



Maisons-Alfort, le 14 novembre 2008

## AVIS

### de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à la maîtrise du risque phycotoxinique dans les pectinidés par la mise en place d'une filière d'éviscération

LA DIRECTRICE GÉNÉRALE

#### 1. RAPPEL DE LA SAISINE

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 21 janvier 2008 par la Direction des pêches maritimes et de l'aquaculture (DPMA) et la Direction générale de l'alimentation (DGAI) d'une demande d'appui scientifique et technique relatif à la maîtrise du risque phycotoxinique dans les pectinidés par la mise en place d'une filière d'éviscération.

#### 2. CONTEXTE

Comme tous les coquillages et spécialement les filtreurs, les pectinidés sont sensibles à la contamination par des phycotoxines (toxines produites par du phytoplancton marin). Sur le territoire français, la production de pectinidés est essentiellement le fruit de la pêche dans des gisements naturels, situés principalement au large des côtes. Ces dernières années, des contaminations phycotoxiques de ces coquillages ont été constatées, aussi bien par le biais de la surveillance de zones de production que sur des produits mis sur le marché.

Le règlement (CE) n°854/2004 du 29 avril 2004 fixe les règles spécifiques d'organisation des contrôles officiels concernant les produits d'origine animale destinés à la consommation humaine et s'applique à ce titre à la présence de phycotoxines dans les coquillages.

Le règlement (CE) n°853/2004 du 29 avril 2004 fixe les valeurs seuils en toxines amnésiantes (ASP), paralysantes (PSP) et lipophiles (acide okadaïque, dinophysistoxines, pecténotoxines, yessotoxines et azaspiracides) au-delà desquelles les coquillages sont considérés comme impropres à la consommation. Ce règlement offre la possibilité de mettre sur le marché les seules parties comestibles des coquillages dont il est avéré qu'elles ne dépassent pas les normes sanitaires (alors même que les analyses sur la chair totale peuvent les dépasser).

Suite à des épisodes récurrents de contamination de gisements de pectinidés en Écosse par des toxines ASP, la Commission a adopté la décision 2002/226/CE, autorisant la commercialisation sous certaines conditions de 2 espèces de coquilles Saint-Jacques (*Pecten maximus* et *Pecten jacobaeus*) lorsque les teneurs en phycotoxines dans la chair totale dépassent les seuils autorisés. Les produits destinés à la consommation sont alors constitués des muscles adducteurs et/ou des gonades. Les parties dans lesquelles se concentrent les toxines doivent être enlevées (glande digestive principalement, barbes<sup>1</sup> et manteaux). L'autorisation de récolte dans ces conditions s'accompagne de mesures très strictes de contrôle :

- la teneur en acide domoïque dans les coquillages doit être inférieure à 250 mg/kg dans la chair totale et inférieure à 4,6 mg/kg dans les parties destinées à être commercialisées dans les conditions de cette décision ;
- la canalisation des produits doit être strictement encadrée par les services de contrôle de la pêche et à la mise sur le marché ;
- chaque lot de produit final doit être analysé afin de prouver qu'il est propre à la consommation humaine (la teneur doit être inférieure à 20 mg/kg).

Cette décision a été prise sur la base de données scientifiques et n'a pour l'instant été étendue ni à d'autres espèces de pectinidés ni à d'autres phycotoxines.

<sup>1</sup> Barbes : bords externes du manteau des pectinidés  
ASP : phycotoxines amnésiantes ; PSP : phycotoxines paralysantes

### 3. QUESTIONS POSEES

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

**Question I :** Serait-il possible d'étendre le dispositif mis en place par la décision 2002/226/CE pour 2 espèces de coquilles Saint-Jacques en cas de contamination par des toxines amnésiantes aux autres familles de toxines (toxines lipophiles ou paralysantes), afin de mettre sur le marché des produits propres à la consommation (produits éviscérés), malgré une contamination du produit (chair totale) dans le milieu de production? Notamment, est-il nécessaire de mettre en place un seuil à la récolte similaire au seuil de 4,6 mg/kg en acide domoïque pour les toxines amnésiantes dans les parties destinées à être commercialisées?

**Question II :** Serait-il possible d'étendre ces mesures (toxines lipophiles, amnésiantes, paralysantes) à l'ensemble des pectinidés produits en France et notamment aux pétoncles, sous réserve que les conditions techniques puissent permettre d'enlever l'hépatopancréas en routine?

**Question III :** La congélation de coquillages pêchés dans l'attente de leur traitement par éviscération est-elle de nature à entraîner un risque supplémentaire (transfert de toxines dans la chair, éclatement de l'hépatopancréas lors de la congélation...)?

**Question IV :** Pourrait-il être envisageable, sans entraîner de risque supplémentaire, de conserver des coquillages avant traitement dans de l'eau propre, caractérisée comme telle, compte tenu de sa teneur en algues toxiques?

