



Maisons-Alfort, le 11 juillet 2008

## AVIS

### de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à la pertinence de compléter le dispositif général de surveillance du milieu marin et des aliments mis sur le marché par la prise en compte de la microalgue épibenthique *Ostreopsis*

LA DIRECTRICE GÉNÉRALE

#### 1. RAPPEL DE LA SAISINE

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 20 juillet 2007 par la Direction des pêches maritimes et de l'aquaculture (DPMA), la Direction générale de l'alimentation (DGAI) et la Direction générale de la Santé (DGS) d'une demande d'appui scientifique et technique et d'avis relatifs à la consommation de produits de la mer en présence d'*Ostreopsis ovata*.

#### 2. CONTEXTE

Début août 2006, plusieurs cas d'irritation cutanéomuqueuse ont été rapportés à Marseille à la suite de baignades et de plongées sous marines. Les analyses d'eau de mer ont révélé l'efflorescence d'une microalgue de type *Ostreopsis cf.<sup>1</sup> ovata* dont l'apparition correspondait, du point de vue météorologique, à une période de chaleur.

Ce dinoflagellé épibenthique a déjà été décrit par ailleurs comme irritant chez l'homme par inhalation et par contact cutané, car il est capable de produire des composés fortement toxiques apparentés à la palytoxine (dits « palytoxine-like »). A Marseille, l'efflorescence de 2006 a entraîné la mortalité de certains organismes marins (oursins, concombres de mer) sans cause identifiée. *Ostreopsis* a pu être à l'origine de la mort des organismes marins herbivores (situés en début de chaîne trophique marine) soit par sa consommation, soit par action hémolytique des toxines ou encore par étouffement en lien avec la couche de mucilage produite par *Ostreopsis*. Chez l'homme, quelques cas d'intoxication consécutifs à la consommation de produits marins contaminés par de la palytoxine (ou des composés apparentés) ont été décrits dans la littérature, tels que ceux rapportés en zones tropicales après consommation de poissons herbivores et détritivores ou de crabes.

En anticipation de nouveaux épisodes de prolifération d'*Ostreopsis* sur les côtes méditerranéennes françaises, il convient de s'interroger sur les risques sanitaires liés à la consommation de produits de la mer (coquillages, crustacés et poissons) en présence de cette microalgue épibenthique.

#### 3. QUESTIONS POSEES

Il est demandé à l'Agence d'examiner les questions suivantes :

**Question 1 :** dans un premier temps, quelles sont les méthodes disponibles en France pour la détection dans les produits de la mer des toxines produites par *Ostreopsis ovata*, en particulier la palytoxine ? Quels seuils en toxines dans les produits de la pêche peuvent-être proposés ?

<sup>1</sup> cf. signifie que la correspondance exacte à l'espèce n'a pas été établie, malgré une très bonne ressemblance sur des critères morphologiques.

**Question II** : dans un deuxième temps,

1. Quelles recommandations d'évolution du dispositif général de surveillance du milieu marin et des aliments mis sur le marché (en particulier la pertinence d'inclusion de la surveillance *Ostreopsis ovata*) peuvent être proposées ?
2. Quelles études complémentaires seraient nécessaires pour mieux caractériser ce risque ?
3. Quelles sont les méthodes disponibles pour la détection dans les produits de la mer des toxines produites par les autres espèces toxigènes du genre *Ostreopsis* ?

Une première note d'appui scientifique et technique (AST 2007-SA-0227) a été transmise le 22 août 2007 en réponse à la question I. Le présent avis répond à la question II.

#### 4. METHODE D'EXPERTISE

L'expertise s'est appuyée sur les documents suivants :

