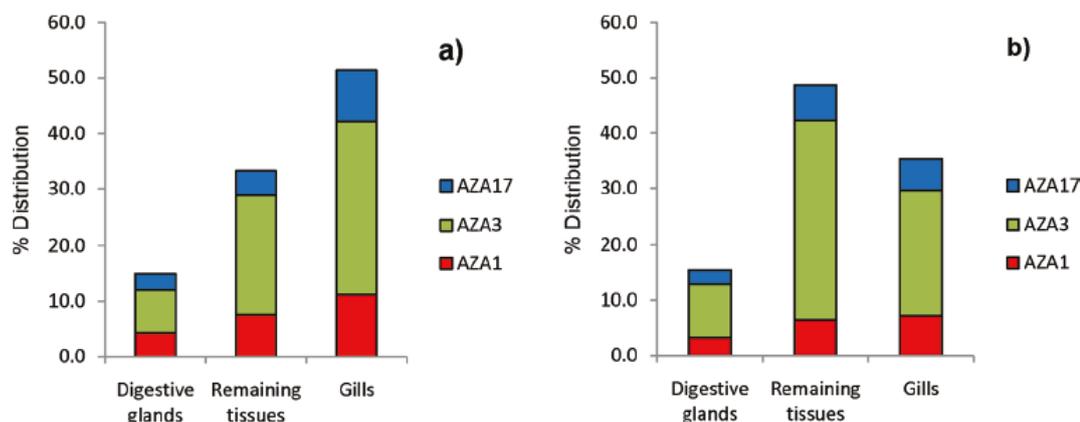


Figure: Distribution de AZA-1, AZA-3 et AZA-17 après exposition des moules pendant 10 jours (a, n=6) à un extrait d'AZA-1 (3 µg/jour) mélangé avec une préparation alimentaire commerciale à base d'algues non toxiques ; (b) résultats après 3 jours supplémentaires avec uniquement la préparation alimentaire (n=4)

Autre étude 3 :

Plakas S.M., El Said K.R., Jester E.L.E., Ray Granade H., Musser S.M., Dickey R.W. 2002. Confirmation of brevetoxin metabolism in the Eastern oyster (*Crassostrea virginica*) by controlled exposures to pure toxins and to *Karenia brevis* cultures. *Toxicon* 40 (6): 721-729.

Protocole expérimental

Des huîtres ont été mises en contact pendant 3 jours avec :

- un extrait de brevéttoxine (PbTx-2 ou PbTx-3) pures (concentration finale dans le bac de 20 ou 100 µg/L) en présence d'algue fourrage (*Isochrysis sp.*).
- une culture de *Karenia brevis* (productrice de brevéttoxines).

Les bacs utilisés pour les essais présentaient une capacité de 2 litres et chaque bac contenait 1 huître pour 1 litre d'eau de mer. La température de l'eau était de 14°C. Six moules ont été prélevées après 10 jours d'exposition. Les 4 moules restantes ont été nourries pendant 3 jours supplémentaires, sans ajout d'extrait d'AZA-1, puis prélevées.

Les huîtres ont été testées pour leur cytotoxicité sur culture cellulaire de neuroblastomes de souris.

Résultats

Les résultats montrent une accumulation de toxines dans les tissus de l'huître après exposition 3 jours à un extrait de brevéttoxines dissoutes (20 µg/L) en présence d'algue non toxique.

Table 1
Total cytotoxicity of oysters after waterborne exposure to pure PbTx-2 and -3 (Mean of two oysters per time-point. Composite cytotoxicity of oyster extracts were compared with PbTx-3 analytical standard and expressed as µg equiv./g)

Time after dosing (weeks)	Cytotoxicity (µg PbTx-3 equiv./g) after exposure (20 µg/l for 3 days) to:	
	PbTx-3	PbTx-2
0	1.01	1.22
2	0.22	0.69
4	ND ^a	0.73
8	ND	0.44

^a Not detectable.

2 Analyse des publications et travaux traitant de la stabilité et de la biodisponibilité des phycotoxines paralysantes libres (dissoutes)

2.1 STABILITÉ DANS L'EAU DE MER DES TOXINES PARALYSANTES DISSOUTES

Étude de référence COMSAUMOL (rapport final + actes de la conférence ICMSS 2011)

Protocole expérimental

Le rapport fait référence à des travaux non publiés mené par l'Ifremer dans lesquels la présence de toxines avait été mise en évidence dans le surnageant de prélèvement d'eau en estuaire de Penzé, avec une augmentation en fin de prolifération algale.