**Question V :** En cas d'analyse (autocontrôle ou contrôle officiel) réalisée sur un lot mis sur le marché (venant de la production française ou importée), quel plan d'échantillonnage permet de s'assurer de sa conformité ou de sa non-conformité ? Les dispositions s'appliquant à la recherche des contaminants de l'environnement (notamment les règlements (CE) n°1883/2006 et 333/2007) peuvent-elles s'appliquer pour la recherche de phycotoxines dans les coquillages en général et dans les pectinidés en particulier? Le même plan d'échantillonnage peut-il être utilisé en cas de doute sur la conformité d'un lot (par exemple, pour statuer sur sa conformité lorsqu'une analyse portant sur un sous-lot a rendu un résultat non conforme ou, à l'inverse, pour statuer sur la conformité de sous-lots constituant un lot lorsqu'un résultat défavorable a été obtenu sur ce lot)?

**Question VI :** Si les lots de pectinidés (chair totale) sont non-conformes par rapport aux toxines lipophiles, amnésiantes et paralysantes, dans quelles conditions l'éviscération permettra-t-elle d'éliminer le risque (plan d'échantillonnage) avant la mise sur le marché des produits?

### 4. METHODE D'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée au sein des services compétents de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments, à savoir :

- l'Unité toxines, polluants organiques et pesticides (TOP) du Laboratoire d'études et de recherche sur la qualité des aliments et les procédés agroalimentaires (LERQAP) ;
- l'Unité d'évaluation des risques physico-chimiques (JERPC) de la Direction de l'évaluation des risques nutritionnels et sanitaires (DERNS) ;
- l'Unité d'appréciation quantitative du risque et épidémiologie en microbiologie et santé animale (AQR-MSA) de la DERNS.

L'expertise s'est appuyée sur les informations scientifiques et réglementaires disponibles dans la littérature (cf. bibliographie) et sur les données transmises par l'Ifremer<sup>2</sup> :

- données de contamination par les azaspiracides et/ou l'acide okadaïque des pétoncles et coquilles Saint-Jacques sur le littoral français, obtenues dans le cadre du REPHY<sup>1</sup> ;
- note de synthèse bibliographique concernant la contamination des coquilles Saint-Jacques par l'acide okadaïque et les dinophysistoxines.

<sup>2</sup> Ifremer : Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer ; REPHY : Réseau de surveillance du phytoplancton et des phycotoxines, mis en place par l'Ifremer.

**5. QUESTION 1**

**Rappel de la Question 1 :** *Serait-il possible d'étendre le dispositif mis en place par la décision 2002/226/CE pour 2 espèces de coquilles Saint-Jacques en cas de contamination par des toxines amnésiantes aux autres familles de toxines (toxines lipophiles ou paralysantes), afin de mettre sur le marché des produits propres à la consommation (produits éviscérés), malgré une contamination du produit (chair totale) dans le milieu de production? Notamment, est-il nécessaire de mettre en place un seuil à la récolte similaire au seuil de 4,6 mg/kg en acide domoïque pour les toxines amnésiantes dans les parties destinées à être commercialisées?*

Le dispositif mis en place dans le cadre de la décision de la Commission 2002/226/CE du 15 mars 2002 concerne exclusivement l'acide domoïque et les coquilles Saint-Jacques appartenant aux espèces *Pecten maximus* et *Pecten jacobaeus*. Il est donc demandé à l'Afssa de déterminer si un dispositif similaire pourrait s'appliquer aux toxines lipophiles et aux toxines paralysantes pour ces 2 espèces uniquement.

Il convient tout d'abord de souligner le faible nombre d'études disponibles portant sur la distribution des toxines lipophiles et paralysantes dans les 2 espèces de coquilles Saint-Jacques visées par la demande.

**Concernant les toxines lipophiles**

Quelques études ont fait état de la présence d'azaspiracides (AZA) dans les coquilles Saint-Jacques *Pecten maximus* (Brana Magdalena *et al.*, 2003a ; Furey *et al.*, 2003). Brana Magdalena *et al.* (2003b) ont rapporté que la glande digestive de ces coquilles Saint-Jacques concentre une grande partie des AZA (85%) mais pas la totalité, des concentrations en toxines plus faibles étant retrouvées dans les autres organes.

Une étude de contamination expérimentale de coquilles Saint-Jacques canadiennes *Argopecten irradians* en utilisant des cultures de *Prorocentrum lima* productrices de toxines lipophiles (acide okadaïque (AO), dinophysistoxine-1 (DTX-1)) a observé la répartition suivante : glande digestive (76 %), gonade (12 %), muscle (4 %), manteau (4 %), branchies (4 %) (Bauder *et al.*, 1996).

Une distribution similaire des AZA a été décrite chez d'autres coquillages que les 2 coquilles Saint-Jacques visées par la demande, à savoir les moules *Mytilus edulis* (Flanagan *et al.*, 2000 ; James *et al.*, 2002a, 2002b). Hess *et al.* (2005) ont ainsi constaté que la concentration en AZA est 5 fois plus élevée dans la glande digestive que dans la chair totale de moules originaires d'Irlande et de Norvège.

**Concernant les toxines paralysantes**

Une étude expérimentale menée par Lassus *et al.* (1996) a montré que lors d'une exposition de coquilles Saint-Jacques *Pecten maximus* à une culture d'*Alexandrium tamarense* toxino-gène, les toxines paralysantes s'accumulent principalement dans la glande digestive, puis dans une moindre mesure dans les gonades et le muscle adducteur (respectivement, 2 620, 148 et moins de 50 µg éq STX/100 g).