- le document de travail de l'Ifremer sur la surveillance des micro-algues du genre *Ostreopsis* dans les eaux de baignade, secteur ville de Marseille pour la saison 2007, du 1<sup>er</sup> mars 2007 ;
- la note interne de l'Ifremer sur le protocole exploratoire de prélèvement d'espèces phytoplanctoniques épi-benthiques, en vue de leur dénombrement dans le cadre d'un réseau de surveillance, de mars 2007 ;
- la note de synthèse de l'Ifremer sur la présence d'*Ostreopsis* en Méditerranée et risques associés, version du 04 avril 2007 ;
- le projet de protocole de surveillance et d'intervention, pour prévenir l'apparition de cas humains liés à la présence d'*Ostreopsis cf. ovata* dans les eaux méditerranéennes, Version 4 du 21 mai 2007 ;
- le rapport Ifremer « Résultats de la surveillance de la qualité du milieu marin littoral, régions Provence-Alpes-Côte d'Azur et Corse », édition 2007 ;
- l'inventaire cartographique des points de prélèvement du REPHY, points actifs au 28 juillet 2006 ;
- les bulletins de diffusion des résultats de la surveillance d'*Ostreopsis sp.*, du 11 juillet 2007 ;
- les compte-rendu des réunions de la cellule d'aide à la décision « Surveillance des effets sanitaires liés à la présence d'*Ostreopsis cf. ovata* dans les eaux méditerranéennes, de juillet et août 2007 ;
- la note de l'InVS relative aux risques sanitaires liés à la présence d'*Ostreopsis cf. ovata* dans les eaux de baignades ou d'activités nautiques, du 31 juillet 2007 ;
- le projet MediOs 2 « Le développement des dinoflagellés toxiques du genre *Ostreopsis* sur le littoral de la Méditerranée nord occidentale : mise en évidence des zones à risque et première évaluation des impacts écologiques, sanitaires et socio-économiques » ;
- le document de prescription Ifremer « Cahier de Procédures et de Programmation REPHY 2008 », date d'application du 25 février 2008 ;
- la littérature scientifique accessible via les sources bibliographiques traditionnelles.

L'expertise s'est également appuyée sur une rencontre avec l'Ifremer de Toulon, de Nantes et le Laboratoire d'Océanographie de Villefranche (CNRS UMR 7093).

Le Laboratoire d'études et de recherche sur la qualité des aliments et les procédés agroalimentaires (LERQAP), Unité toxines, polluants organiques et pesticides a été associé à cette expertise, en tant que LNR biotoxines marines.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé « Résidus et contaminants chimiques et physiques » réuni le 02 juillet 2008, l'Afssa rend l'avis suivant.

## 5. PERTINENCE DE COMPLETER LE DISPOSITIF GENERAL DE SURVEILLANCE DU MILIEU MARIN ET DES ALIMENTS MIS SUR LE MARCHE PAR LA PRISE EN COMPTE DE LA MICROALGUE EPIBENTHIQUE *OSTREOPSIS*

Le phytoplancton est le terme utilisé pour désigner l'ensemble des algues microscopiques présentes en suspension dans les eaux. Celles qui sont fixées à la surface d'un substrat (macroalgues, rochers ou sédiments) sont appelées microalgues épiphytes ou épibenthiques.

La surveillance phytoplanctonique du milieu marin assurée par le REPHY<sup>2</sup>, peut être effectuée selon trois protocoles (d'après le cahier de prescriptions du REPHY du 29 février 2008):

- Les flores totales dénombrent l'ensemble des taxons (genre et/ou espèce) reconnaissables. Elles sont réalisées régulièrement sur toute l'année au niveau de 29 points de prélèvement d'eau de mer répartis sur l'ensemble du littoral français ce qui permet de disposer de profils temporels des populations phytoplanctoniques, d'observer des efflorescences exceptionnelles, de détecter et suivre les espèces toxiques connues, de détecter et suivre les espèces douteuses et d'assurer une vigilance sur les espèces émergentes.
- Les flores partielles indicatrices dénombrent une liste minimale obligatoire comprenant les taxons suivants (i) des genres toxiques pour le consommateur, connus sur nos côtes (*Alexandrium*, *Dinophysis*, *Pseudo-nitzschia*), quelle que soit leur concentration, (ii) toutes les espèces présentes à une concentration supérieure à 100 000 cellules par litre, toxiques ou non ; elles sont réalisées régulièrement sur toute l'année ou pendant la période de production de coquillages au niveau de 95 points de prélèvement d'eau de mer répartis sur l'ensemble du littoral français.
- Les flores partielles toxiques sont des flores simplifiées dénombrant uniquement les genres toxiques pour le consommateur, avec extension possible à 131 points supplémentaires.