Des essais de stabilité des toxines PSP dans l'eau de mer ont été conduits sur 10 à 15 jours avec :

- des standards purifiés (concentrations moyennes testées de 1,3 µM) dans deux types de milieu : soit de l'eau de mer non filtrée provenant de Saint-Malo soit de l'eau de mer reconstituée.
- des lysats de cellules en culture (par ultrasons puis centrifugation, concentrations moyennes testées entre 2,5 et 3 µM) dans trois types de milieu : du milieu nutritif, de l'eau de mer, du milieu nutritif après filtration sur 10kDa pour enlever les gros débris.

Résultats

Dans les essais avec les standard purifiés, le rapport conclut à une forte stabilité sur les 15 jours d'observation (100 % pour STX, plus de 80 % pour GTX2/3), une légère diminution est toutefois notée pour des isomères de GTX2/3.

Dans les essais avec lyse de cellules, le rapport conclut à une forte stabilité sur les 15 jours d'observation et ne constate pas de différence entre les trois milieux testés.

Autres données

Aucune autre donnée n'a été identifiée dans la littérature.

2.2. BIODISPONIBILITÉ DES TOXINES PARALYSANTES DISSOUTES

Étude de référence COMSAUMOL (rapport final + actes de la conférence ICMSS 2011)

Protocole expérimental

Des moules de taille commerciale ont été placées en circuit fermé dans des bacs cylindriques aérés par un système d'aération ascendant « air-lift ». Plusieurs traitements ont été testés :

- mise en contact avec une culture de dinoflagellé toxique *Alexandrium minutum* (témoin toxique) [AMIN]
- mise en contact avec des fragments cellulaires après lyse par ultrasons d'une culture de concentration cellulaire équivalente d'*A. minutum* et récupération du surnageant de centrifugation [Lysat]
- mise en contact avec le surnageant après filtration d'une culture [SURN 1]
- mise en contact avec le surnageant après filtration d'une culture et ajout de *Skeletonema costatum*, non toxique, pour tester l'adsorption des toxines [SURN 2].

La culture d'*A. minutum* en bioréacteur était d'environ 150 000 cellules/mL au début de l'expérience.

La toxicité des cellules algales était de 1 pg eq. SXT/cellule, le profil toxinique étant dominé par GTX2, GTX3, dc-GTX2 et dc-GTX3.

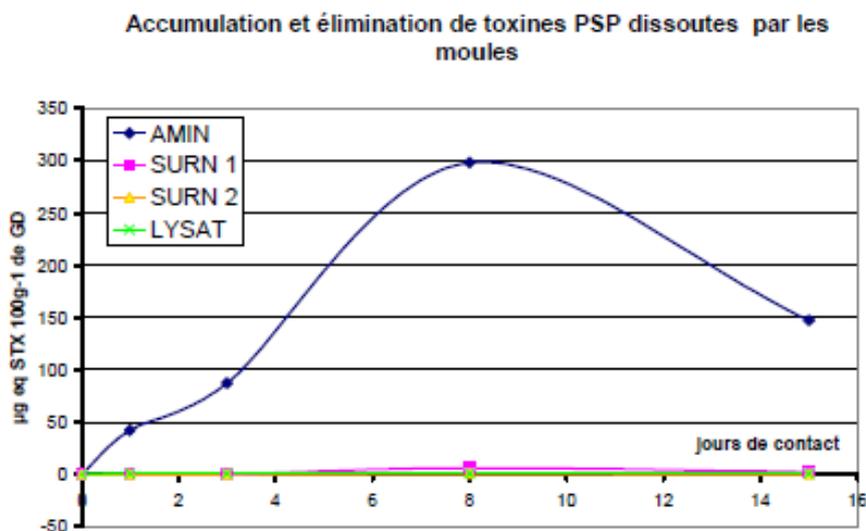
Dans l'essai [AMIN], la concentration initiale était d'environ 90 000 cellules/mL mais au bout de 24h, elle était descendue à environ 3000 cellules/mL (du fait de la filtration par les moules et de la sédimentation).