Concernant les autres espèces *Patinopecten yessoensis* et *Placopecten magellanicus*, les teneurs en toxines les plus élevées sont également retrouvées dans la glande digestive (Lassus *et al.*, 1996).

Une revue de synthèse menée par Shumway et Cembella (1993) sur les pectinidés du genre *Pecten* conclut également à une accumulation majoritaire dans la glande digestive. Ils observent que la teneur en toxines dans les gonades est corrélée à celle dans la glande digestive mais ils ne retrouvent pas cette corrélation concernant la teneur dans le muscle adducteur (noix).

Après l'arrêt de l'exposition, une dépuración s'opère, avec une diminution de la teneur en toxines dans la glande digestive, les gonades et le muscle adducteur mais une augmentation dans les reins<sup>3</sup>, où les toxines peuvent être transformées en composés plus toxiques. Les reins conservent une teneur élevée en toxines même après 20 jours. Les auteurs soulignent que les

<sup>3</sup> Chez les pectinidés, les deux reins sont de petites tailles et de couleur brune, formant des sacs aplatis contre la partie antérieure du muscle adducteur. Les reins se vident dans la cavité du manteau à travers de larges fentes.

reins sont souvent présents dans les coquilles Saint-Jacques commercialisées « éviscérées » sur les marchés (Lassus *et al.*, 1996).

### **Conclusion**

Concernant les toxines lipophiles et les toxines paralysantes, les données très limitées sur l'espèce *Pecten maximus* semblent indiquer une distribution des toxines majoritairement dans la glande digestive. Néanmoins, certaines données de contamination par des toxines paralysantes montrent que les reins peuvent être encore présents après l'éviscération. Or, cet organe conserve une teneur élevée en toxines, même 3 semaines après l'arrêt de l'exposition.

Aucune donnée n'est actuellement disponible concernant l'espèce *Pecten jacobaeus*.

En conséquence, il n'est actuellement pas possible d'établir une corrélation fiable entre les teneurs en toxines dans la glande digestive et celles dans les parties éviscérées (gonades, muscle et rein) qui permettrait de déterminer, comme cela a été le cas pour l'acide domoïque, des conditions particulières de prélèvements et de traitement (éviscération) de ces coquillages en cas de dépassement des seuils réglementaires en toxines lipophiles ou en toxines paralysantes, permettant d'assurer un niveau de sécurité satisfaisant pour le consommateur.

Le seuil à la récolte de 4,6 mg/kg a été spécifiquement déterminé pour l'acide domoïque, sur la base de données de contamination et ne peut en aucun cas être transposable aux toxines lipophiles ni aux toxines paralysantes. En effet, celles-ci ont des seuils de salubrité respectivement de 800 µg éq STX/kg et de 160 µg éq AO/kg, bien inférieurs à celui de l'acide domoïque (20 mg/kg).

Comme cela a été proposé par la DGAI et la DPMA, il serait souhaitable de profiter de la survenue de nouveaux épisodes phycotoxiques pour mener des études expérimentales de ce dispositif d'éviscération chez les 2 espèces de coquilles Saint-Jacques visées et acquérir un nombre suffisant de données pour valider des seuils à la récolte permettant de garantir la sécurité du consommateur pour les toxines lipophiles et pour les toxines paralysantes.

## **6. QUESTION 2**

**Rappel de la Question II :** *Serait-il possible d'étendre ces mesures (toxines lipophiles, amnésiantes, paralysants) à l'ensemble des pectinidés produits en France et notamment aux pétoncles, sous réserve que les conditions techniques puissent permettre d'enlever l'hépatopancreas en routine?*

Les données expérimentales transmises par l'Ifremer concernant les teneurs en toxines lipophiles (acide okadaïque, dinophysistoxines et azaspiracides) dans des pétoncles (espèce non précisée) prélevées au large de Roscoff en octobre et novembre 2006 montrent une accumulation préférentielle de ces toxines dans la glande digestive, avec des concentrations supérieures au seuil sanitaire pour les azaspiracides. En revanche, la concentration en toxines dans la chair totale, le muscle ou la chair restante est largement inférieure aux seuils réglementaires.

Sur la base de ces données uniquement, il n'apparaît donc pas nécessaire de procéder à l'éviscération des pétoncles, dans la mesure où les seuils réglementaires pour la chair totale ne sont pas dépassés.

Il serait souhaitable de disposer de davantage de données expérimentales pour les toxines lipophiles, paralysantes et amnésiantes afin d'avoir une image plus représentative du niveau de contamination des pétoncles et des autres pectinidés sur le littoral français et pouvoir juger de l'opportunité de mettre en place une procédure d'éviscération.

Dans le but de cibler ce travail de collecte de données de contamination, il conviendrait que la DGAI fournisse, dans un premier temps, la liste des espèces de pectinidés produites et commercialisées en France sous la dénomination « pétoncles ».

## 7. QUESTION 3

**Rappel de la Question III :** *La congélation de coquillages pêchés dans l'attente de leur traitement par éviscération est-elle de nature à entraîner un risque supplémentaire (transfert de toxines dans la chair, éclatement de l'hépatopancréas lors de la congélation...)?*

Plusieurs aspects sont à considérer pour apporter des éléments de réponse :

- les effets de la congélation/décongélation sur l'intégrité physique de la matrice coquillage ;
- la stabilité des phycotoxines lors de la congélation ;
- les effets de la congélation sur les acides gras libres et leur impact en matière de détection des toxines.

