Direction de l'Environnement et de l'Aménagement Littoral

fremer

Journées thématiques

Nantes, 26 et 27 mai 2004

Contamination et décontamination des mollusques bivalves

RESUMES DES PRESENTATIONS





Photo Etienne Lassus

INTRODUCTION

Les journées d'échange sur la contamination / décontamination des organismes marins comestibles font l'objet de 14 présentations recouvrant des thématiques diverses : écophysiologie des organismes aquatiques en général et des mollusques bivalves en particulier, spéciation et accumulation des contaminants chimiques, contamination et décontamination par les bivalves des microrganismes pathogènes et des toxines algales, sans compter l'analyse de risque, les technologies développées au niveau des producteurs et l'évolution de la réglementation.

Les résumés des différentes présentations ont été réunis dans cette plaquette et seront repris par la suite sur le site Envlit de la DEL avec la synthèse issue de la discussion générale. Cette dernière s'attachera à différencier les approches globales *in situ* des approches expérimentales comportant la possibilité d'un découplage des paramètres impliqués. Il sera également utile d'évaluer les processus de contamination en fonction du type de contaminant, de sa partition eau / particulaire, du rôle des facteurs environnementaux et des paramètres biologiques propre à l'organisme vecteur étudié. A ce titre il est important de promouvoir des échanges inter directionnels facilitant la mise à disposition des modèles existant et de prévoir les éventuelles applications opérationnelles de ces études, en particulier en terme de stratégies d'aménagement selon le niveau de prédiction atteint.

ORDRE DU JOUR

Mardi 26 mai 2004

13h45-14h00: accueil des participants

14h00-14h15: Introduction (Patrick Lassus, Cédric Bacher)

14h15-14h40 : Mécanismes de bioaccumulation des métaux-traces chez les organismes aquatiques (Alain Boudou, membre invité)

14h40-15h05 : Les variations d'activité ventilatoire, un facteur clé dans les processus de bioaccumulation chez le bivalve (Jean-Charles Massabuau, membre invité)

15h05-15h30 : Les modèles écophysiologiques chez les mollusques filtreurs : du rêve à la réalité (Stéphane Pouvreau)

15h30-15h45 : Pause café

15h45-16h10: Contaminants organiques et réseaux trophiques (Alain Abarnou)

16h10-16h35 : Modélisation de la bioaccumulation des métaux traces chez la moule, *Mytilus* galloprovincialis, en milieu méditerranée (Stellio Casas)

16h35-17h00 : Modélisation de la bioaccumulation des PCB dans les moules (exemple d'application en baie de Seine) (Véronique Loizeau)

17h00-17h25 : Modélisation de la spéciation des contaminants (Jean-Louis Gonzalez)

17h25-17h50: Pollutions accidentelles et contaminations (Michel Marchand)

Mercredi 27 mai 2004

9h00-9h25 : Facteurs impliqués dans l'accumulation des phycotoxines paralysantes par les bivalves (Patrick Lassus)

9h25-9h50 : Modèles préliminaires de contamination PSP des mollusques bivalves (Régis Baron)

9h50-10h05: Pause café

10h05-10h30 : Spécificité de la contamination virale (Monique Pommepuy et/ou Soizick Leguyader)

10h30-10h55 : Décontamination virale des coquillages : systèmes existants et leurs limites (Jean Claude Le Saux)

10h55-11h20 : Le concept de bioaccumulation dans le domaine de l'analyse de risque et des normes de qualité de la DCE (Chrystelle Tissier)

11h20-11h45 : Technologies de la purification / détoxification et réglementation (Pierre Aubert, membre invité)

11h45-12h30 : Synthèse et discussion générale (Patrick Lassus, Cedric Bacher, Alain Boudou, Yves Douzal membre invité)

Mécanismes de bioaccumulation des métaux-traces chez les organismes aquatiques

Alain Boudou

Professeur, Directeur du Laboratoire d'Ecophysiologie et Ecotoxicologie des Systèmes Aquatiques (LEESA), UMR CNRS 5805

Université Bordeaux 1 – Place Dr Peyneau – 33120 Arcachon

a.boudou@epoc.u-bordeaux1.fr

A l'échelle des organismes aquatiques, les mécanismes de bioaccumulation des métaux-traces résultent des actions et des interactions entre trois ensembles de facteurs : (i) les facteurs abiotiques, correspondant aux paramètres physico-chimiques des biotopes (colonne d'eau, sédiments) ; (ii) les facteurs de contamination, traduisant les modalités d'exposition et les capacités de transfert des métaux à partir du milieu environnant (voie directe) et, conjointement, des proies ingérées (voie alimentaire) ; (iii) les facteurs biotiques, caractérisant les propriétés structurales et fonctionnelles des êtres vivants, en relation étroite avec les niveaux d'intégration pris en compte, depuis la base cellulaire jusqu'aux niveaux supérieurs (chaînes et réseaux trophiques). En conditions naturelles, ces trois ensembles de facteurs sont caractérisés par une très grande diversité et par des variations quasi-permanentes, à la fois dans l'espace et dans le temps.