Les analyses effectuées par couplage de chromatographie liquide avec détection par fluorescence post-colonne ont porté sur la glande digestive des moules.

Les informations concernant l'étape de filtration (taille des pores) sont manquantes.

Les bacs utilisés disposaient une capacité de 160 litres et chaque bac contenait 4 poches de 1 kg de moules chacune. La température de l'eau était maintenue à 16°C.

Résultats



NB : limite réglementaire = 800 µg eq SXT/kg chair (4000 µg eq. SXT/kg glande digestive = 400 µg eq SXT/100g GD)

Figure : Accumulation et élimination de toxines PSP dissoutes par les moules

L'accumulation des toxines dans le glande digestive atteint son maximum au 8^{ème} jour avec le témoin toxique (298 µg eq SXT/100g GD). En revanche, aucune accumulation n'est observée avec le surnageant 2 et le lysat, tandis qu'elle ne **dépasse pas 6 µg eq SXT/100g GD avec le surnageant 1.**

La recherche de toxines dissoutes a montré la présence de GTX3 et dc-GTX3 dans les milieux [AMIN], [SURN 1] et [SURN 2] mais pas dans le [Lysat]. La concentration à J0 et J15 est la même pour [AMIN], environ 200 µg eq SXT/L. Pour [SURN 1] et [SURN 2], une augmentation est observée (respectivement de 143 à 187 µg eq SXT/L et de 43 à 148 µg eq SXT/L) sans que cela puisse être expliqué.

La mortalité chez les moules n'a pas dépassé 4% du poids total par bac.

Autres données

Aucune autre donnée n'a été identifiée dans la littérature.

3. Analyse des publications et travaux traitant de la stabilité et de la biodisponibilité des phycotoxines amnésiantes libres (dissoutes)

Étude de référence COMSAUMOL (rapport final + actes de la conférence ICMSS 2011)
Les toxines ASP n'ont pas été étudiées.

3.1. STABILITÉ DANS L'EAU DE MER DES TOXINES AMNESIANTES DISSOUTES

Aucune donnée n'a été identifiée dans la littérature.

3.2. BIODISPONIBILITÉ DES TOXINES AMNÉSIANTES DISSOUTES

Novaczek, I., Madhyastha, M.S., Ablett, R.F., Johnson, G., Nijjar, M.S., Sims, D.E. 1991. Uptake, disposition and depuration of domoic acid by blue mussels (*Mytilus edulis*). *Aquatic Toxicology* 21 (1-2), pp. 103-118.

Protocole expérimental

Une solution d'acide domoïque (AD)-marqué (tritium) dissous (125nM, ~ 40 µg/L) a été mise en contact avec :

- des moules vivantes d'une part (absorption active), n=6
- des moules mortes d'autre part (adsorption), n=6 (15 s au four à micro-ondes) pendant 24h et dans des conditions définies (5°C, eau de mer artificielle à 28‰ salinité).

La température de 5°C a été choisie pour représenter les conditions environnementales des mois de novembre et décembre de l'île du Prince Edward (Canada, 0-10°C), au cours desquels sont observées les concentrations les plus élevées dans les moules.

L'étude a été réalisée dans des récipients de 500 ml d'eau de mer artificielle sous aération et environ 0,6 nM d'AD marqué à été insérée dans chaque récipient, qui contenait 2 moules.

Les 3 compartiments (moules tuées après 24 h d'exposition), eau, fécès ont été analysés avec une étude de la répartition dans les différents tissus des moules.

Résultats

- L'absorption par les moules d'AD dissout a été estimée à **moins de 1 % en 24h**, dans les conditions expérimentales testées (concentrations : ~ 40 µg/L et faible température de l'eau : 5°C).
- Pendant la durée d'exposition de 24h, les moules vivantes ont absorbé 4 fois plus de toxine dissoute que les moules mortes (adsorption), respectivement 0,65 % d'AD disponible contre 0,16%.
- L'AD dissous est absorbé par les moules principalement par les branchies et le manteau. Ces tissus représentent respectivement 10 et 20-30 % de la charge totale en AD contenue dans le corps entier.
- Les reins peuvent contenir de fortes concentrations en AD d'origine dissoute (et d'origine alimentaire) car ils constituent la voie majoritaire de dépuraction de l'AD, ce qui est cohérent avec la nature très hydrophile de l'AD. Leur faible contribution au poids total du corps entier (2 %) fait que leur charge toxique ne représente que 4-5 % de la charge totale.
- Une étude de dépuraction sur 72h a mis en évidence que les moules excrétaient majoritairement l'AD sous forme dissoute, comparé à la quantité excrétée par les fécès. Dans les essais avec l'AD apporté sous forme dissoute, un facteur de bioconcentration de 3000 était observé. Dans les essais avec l'AD apporté par des lysosomes, ce facteur était de 260.