### **Concernant les effets de la congélation/décongélation sur l'intégrité physique de la matrice coquillage**

Les conditions de congélation impactent sur l'intégrité physique de la matrice via la formation de cristaux de glaces susceptibles de cisailer les chairs. En effet, lorsque la congélation est lente, le nombre de cristaux formés est relativement faible et ces derniers grossissent progressivement, pouvant atteindre plusieurs millimètres. Ils peuvent ainsi avoir une action mécanique sur la matrice en la cisillant. En revanche, lors d'une congélation rapide, les cristaux sont plus nombreux mais de plus petite taille, préservant davantage la structure physique de la matrice.

Il est important de bien respecter la chaîne du froid car les variations de température peuvent entraîner une fonte partielle des cristaux de glace. L'eau ainsi libérée dans la matrice va se fixer sur les cristaux restants, lesquels vont augmenter en taille mais pas en nombre, accentuant le risque d'altération de la structure de la matrice.

La cinétique de décongélation est également importante dans la mesure où elle est susceptible d'accentuer les éventuels dommages causés lors de la congélation. En effet, lorsque la décongélation est lente, l'eau libérée suite à la fonte des cristaux va pouvoir regagner progressivement la place qu'elle occupait dans les tissus. Par contre, dans le cas d'une décongélation rapide, l'eau libérée n'a pas le temps de regagner sa position d'origine et exsude.

Il n'y a pas à notre connaissance de donnée bibliographique concernant l'impact de l'altération de la structure des coquillages lors de la congélation sur la migration des toxines d'un tissu à l'autre. Cependant, il est concevable que durant la congélation, la structure des tissus fortement contaminés en toxines soit altérée et que par conséquent, le déplacement d'eau lié à la fonte des cristaux lors de la décongélation soit susceptible d'entraîner une migration des toxines vers les tissus voisins. L'importance de ce phénomène sera fonction des niveaux de contamination et probablement de la nature des toxines (liposolubles ou hydrosolubles) ainsi que de leur « degré » de fixation au niveau de la matrice (biodisponibilité). Il conviendrait d'encourager la réalisation de travaux visant à étudier ces phénomènes afin de disposer de données expérimentales.

Différentes études ont montré que le phénomène de congélation s'accompagne d'une déshydratation de surface des tissus, phénomène de sublimation qui est fonction des caractéristiques de la matrice mais également des conditions ambiantes et qui conduit à une perte de masse de la matrice (Campaneone *et al.* 2001 ; Campaneone *et al.* 2005 ; Olguin *et al.* 2008).

La perte d'eau consécutive aux conditions de stockage a également été observée par Smith *et al.* (2006) mais pour des températures plus élevées (entre 5 et 12°C). En effet, ces auteurs rapportent que pour des températures croissantes, la perte en eau des coquilles Saint-Jacques *Pecten maximus* durant le stockage s'accompagne de l'augmentation de la teneur en acide domoïque. On peut donc émettre l'hypothèse que lors d'un stockage à des températures négatives, la perte d'eau résultant de la sublimation pourrait entraîner une augmentation de la teneur en acide domoïque dans les coquilles Saint-Jacques *Pecten maximus*.

Bien que cela n'ait pas été testé pour les autres toxines marines, on peut raisonnablement penser que le phénomène soit similaire ; cela mériterait néanmoins d'être vérifié.

Il est important de préciser que si la déshydratation des tissus entraîne une augmentation de la concentration (mais pas de la quantité) en toxine, cela peut également avoir d'autres conséquences. En effet, Smith *et al.* (2006) rapportent que du fait de la perte en eau, l'acide domoïque est plus fortement lié à la matrice et devient moins extractible, un phénomène

également observé par le National Research Council du Canada pour des matériaux de référence certifiés d'acide domoïque stockés « longtemps » (pas d'information concernant le temps de stockage). En terme d'impact au niveau sanitaire, cela soulève la question de la biodisponibilité de la toxine dans l'organisme après stockage, aspects qui sont largement méconnus pour les toxines marines.

#### **Concernant la stabilité des toxines lors de la congélation**

Les données bibliographiques relatives à la stabilité des toxines lors de la congélation de coquillages ont souvent été obtenues pour des coquillages autres que des pectinidés, néanmoins on peut s'attendre à ce que la tendance observée soit similaire.