Les observations phytoplanctoniques sont réalisées dans des échantillons d'eau de mer prélevés dans la colonne d'eau (à environ 1 mètre sous la surface). Seule la présence de phytoplancton flottant et des agrégats de microalgues épibenthiques qui se seraient détachés de leur substrat peut donc être mise en évidence.

Il est important de noter que **la surveillance ne concerne que les coquillages dans leur milieu naturel**, c'est-à-dire dans les zones de production (parcs, filières, bouchots, etc.) ou dans les zones de pêche professionnelle (sous réglementation française pour les gisements au large). **Les autres organismes marins (échinodermes, gastéropodes, crustacés, poissons) ne font donc pas l'objet d'une surveillance particulière vis-à-vis du risque phycotoxinique.**

Les quelques données ci-dessous soulignent l'intérêt de l'extension du dispositif général de surveillance du milieu à la prise en compte de la microalgue benthique *Ostreopsis*.

### 5.1 Les dinoflagellés toxiques épibenthiques

Les microalgues toxiques épibenthiques d'intérêt pour la salubrité alimentaire (en général des dinoflagellés) et leurs toxines sont les suivantes :

- *Gambierdiscus toxicus* : ciguatoxines, maïtotoxine, scaritoxine ;
- *Prorocentrum spp.* : acide okadaïque ;
- *Ostreopsis spp.* : molécules apparentées à la palytoxine (ostréocines dont l'ostrocine D, mascarenotoxines, ostreotoxine, ovatoxine-a).

Bien que ces microalgues soient considérées comme vivant habituellement dans les eaux chaudes tropicales, *Ostreopsis* a été détecté dès 1972 sur les côtes françaises

<sup>2</sup> Réseau de Surveillance du Phytoplancton et des Phycotoxines de l'Ifrémer

méditerranéennes, en l'occurrence à Villefranche-sur-Mer (Alpes-Maritimes). Mais depuis 5 ans, les efflorescences d'*Ostreopsis* sont plus fréquentes en Grèce, en Italie et en Espagne et sont apparues en France (Marseille, archipel du Frioul) en août 2006.

Plus précisément, deux espèces du genre *Ostreopsis* ont été identifiées sur les côtes françaises méditerranéennes : *O. cf. ovata* et *O. cf. siamensis*, toutes deux productrices de toxines de type palytoxine (*palytoxine-like*). Dès lors, il n'est pas nécessaire de recourir à une identification jusqu'au niveau de l'espèce (*ovata* ou *siamensis*), l'identification du genre *Ostreopsis* semble suffisante.

*Ostreopsis* est une algue microscopique (50 µm) épibenthique, c'est-à-dire non retrouvée sous forme libre dans l'eau (sauf à la faveur de l'agitation de la mer), mais préférentiellement à faible profondeur à la surface d'un substrat, tels que des macroalgues ou des rochers, sur lesquels elle peut former un mucilage (film visqueux).

Depuis 5 ans, les efflorescences d'*Ostreopsis* sont plus fréquentes en Grèce, en Italie et en Espagne et sont apparues en France (Marseille, archipel du Frioul) en août 2006.

## 5.2 *Ostreopsis* sur les côtes méditerranéennes françaises

En août 2006, des cas d'irritation cutanéomuqueuse ont été signalés au centre anti-poison (CAP) de Marseille. Dans le même temps, les analyses de l'Ifremer ont permis d'identifier et de suivre un épisode de prolifération d'une espèce du genre *Ostreopsis* dans la calanque du Morgiret, sur l'île du Frioul.

A cette occasion, une cellule de crise composée de la DGS<sup>3</sup>, de l'InVS, de l'Ifremer, du CAP de Marseille, de la Mairie de Marseille, de la Ddass-13 et de la Cire Sud a été créée afin de définir le dispositif sanitaire destiné à impliquer notamment les acteurs de première ligne susceptibles de détecter des cas humains (sauveteurs, surveillants, secouristes, plongeurs, médecins traitants, etc.). Le grand public a également été informé au moyen de dépliants et par la presse locale. Un seuil provisoire d'alerte de 4000 cellules d'*Ostreopsis*/litre a été retenu. Ce seuil correspond au niveau haut des observations portant sur une centaine de mesures échelonnées sur une dizaine d'années à Marseille, sans aucun effet sanitaire constaté. Le dépassement de ce seuil en août 2007 a conduit à une activation de cette cellule de crise.