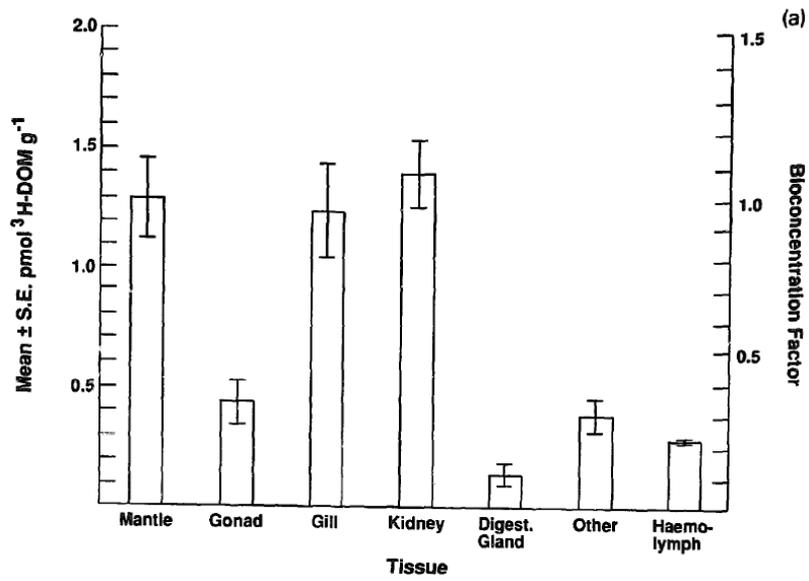


Figure : Concentrations en acide domoïque tritié dans des moules (n=6) après 24h d'exposition dans une eau de mer artificielle à 5°C avec une concentration de 125 nM d'acide domoïque tritié (~ 40 µg/L).

Annexe 6 : Extrait du rapport de l'Anses de novembre 2010 sur l'efficacité des réacteurs UV pour la désinfection des eaux destinées à la consommation humaine

Cinétique d'inactivation

Lors de la désinfection des EDCH, et en fonction des doses utilisées, la revendication d'efficacité des désinfections sera différente et dépendante du type de micro-organisme cible. Dans tous les cas, les recommandations d'utilisation doivent être spécifiées pour que l'efficacité recherchée soit atteinte.

Les constituants de l'eau peuvent affecter la performance de la désinfection UV. Les paramètres les plus sensibles sont l'absorbance UV, la teneur en particules de l'eau, les concentrations en éléments (fer par exemple) qui peuvent provoquer un encrassement du réacteur et les algues.

La transmittance de l'eau est très importante. Si elle diminue, l'énergie au sein du réacteur décroît également, ce qui réduit la dose délivrée. Ainsi, comme pour tous les autres désinfectants l'eau doit préalablement être très bien clarifiée.

Alors que la désinfection chimique utilise la notion de **C.t** (concentration en biocide et temps de contact), la désinfection par irradiation UV repose sur la notion de dose. La dose peut être définie selon l'équation :

$$\text{Dose} = P.t$$

P représente la puissance biocide délivrée

t représente le temps de contact

La principale différence entre les notions de P.t et C.t, réside en une absence de résiduel en sortie de réacteur dans le cas des UV alors qu'il reste un résiduel de concentration en biocide dans le cas d'une désinfection chimique.

Parallèlement, l'utilisation de ces deux notions dépend de nombreux paramètres.

- Le produit P.t dépend de la qualité physico-chimique de l'eau, du spectre d'émission de la lampe, de l'abattement souhaité, de la concentration initiale en micro-organismes.
- Le produit C.t dépend de la qualité physico-chimique de l'eau, de l'abattement souhaité, de la concentration initiale en micro-organismes. Il dépend également de la température de l'eau et du pH, alors que l'inactivation avec des rayonnements UV est indépendante de ces deux paramètres.