- **Acide domoïque** : pour des températures de congélation de -15 et -40°C, Vale *et al.* (2002) ont observé une légère baisse de la teneur en acide domoïque dans un échantillon de palourde *Venerupis pallustra* (de l'ordre de 10%) après un mois de stockage. En revanche, aucune variation de la concentration en cette toxine n'a été rapportée par McCarron *et al.* (2007) pour un matériau de référence préparé à partir de moules *Mytilus edulis* et conservé à -20°C pendant 240 jours.
- **Toxines lipophiles** : l'étude réalisée sur un matériau de référence préparé à partir de moules *Mytilus edulis* et conservé à -20°C a confirmé la stabilité de l'acide okadaïque, de la dinophysistoxine-2 et des azaspiracides-1 à 3 pendant 240 jours (McCarron *et al.*, 2007).
- **Toxines paralysantes** : ces toxines sont connues pour être sensibles aux conditions de pH. Indrasena et Gill (2000) ont rapporté que si ces toxines sont plus stables à pH 3 qu'à pH 7, cela fait surtout une différence pour des températures de stockage de +5 et +25°C. En revanche une étude réalisée sur un homogénat de coquilles Saint-Jacques naturellement contaminées stocké à -35°C a montré la stabilité du couple analyte / matrice sur une période de 12 mois.

Globalement, il apparaît qu'au vu des connaissances actuelles, les toxines marines sont relativement stables lors de la congélation.

#### **Concernant les effets de la congélation sur les acides gras libres et leur impact en matière de détection des toxines**

Fukushi *et al.* (2003) ont rapporté que la conservation à -20 et -45°C pendant 30 jours de coquilles Saint-Jacques *Patinopecten yessoensis* s'accompagne d'une augmentation de la teneur en acides gras libres (AGL), due à l'hydrolyse enzymatique des triglycérides. La teneur en AGL est plus importante à -20 qu'à -45°C et augmente en fonction du temps de stockage.

Or, certaines études ont montré que les AGL sont susceptibles d'interférer lors du bio-essai sur souris utilisé comme méthode de référence pour les toxines lipophiles (Takagi *et al.*, 1984 ; Lawrence *et al.*, 1994 ; Suzuki *et al.*, 1996).

Si cette variation de la teneur en AGL dans les coquilles Saint-Jacques n'a pas d'incidence en soi sur la santé humaine, cela peut donner lieu à de faux positifs dans le cadre du bio-essai sur souris et au retrait de produits ne présentant pas de risques sanitaires pour le consommateur.

## **8. QUESTION 4**

**Rappel de la Question IV** : *Pourrait-il être envisageable, sans entraîner de risque supplémentaire, de conserver des coquillages avant traitement dans de l'eau propre, caractérisée comme telle, compte tenu de sa teneur en algues toxiques?*

Des travaux menés par Novaczek *et al.* (1991) ont montré que lorsque des moules *Mytilus edulis* sont exposées à de l'acide domoïque sous forme dissoute dans l'eau ou encapsulée dans des liposomes, les niveaux accumulés ne sont pas les mêmes. En effet, seul 1% de la fraction dissoute est retrouvée dans le coquillage contre 6% dans le cas de liposomes. De plus, la répartition de la toxicité diffère selon la forme de la toxine (dissoute ou encapsulée). Dans le cas de la forme dissoute, la toxine se concentre dans les branchies et les reins. La toxine administrée sous forme encapsulée s'accumule dans la glande digestive et les reins.

Cette étude illustre le fait que la voie principale de contamination des moules *Mytilus edulis* par l'acide domoïque est l'alimentation (consommation de microalgues toxigènes). Le risque de contamination lié à la présence de toxine sous forme dissoute dans l'eau est moindre. Des résultats similaires ont été observés pour certaines toxines lipophiles dans le cadre du projet BIOTOX du 6<sup>ème</sup> PCRD (données non publiées à ce jour). En effet, une étude *in situ* de suivi de la contamination des moules *Mytilus edulis* par l'acide okadaïque et la dinophysistoxine-2 sur la côte Ouest de l'Irlande a montré qu'après la disparition des cellules de *Dinophysis* dans l'eau, l'accumulation de ces toxines dans les coquillages s'est arrêtée alors que les toxines étaient encore présentes sous forme dissoute, comme attesté par l'utilisation d'échantillonneurs passifs. Il semblerait donc que dans le cas des toxines du groupe de l'acide okadaïque, la source principale de contamination soit également l'alimentation.

Ces données, bien que parcellaires, tendent à montrer que l'utilisation d'eau de mer propre pourrait être une option à considérer pour la conservation des coquillages vivants. Toutefois, il convient de rappeler qu'aucune définition n'est actuellement disponible, que ce soit au niveau national ou international, pour qualifier une eau de mer de « propre ».

Dans son avis du 26 juillet 2007 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, l'Afssa a estimé que l'eau de mer devrait faire l'objet d'un traitement adapté à la qualité de la ressource, comportant les trois étapes suivantes :

- une étape de rétention des particules et colloïdes pour obtenir une turbidité < 0,5 NFU après traitement, garantissant l'efficacité du traitement appliqué (ex : clarification) ;
- une étape d'adsorption destinée à retenir les contaminants chimiques (ex : charbon actif) ;
- une étape de désinfection visant à éliminer les contaminants microbiologiques (ex : UV) ;

ces étapes permettant *in fine* d'assurer la sécurité sanitaire des consommateurs de produits de la pêche.

Concernant le risque phycotoxique, aucun traitement n'étant actuellement disponible pour retenir ou éliminer efficacement les toxines marines, l'Afssa a recommandé de suspendre le pompage de l'eau de mer en cas de dépassement des seuils d'alerte REPHY au point de surveillance phytoplanctonique représentatif du point de pompage.