En 2007, l'Ifremer a mis en place un suivi particulier d'*Ostreopsis* dans le cadre du réseau REPHY pour la région Provence-Alpes-Côte d'Azur concernant la surveillance de la flore totale (fréquence par quinzaine ou hebdomadaire en période à risque). *Ostreopsis* a également été recherché dans le cadre du contrôle de surveillance DCE<sup>4</sup> (prolongation de la campagne 2006 sur quelques stations, à fréquence mensuelle).

Pour la saison 2007, une surveillance spécifique dans les eaux de baignade a également été réalisée par l'Ifremer sur 3 stations de prélèvement pour la ville de Marseille et sur 2 stations en rade de Toulon. Ont été prélevés des échantillons de macroalgues et d'eau, dans la colonne d'eau à faible profondeur, durant les mois de juin à septembre inclus. Treize prélèvements ont été réalisés, à fréquence hebdomadaire en juillet et août et bihebdomadaire en juin et septembre.

Enfin, l'Ifremer a initié une action de recherche sur le risque *Ostreopsis* dans le cadre du programme « Gestion des Efflorescences Toxiques » :

- établissement d'une note de synthèse sur *Ostreopsis* ;
- identification génomique de quelques individus prélevés lors de l'épisode ;
- définition d'un protocole d'échantillonnage des microalgues benthiques ;
- essais de mise en culture ;
- contacts avec la communauté scientifique internationale concernée par le sujet.

<sup>3</sup> DGS : Direction générale de la santé ; CAP : Centre anti-poison ; InVS : Institut de veille sanitaire ; Ddass : Direction départementale des affaires sanitaires et sociales ; Cire : Cellules interrégionales d'épidémiologie.

<sup>4</sup> DCE : Directive cadre sur l'eau

## 6. ETUDES COMPLEMENTAIRES NECESSAIRES POUR MIEUX CARACTERISER LE RISQUE PAR VOIE ALIMENTAIRE

### 6.1 *Etat des connaissances sur le risque sanitaire lié à *Ostreopsis* par voie alimentaire*

Les conclusions de l'Afssa sont en accord avec celles de l'InVs (note du 31 juillet 2007) :

- aucune intoxication alimentaire liée à la présence d'*Ostreopsis* n'a été déclarée à ce jour en Europe (peut-être en lien avec la fermeture de zones de production conchylicole en Grèce, Italie, Espagne suite à un bioessai positif, relié à la présence d'*Ostreopsis*) ;
- 2 intoxications mortelles par voie alimentaire impliquant la palytoxine ont été décrites dans la littérature : aux Philippines après l'ingestion d'un crabe (qui se serait alimenté de corail *Palythoa*) et à Madagascar après l'ingestion de sardines (espèce locale vivant dans le canal du Mozambique) ;
- la liste des espèces comestibles susceptibles de concentrer la palytoxine ou ses analogues n'est pas connue à ce jour ;
- lors des efflorescences, si les moules, les patelles et les oursins semblent sensibles aux toxines ou au mucilage d'*Ostreopsis* (beaucoup de coquilles vides, perte des piquants...), les gastéropodes et les crabes ne seraient pas affectés (ce qui signifie que l'on ne peut pas distinguer ceux qui contiennent des toxines d'*Ostreopsis*).

Par ailleurs, Aligizaki *et al.* (2008<sup>5</sup>) ont récemment montré, pour la première fois, la bio-accumulation de composés de type palytoxine dans des coquillages (moules, praires) en période d'efflorescence d'*Ostreopsis sp.* survenue en Grèce orientale.

Il semble donc souhaitable d'initier une recherche permettant de comprendre les phénomènes de bio-accumulation de ces toxines lors d'efflorescences d'*Ostreopsis* dans les différents maillons de la chaîne trophique afin d'identifier les produits de la mer à risque pour l'homme (échinodermes, coquillages (bivalves et gastéropodes), crustacés, poissons), sur les côtes françaises méditerranéennes et d'Outre-Mer.