La dose de rayonnements UV nécessaire s'exprime en joules par mètre carré (J/m^2). Elle correspond au produit de l'énergie reçue (W/m^2) par le temps d'irradiation t (secondes), temps qui dépend du débit d'eau à traiter et de la taille du réacteur.

Dose d'exposition :

$$D = (P t / S)e^{-kx} \text{ (en } J/m^2)$$

avec :

P : puissance biocide de la source de rayonnements UV (en W),

S : surface émettrice de rayonnements UV (en m^2),

t : temps d'exposition d'un élément de volume (en s),

k : coefficient d'absorption des rayonnements UV de l'eau à traiter (en m^{-1}), ce coefficient varie de 2 à 10 m^{-1} (0,02 à 0,1 cm^{-1}) pour les eaux de consommation,

x : épaisseur de la lame d'eau (en m).

Illustration de l'efficacité

Les données décrites dans la littérature sont obtenues à partir de souches de laboratoire qui présentent des sensibilités différentes à celles des souches sauvages de l'environnement. En l'absence de protocoles standardisés pour la préparation et le dénombrement des micro-organismes, les résultats peuvent être variables entre les études. Toutefois, les essais d'inactivation sont menés dans des conditions de laboratoire avec un appareil à faisceau collimaté, le plus souvent équipé d'une lampe à basse pression. Le temps d'exposition associé à la mesure de l'énergie avec un radiomètre étalonné permet de déterminer la dose de rayonnements UV exprimée en J/m².

Tableau 1 : efficacité des rayonnements UV sur la réduction du nombre de bactéries cultivables (adapté à partir de Hijnen et al., 2006)

Bactéries	Amplitude des doses UV testées en J/m ²	Type de lampe	Réduction maximale en log
<i>Salmonella typhi</i>	20-100	BP	5,6
<i>Campylobacter jejuni</i>	5-60	BP	5,3
<i>Yersinia enterocolitica</i>	6-50	BP	5,0
<i>Shigella dysenteriae</i>	10-50	BP	5,9
<i>Shigella sonnei</i>	30-80	BP	4,7
<i>Vibrio cholerae</i>	6-40	BP	5,8
<i>Legionella pneumophila</i>	10-120	BP	4,4
<i>Legionella pneumophila</i>	5-30	BP	3,0
<i>Escherichia coli</i> 0:157	10-70	BP	5,5
<i>Escherichia coli</i>	10-150	BP	6,0
<i>Escherichia coli</i>	15-90	MP	5,2
<i>Streptococcus faecalis</i>	25-160	BP	4,6
<i>Bacillus subtilis</i> (spores)	50-780	BP	4,0
<i>Clostridium perfringens</i> (spores)	480-640	MP	3,0

Tableau II : Inactivation des virus (adapté de Hijnen et al., 2006)

Virus	Amplitude des doses de rayonnements UV testées en J/m ²	Type de lampe	Inactivation maximale en log
Poliovirus type 1	50-500	BP	5,4
Adénovirus sérotypes 2, 15, 40, 41	80-3060	BP	6,4
Adénovirus sérotype 40	80-1840	BP	3,0
Adénovirus sérotypes 2, 41	300-900	MP	4,3
Rotavirus SA-11	50-500	BP	4,1
Rotavirus SA-11	50-300	MP	4,6
Calicivirus félin, canin	40-490	BP	5,5
Calicivirus bovin	40-330	BP	5,7
Calicivirus bovin	20-150	MP	5,9
Hépatite A	50-280	BP	5,4
Coxsackie virus B5	50-400	BP	4,8

Tableau III : Inactivation des bactériophages par les UV (adapté de Hijnen et al., 2006)

Bactériophages	Amplitude des doses de rayonnements UV testées en J/m ²	Type de lampe	Inactivation maximale en log
MS2	50-1390	BP	4,9
MS2	120-460	MP	5,3
φX174	20-120	BP	4,0
PRD1	90-350	BP	3,8
B40-8	10-390	BP	5,6
T7	50-200	BP	4,6
Qβ	100-500	BP	4,2

Tableau IV : Inactivation de protozoaires (adapté de Hijnen et al., 2006)