Récemment, un système de pompage de l'eau de mer ayant pour but de récupérer les toxines piégées sur une résine a été mis au point par Rundberget *et al.* (2007). Il ne s'agit pas d'un système de purification de l'eau de mer proprement dit puisque son objectif est de recueillir des toxines afin de préparer des échantillons contaminés mais il serait intéressant de s'inspirer de ces travaux afin d'étudier la faisabilité de l'utilisation de filtres à base de résines capables de piéger les toxines présentes dans l'eau avant d'alimenter les bassins de stockage des coquillages.

## 9. QUESTION 5

**Rappel de la Question V :** *En cas d'analyse (autocontrôle ou contrôle officiel) réalisée sur un lot mis sur le marché (venant de la production française ou importée), quel plan d'échantillonnage permet de s'assurer de sa conformité ou de sa non-conformité ? Les dispositions s'appliquant à la recherche des contaminants de l'environnement (notamment les règlements (CE) n°1883/2006 et 333/2007) peuvent-elles s'appliquer pour la recherche de phycotoxines dans les coquillages en général et dans les pectinidés en particulier? Le même plan d'échantillonnage peut-il être utilisé en cas de doute sur la conformité d'un lot (par ex, pour statuer sur sa conformité lorsqu'une analyse portant sur un sous-lot a rendu un résultat non-conforme ou, à l'inverse, pour statuer sur la conformité de sous-lots constituant un lot lorsqu'un résultat défavorable a été obtenu sur ce lot) ?*

Il convient de distinguer les lots de coquillages issus de la production française de ceux importés. Dans le premier cas, il s'agit généralement d'animaux frais, tandis que dans le second cas, les animaux sont le plus souvent congelés entiers ou déjà éviscérés.

Concernant les lots de coquillages issus de la production française, il convient de rappeler que la procédure d'échantillonnage générale des pectinidés dans le cadre des plans de surveillance (en dehors du cas particulier de l'éviscération et de la gestion des zones non-conformes) a été traitée

dans la note de l'Afssa en réponse à la saisine 2007-SA-0009, qui vous a été transmise le 28 avril 2008, répondant ainsi aux deux premières sous-questions de la question 5.

La troisième sous-question traite de la notion de sous-lot. Selon la DGAI, la notion de sous-lot correspond à la gestion de petits lots d'origines différentes transportés ensemble, dans un même camion par exemple. Comme cela est indiqué dans la note de réponse à la saisine 2007-SA-0009, la notion de lot, en matière de risque phycotoxinique, doit concerner :

- une seule espèce de coquillage,
- une seule origine,
- et le même moment de sortie de l'eau.

S'il y a connaissance à priori par l'agent préleveur de petits lots de différentes origines, il s'agit en fait de lots différents et il ne peut y avoir de définition de sous-lot, car il s'agit en fait d'un mélange de populations de risque différent.

Concernant les lots de coquillages importés, une étude a été menée par Fremy *et al.* (1993) sur une cargaison de coquilles Saint-Jacques (*Patinopecten yessoensis*) importées en France en provenance d'Asie et constituée de muscles et de gonades congelées en sachets de 1 kg. Cette étude a montré une grande variation de la contamination en toxines paralysantes d'un sac à l'autre et d'un animal à l'autre à l'intérieur d'un même sac. Une analyse des muscles et gonades pris individuellement a montré une différence de contamination notable entre ces deux organes pour certains animaux et inexistante pour d'autres animaux. Cette dernière observation pourrait être expliquée soit par un transfert *post mortem* et avant éviscération entre les deux organes soit par la présence des reins restés accolés aux muscles lors de l'éviscération de certains animaux.

La notion d'hétérogénéité intra-lot (issu d'une même origine) et du nombre de prises d'essais à effectuer pour un même lot, ou du nombre de prélèvements pour une prise d'essai, nécessiteraient des travaux de recherche afin d'optimiser le plan d'échantillonnage. Cette question est aussi abordée dans la réponse à la saisine 2007-SA-0009.

## 10. QUESTION 6

**Rappel de la Question V :** *Si les lots de pectinidés (chair total) sont non-conformes par rapport aux toxines lipophiles, amnésiantes et paralysantes, dans quelles conditions l'éviscération permettra-t-elle d'éliminer le risque (plan d'échantillonnage) avant la mise sur le marché des produits?*

La quantification de l'excès de risque requiert les informations suivantes :

1. Le niveau et la distribution de la contamination initiale dans la zone non-conforme concernée doivent être connues.
2. L'efficacité de la technique d'éviscération doit être quantitativement connue dans un contexte précisé (niveaux de contaminations initiales, espèce de coquillages, par exemple).
3. L'efficacité de la manipulation humaine pour l'éviscération (risque d'erreur humaine) doit être quantitativement connue dans un contexte précisé (congélation, taille des coquillages, par exemple).

Ces données quantitatives permettraient d'évaluer le risque de ces produits vis-à-vis de produits non éviscérés et de justifier quantitativement une stratégie d'échantillonnage adaptée à ce type de situation.

Il convient de rappeler que selon la décision 2002/226/CE, « chaque lot de produit final doit être analysé par l'établissement spécialement agréé ».