### 6.2 *Données analytiques nécessaires*

Comme précisé dans la note de l'Afssa du 22 août 2007, plusieurs méthodes biologiques et physico-chimiques ont été mises au point pour détecter la présence de composés du type palytoxine dans un extrait de micro-algues. Il s'avère nécessaire de poursuivre la mise au point et la validation de méthodes pour la détection et la quantification applicables aux matrices complexes que sont les échinodermes, les coquillages (bivalves et gastéropodes), les crustacés et les poissons.

### 6.3 *Données apportées par le Projet MediOs 2*

Le projet MediOs 2 « Le développement des dinoflagellés toxiques du genre *Ostreopsis* sur le littoral de la Méditerranée nord occidentale : mise en évidence des zones à risque et première évaluation des impacts écologiques, sanitaires et socio-économiques », qui a débuté en janvier 2008, est soutenu par le Ministère de l'Ecologie (dans le cadre de l'appel à proposition LITEAU III), le Conseil Général des Alpes-Maritimes ainsi que par l'Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée-Corse. Piloté par le Laboratoire d'Océanographie de Villefranche, UMR CNRS 7093, ce projet a pour objectif d'acquérir des connaissances concernant les conditions écologiques de développement des algues du genre *Ostreopsis* en Méditerranée et d'évaluer les risques sanitaires liés à leur présence.

<sup>5</sup> Aligizaki K., Katikou P., Nikolaidis G., Panou A., 2008. First episode of shellfish contamination by palytoxin-like compounds from *Ostreopsis* species (Aegean Sea, Greece). *Toxicon* 51: 418-427.

Les principales questions traitées dans ce projet sont les suivantes :

- Quelles sont les conditions écologiques qui favorisent le développement d'*Ostreopsis* en Méditerranée ? Quelles sont, par conséquent, les zones à risque sur le littoral méditerranéen français ?
- Quels sont les risques d'intoxications humaines directes (contact avec les microalgues, l'eau, les agrégats, les aérosols) ou indirectes (via la concentration des toxines dans la chaîne alimentaire) ?
- Avons-nous déjà eu des problèmes sanitaires liés au développement de cette microalgue durant les 15 dernières années sur le littoral français (étude épidémiologique) ?
- Quels pourraient être les impacts socio-économiques liés au développement de cette microalgue sur nos côtes ?
- Quelles sont précisément les espèces du genre *Ostreopsis* présentes sur nos côtes ?
- Quels sont les impacts d'*Ostreopsis* sur la faune et flore marines ?
- Comment et à qui diffuser les connaissances acquises dans ce projet pour gérer au mieux les potentiels problèmes liés au développement de cette microalgue ?

En cas d'efflorescence d'*Ostreopsis*, il est prévu que des échantillons représentatifs de poissons et d'invertébrés marins fassent l'objet d'analyses chimiques et biologiques afin d'établir une relation entre la présence de cette microalgue et l'accumulation des toxines produites dans la chaîne trophique.

A terme (décembre 2010), ce projet devrait permettre une meilleure connaissance du risque sanitaire lié à *Ostreopsis* et le développement d'un dispositif de surveillance adapté à cette microalgue.

#### 6.4 Autres données nécessaires

Sans attendre les données qui seront apportées par le projet MédiOs 2, il est nécessaire, en cas d'épisode toxique, que le LNR biotoxines marines et l'Ifremer conduisent des études afin d'identifier les produits de la mer comestibles (échinodermes, coquillages (bivalves et gastéropodes), crustacés, poissons) des côtes méditerranéennes françaises, susceptibles d'accumuler les toxines d'*Ostreopsis*. Des études devraient également être conduites en Outre-Mer où, à notre connaissance, aucune surveillance particulière d'*Ostreopsis* n'est assurée. Toutefois, le laboratoire de l'ARVAM (Association pour la Recherche et la Valorisation Marines) de La Réunion a mené plusieurs projets de recherche sur la base de la présence endémique d'*Ostreopsis mascarenensis* (Quod, 1994<sup>6</sup>) et la proximité de Madagascar, où se situe l'un des cas d'intoxication mortelle par voie alimentaire impliquant la palytoxine ou ses dérivés.