Protozoaires	Amplitude des doses de rayonnements UV testées en J/m ²	Type de lampe	Inactivation maximale en log
<i>Cryptosporidium parvum</i>	5-61	MP	3,0
<i>Cryptosporidium parvum</i>	9-131	BP	3,0
<i>Giardia muris</i>	15-110	MP	2,4
<i>Giardia lamblia</i>	0,5-15	BP	2,5
<i>Acanthamoeba</i> spp.	430-1720	BP	4,5

Annexe 7 : Bonnes pratiques en matière de pompage d'eau de mer

Les préconisations en matière de bonnes pratiques de pompage en mer portent sur la connaissance de la qualité de l'eau au point de pompage, le lieu de pompage et la période de pompage. Bien que la saisine précise l'absence de maîtrise sur les prises d'eau actuellement utilisées, il convient de rappeler les recommandations de l'avis de l'Afssa de 2007 relatif à l'eau de mer propre pour les produits de la pêche.

Les exploitants devraient disposer des caractéristiques de leur ressource en eau de mer brute au niveau du point de pompage, à savoir :

- La composition de l'eau, notamment concernant la turbidité et *E. coli* ;
- L'évaluation des risques de dégradation de la qualité de l'eau ;
- La vulnérabilité de la ressource et les mesures de protection à mettre en place ;
- La justification des produits et procédés de traitement à mettre en œuvre avec la démonstration de l'innocuité et de l'efficacité au regard de la qualité de l'eau de mer à traiter en période normale et en période d'alerte REPHY et/ou REMI, voire en période d'épisodes pluvieux particuliers ;
- La description des installations de production et de distribution d'eau ;
- La description des modalités de surveillance de la qualité de l'eau.

Les recommandations du rapport de l'Anses relatif à la contamination de coquillages marins par le virus de l'hépatite A de septembre 2010 sont également à rappeler : « réaliser des études des sites conchylicoles permettant de mieux appréhender les profils de vulnérabilité. Mettre en œuvre la DCSMM (Directive cadre stratégie pour le milieu marin) dans le but d'atteindre une bonne qualité du milieu de vie des coquillages et d'avoir une meilleure connaissance des variations de qualité des prises d'eau utilisées pour l'alimentation des bassins ». Cette remarque rejoint le deuxième point des préconisations précédentes.

Concernant le lieu et la période de pompage, l'avis de l'Afssa de 2007 qui indique :

« Sauf exception dans le cas de conditions locales scientifiquement documentées, l'Afssa recommande de pomper de l'eau de mer en dehors des zones de rejets anthropiques, en profondeur (dans la colonne d'eau), en période de flux et non de reflux et en dehors de toute opération de dragage ou de forte tempête.

En conséquence, l'Afssa recommande de ne pas pomper l'eau de mer dans les zones fréquemment polluées par les contaminants chimiques comme les eaux estuariennes, les eaux portuaires et celles situées à proximité des installations industrielles. »

Quelques éléments sont également présentés dans le rapport de la FAO sur la purification des coquillages bivalves de 2010 :

« La salinité, la turbidité et l'importance de la contamination biologique peuvent varier avec les marées. L'eau de mer ne devrait être prélevée que lorsque sa salinité est correcte et quand sa turbidité et les contaminants microbiologiques sont à un niveau minimum. En général, la salinité est plus élevée dans les estuaires lors de la montée des eaux ou à marée haute et moindre lors du reflux et à marée basse. Lors des grandes marées, ces caractéristiques peuvent être encore plus fortes. Dans certains estuaires, on peut constater une stratification des eaux avec différentes salinités selon la profondeur, en particulier après des pluies. Pour cette raison, les conduites de pompage de l'eau devraient être placées largement en dessous de la surface (sans être pour autant directement en contact avec le fond marin car cela risquerait d'entraîner une introduction supplémentaire de matières solides en suspension). Les bouches d'entrée de l'eau devraient être protégées par une grille.

Par temps orageux, de bien plus grandes quantités de sédiments peuvent être observées dans l'eau de mer. Il est alors impossible de prélever une eau dont la qualité est satisfaisante.

Dans certaines zones, des précipitations abondantes peuvent faire chuter la salinité de l'eau des estuaires et provoquer une augmentation de la quantité de sédiments lessivés par les rivières. Les inondations dues aux orages ou les débordements des égouts peuvent en outre provoquer une forte augmentation de la quantité des contaminants microbiologique dans l'eau de mer. »