## 11. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

L'accumulation préférentielle des toxines lipophiles et paralysantes dans la glande digestive des coquilles Saint-Jacques *Pecten maximus* permet d'envisager le principe d'un dispositif d'éviscération comme cela est le cas pour l'acide domoïque (décision de la Commission

2002/226/CE du 15 mars 2002). En revanche, aucune donnée n'est disponible concernant l'espèce *Pecten jacobaeus*, que se soit pour les toxines lipophiles ou paralysantes. En conséquence, il n'est actuellement pas possible de déterminer des conditions de prélèvement et de traitement (éviscération) de ces 2 espèces de coquilles Saint-Jacques. **Des études de décontamination par éviscération des espèces *Pecten maximus* et *Pecten jacobaeus* par ces toxines sont nécessaires, afin de pouvoir déterminer des seuils à la récolte** qui permettent de garantir la sécurité sanitaire des consommateurs.

L'extension de cette démarche à d'autres pectinidés et notamment aux pétoncles nécessite d'une part, que la DGAI communique la liste des espèces de pectinidés produits et commercialisés en France sous la dénomination « coquilles Saint-Jacques » et « pétoncles » ; et d'autre part, que **des études de décontamination par éviscération** de ces espèces soient réalisées.

La congélation/décongélation des coquillages avant éviscération est susceptible d'entraîner un risque supplémentaire lié notamment à l'altération des tissus contaminés, favorisant la contamination croisée d'autres organes. En outre, si les conditions ambiantes ne sont pas stables, cela peut favoriser le phénomène de sublimation avec perte d'eau et donc augmentation de la concentration en toxines. Pour éviter cela, il faudrait veiller à ce que :

- la congélation soit rapide ;
- la température soit constante (pas de rupture de la chaîne du froid) ;
- les coquillages soient empaquetés individuellement pour limiter tout risque de contamination croisée et pour éviter le phénomène de sublimation.

En conséquence, il conviendrait de réaliser **des études visant à déterminer les effets de la congélation et de la décongélation sur la teneur en phycotoxines et leur impact en matière de détection des toxines** (effets sur les acides gras libres). En effet, tant que la méthode de référence demeurera le bio-essai sur souris, l'augmentation de la teneur en acides gras libres lors du stockage à froid des coquilles Saint-Jacques est susceptible de donner lieu à des faux positifs.

## 12. BIBLIOGRAPHIE

- Bauder A. G., Cembella A. D., Quilliam M. A., (1996). Dynamics of diarrhetic shellfish toxins from the dinoflagellate, *Prorocentrum lima*, in the bay scallop, *Argopecten irradians*. In : *Harmful and Algal Blooms*. Ed. Oshima T. and Fukuyo Y. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, pp 433-436.
- Brana Magdalena A., Lehane M., Krysz S., Fernandez M.L., Furey A., James K.J. (2003a). The first identification of azaspiracids in shellfish from France and Spain. *Toxicon* 42, 105-108.
- Brana Magdalena A., Lehane M., Moroney C., Furey A., James K.J. (2003b). Food safety implications of the distribution of azaspiracids in the tissue compartments of scallops (*Pecten maximus*). *Food Addit Contam* 20, 154-160.
- Bricelj V.M. and Shumway S.E. (1998). An overview of the occurrence and transfer kinetics of paralytic shellfish toxins in bivalve molluscs. In *Harmful Algae*. Ed. B. Reguera, J. Blanco, M. L. Fernandez & T. Wyatt. Paris: Xunta de Galicia and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO. pp. 431-436.
- Campaneone L.A., Salvadori V.O., Mascheroni R.H. (2001). Weight loss during freezing and storage of unpackaged foods. *Journal of Food Engineering* 47, 69-79.
- Campaneone L.A., Salvadori V.O., Mascheroni R.H. (2005). Food freezing with simultaneous surface dehydration: approximate prediction of weight loss during freezing and storage. *International Journal of Heat and Mass Transfer* 48, 1195-1204.
- Flanagan A. F., Donlon J., Kane M. (2000). Localisation of azaspiracid, a recently discovered shellfish toxin, within the blue mussel *Mytilus edulis*. In *Ninth International Conference on Harmful Algal Blooms*. Ed. G. Hallegraeff, C. J. Bolch, S. I. Blackburn & R. J. Lewis. Hobart, Tasmania: Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO.
- Fremy J.M., Ledoux M., Bilodeau M., Major M., Murail I., Jamet J. (1993) Variation de la contamination par des phycotoxines paralysantes de coquilles St Jacques importées d'Asie. *Sciences des Aliments* 13, 751-759.
- Fukushi A., Imamura T., Takahashi H., Itabashi Y., Suzuki T. (2003). Increase of free fatty acids in the hepatopancreas of scallops kept in freezer. *Fisheries Science* 69 (5), 1081 – 1083.
- Furey A., Moroney C., Brana-Magdalena A., Saez M.J., Lehane M., James K.J. (2003). Geographical, temporal, and species variation of the polyether toxins, azaspiracids, in shellfish. *Environ Sci Technol* 37, 3078-3084.
- Hess, P. Nguyen L., Aasen J., Keogh M., Kilcoyne J., McCarron P., Aune T (2005). Tissue distribution, effects of cooking and parameters affecting the extraction of azaspiracids from mussels, *Mytilus edulis*, prior to analysis by liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *Toxicon* 46 (1), 62-71.
- Indrasena W.M. and Gill T.A. (2000). Storage stability of paralytic shellfish poisoning toxins. *Food Chemistry*, 71, pp 71-77.