## 7. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

Sur la base des informations transmises par l'Ifremer, il apparaît qu'au niveau national, la surveillance phytoplanctonique réalisée par le REPHY selon le protocole « flores totales » serait en mesure de mettre en évidence la présence d'*Ostreopsis*, dès lors que cette microalgue est présente dans la colonne d'eau. Toutefois, l'Afssa indique que seule l'analyse flore totale faite en temps réel peut être utilisée à des fins sanitaires.

Selon le cahier de procédures du REPHY 2008, l'observation de concentrations supérieures à quelques centaines ou milliers de cellules par litre doit faire l'objet d'une procédure d'alerte particulière, notamment concernant les modalités de prélèvement des espèces benthiques telles qu'*Ostreopsis* (échantillons de macro-algues et d'eau dans la colonne d'eau à faible profondeur). *Ostreopsis* se développant de façon privilégiée à quelques dizaines de cm de profondeur, il n'est pas assuré que ces prélèvements du REPHY soient adaptés à la recherche de microalgues épibenthiques.

<sup>6</sup> Quod, J.P. 1994. *Ostreopsis mascarenensis* sp. Nov (*Dinophyceae*) dinoflagellé toxique associé à la ciguatera dans l'Océan Indien. *Cryptogamie Algol.* 15 : 243-251.

En conséquence, l'Afssa estime qu'une surveillance spécifique d'*Ostreopsis* sur les côtes méditerranéennes françaises devrait être mise en place.

La surveillance initiée par l'Ifremer en 2007 dans le cadre du REPHY pour la région Provence-Alpes-Côte d'Azur devrait être reconduite, élargie à l'ensemble des côtes méditerranéennes françaises et complétée car les zones d'échantillonnage ne sont pas adaptées au suivi sanitaire en lien avec le risque alimentaire. Elles sont en effet limitées aux zones de baignade. La surveillance devrait donc inclure des prélèvements d'échantillons (eau + macroalgues) représentatifs des zones de production de coquillages, des oursinières et des zones de pêches de loisir (coquillages, échinodermes et poissons).

Le dispositif de surveillance impliquant les acteurs de première ligne susceptibles de détecter des cas humains (sauveteurs, surveillants, secouristes, plongeurs, médecins traitants, centre anti-poison, etc) et l'information du grand public devrait également être maintenu.

L'Afssa recommande également la réalisation d'études visant à identifier les produits de la mer susceptibles d'accumuler les toxines d'*Ostreopsis*.

Les résultats de ces études permettront notamment de déterminer si les plans de surveillance mis en place par la DGAI doivent être complétés.

Concernant la demande relative à un état de l'art des méthodes de détection dans les produits de la mer des toxines produites par les autres espèces toxigènes du genre *Ostreopsis*, les deux espèces identifiées en Méditerranée, à savoir *Ostreopsis cf. ovata* et *Ostreopsis cf. siamensis*, sont toutes les deux productrices de toxines de type palytoxine. Aucune méthode ne permet de détecter, en routine, les autres toxines produites par *Ostreopsis*. Dès lors, il n'est pas possible d'apporter des compléments à la note d'appui scientifique et technique de l'Afssa du 22 août 2007.

En ce sens, l'Afssa encourage la poursuite des études engagées par l'Ifremer pour caractériser la toxicité des autres ostréocines détectées dans les échantillons d'*Ostreotopsis cf. ovata* prélevés en juillet 2007 au large de Marseille.

Enfin, compte tenu du fait que la présence d'*Ostreopsis* est souvent associée, en zone tropicale, à celle d'autres espèces de microalgues épibenthiques toxiques, telles que *Prorocentrum lima* (producteur d'acide okadaïque) et *Coolia monotis* (producteur de cooliatoxine, analogue des yessotoxines), il serait utile de procéder à un recensement des espèces de microalgues épibenthiques sur les côtes françaises (méditerranéennes et d'Outre-Mer).

## 8. MOTS CLES.

Microalgues épibenthiques, *Ostreopsis*, phycotoxines, palytoxine, biotoxines marines.

Pascale BRIAND