- James K.J., Lehane M., Moroney C., Fernandez-Puente P., Satake M., Yasumoto T., Furey A. (2002a). Azaspiracid shellfish poisoning: unusual toxin dynamics in shellfish and the increased risk of acute human intoxications. *Food Addit Contam* 19, 555-561.
- James K. J., Furey A., Lehane M., Ramstad H., Aune T., Hovgaard P., Morris S., Higman W., Satake M., Yasumoto T. (2002b). First evidence of an extensive northern European distribution of azaspiracid poisoning (AZP) toxins in shellfish. *Toxicon* 40, 909-915.
- Lassus P., Fremy J.M., Ledoux M., Bardouil M., Bohec M. (1989). Patterns of experimental contamination by *Protogonyaulax tamarensis* in some French commercial shellfish. *Toxicon* 27, 1313-1321.
- Lassus P., Ledoux M., Bardouil M., Bohec M., Erard E. (1994). Kinetics of *Alexandrium minutum* Halim toxin accumulation in mussels and clams. *Nat Toxins* 2, 329-333.
- Lassus P., Ledoux M., Bohec M., Murail I., Fremy J.M. (1996) Role of kidneys in bioaccumulation of paralytic toxins by scallop (*Pecten maximus*) tissues. *J. of Natural Toxins* 1, 107-115.
- Lawrence J.F., Chadha R.K., Ratnayake W.M., Truelove J.F. (1994). An Incident of Elevated Levels of Unsaturated free Fatty Acids in Mussels from Nova Scotia and their toxic effect in Mice After Intraperitoneal injection. *Natural Toxins* 2, pp 318-321.
- McCarron P., Burrell S., Hess P. (2007). Effect of addition of antibiotics and an antioxidant on the stability of tissue reference materials for domoic acid, the amnesic shellfish poison. *Anal Bioanal Chem*, 387, pp 2495-2502
- 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.
- Rundberget T., Sandvik M., Larsen K., Pizarro G.M., Reguera B., Castberg T., Gustad E., Loader J.I., Rise F., Wilkins A.L., Miles C.O. (2007). Extraction of microalgal toxins by large-scale pumping of seawater in Spain and Norway, and isolation of okadaic acid and dinophysistoxin-2. *Toxicon* 50, pp 960-970.
- Olguin M.C., Salvadori V.O., Mascheroni R.H., Tarzia D.A. (2008). An analytical solution for the coupled heat and mass transfer during the freezing of high-water content materials. *International Journal of Heat and Mass Transfer* 51, 4379-4391.
- Shumway S.E. and Cembella A.D. (1993). The impact of toxic algae on scallop culture and fisheries. *Rev Fisheries Sci* 2, 121-150.
- Smith E.A., Papapanagiotou E.P., Brown N.A., Stobo L.A., Gallacher S., Shanks A.M. (2006). Effect of storage on amnesic shellfish poisoning (ASP) toxins in king scallops (*Pecten maximus*). *Harmful Algae* 5 (1), 9-19.
- Suzuki T. and Mitsuya T., (2001). Comparaison of dinophysistoxin-1 and esterified dinophysistoxin-1 (dinophysistoxin-3) contents in the scallop *Patinopecten yessoensis* and the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Toxicon*, 39, pp 905-908.
- Suzuki T., Mitsuya T., Imai M., Yamasaki M., (1997). DSP toxin contents in *Dinophysis fortii* and scallops collected at Mutsu Bay, Japan. *Journal of Applied Phycology*, 8, pp 509-515.
- Suzuki T., Ota H., Yamasaki M. (1999). Direct evidence of transformation of dinophysistoxin-1 to 7-O-acyl-dinophysistoxin-1 (dinophysistoxin-3) in the scallop *Patinopecten*. *Toxicon* 37, pp 187-198.
- Suzuki T., Yoshizawa R., Kawamura T. and Yamasaki, M. (1996). Interference of free fatty acids from the hepatopancreas of mussels with the mouse bioassay for shellfish toxins. *Lipids* 31(6), pp 641-645.
- Takagi T., Hayashi K., Itabashi Y. (1984). Toxic Effect of Free Unsaturated Fatty Acids in the Mouse Bioassay of Diarrhetic Shellfish Toxin by Intraperitoneal Injection. *Bulletin Japan. Soc. of Sci. Fisheries* 50 (8), pp 1413-1418.
- Vale, P. and de M. Sampayo M.A. (2002). Evaluation of extraction methods for analysis of domoic acid in naturally contaminated shellfish from Portugal. *Harmful Algae* 1, pp 127-135.

### 13. MOTS CLES.

Biotoxines marines, phycotoxines, pectinidés, coquilles Saint-Jacques, pétoncles, éviscération.

Pascale BRIAND

ANNEXE  
ANATOMIE DE LA PARTIE INTERNE DU CORPS MOU D'UN PECTINIDE HERMAPHRODITE

Source : <http://www.finemaree.com/biologie.html>