D'un point de vue écotoxicologique, la bioaccumulation résulte du bilan entre d'une part, les entrées des métaux, via les processus d'ad- et d'absorption au travers des barrières biologiques à l'interface "organisme/milieu" (membrane plasmique à l'échelle cellulaire ; revêtement cutané, lamelles branchiales, paroi du tractus digestif pour les organismes supérieurs) et les mécanismes de séquestration dans les compartiments tissulaires et cellulaires; et, d'autre part, les différentes voies d'élimination ou de décontamination. La spéciation chimique des métaux revêt une importance primordiale au regard de ces processus : résultant de l'ensemble des réactions de complexation avec les ligands inorganiques et organiques présents au sein des phases dissoute et particulaire des biotopes (MES, colloïdes, anions en solution, ...) et également dans les matrices biologiques ingérées, la spéciation conditionne l'accessibilité des métaux aux barrières biologiques et leur transport vers les compartiments internes. Selon les pressions de contamination exercées et les modèles biologiques étudiés, les cinétiques de bioaccumulation peuvent différer notablement ainsi que les réponses adaptatives mises en jeu, comme par exemple la biosynthèse des métallothionéines et leur rôle protecteur à l'égard des effets toxiques des métaux.

Plusieurs exemples, provenant d'études de terrain ou d'approches expérimentales utilisant différents modèles biologiques (bivalves, crustacés, poissons), permettront d'illustrer ces concepts de base et d'insister sur la nécessaire pluridisciplinarité des recherches dans ce domaine et sur la représentativité des conditions d'exposition au regard des processus se déroulant en milieu naturel.

Les variations d'activité ventilatoire, un facteur clé dans les processus de bioaccumulation chez le bivalve

Jean-Charles Massabuau

Laboratoire d'Ecophysiologie et Ecotoxicologie des Systèmes Aquatiques. UMR 5805, CNRS & Univ. Bordeaux 1. OSU Aquitain. Place du Dr Peyneau, 33120, Arcachon

ic.massabuau@epoc.u-bordeaux1.fr

La première étape limitant la biodisponibilité d'un contaminant chez l'animal aquatique est sans conteste la spéciation. La deuxième est l'intensité de l'activité ventilatoire. Jusqu'à ces dernières années, c'est un facteur qui avait été peu ou pas pris en compte, aussi bien dans les études de terrain qu'au laboratoire.

La ventilation contrôle les conditions de renouvellement d'eau au niveau de l'épithélium branchial et donc, le niveau d'exposition des branchies qui est une des principales voies d'entrée de divers contaminants. Elle n'agit pas directement via la quantité de contaminant qui transite dans la cavité branchiale ou palléale car, quel que soit le débit ventilé, la concentration dans la masse d'eau reste en effet constante. Par contre, elle vient modifier au niveau des couches limites, les profils de concentration à l'interface eau-épithélium en modifiant l'épaisseur des couches d'eau peu ou pas renouvelées (unstirred layers). La modification des surfaces branchiales ventilées, et donc exposées, est aussi une des conséquences des variations d'activité ventilatoire.

Pour assurer l'homéostasie de son milieu intérieur (en gérant sa prise alimentaire et ses échanges gazeux), le bivalve doit être capable d'adapter son activité de filtration aux variations de la composition de son environnement. Nous montrerons des exemples ou des variations de débit ventilatoire chez un bivalve entraînent des variations tout à fait importantes dans les taux d'accumulation d'un métal. L'oxygène, la variation de concentration de plancton, la température, le stress ainsi bien sur que la nature du contaminant, sont parmi les principaux facteurs qui peuvent entraîner ces variations de débit ventilé.

Les modèles écophysiologiques chez les mollusques filtreurs : du rêve à la réalité

Stéphane Pouvreau

Ifremer
UMR "Physiologie & Ecophysiologie des mollusques marins"
Site expérimental d'Argenton
Presqu'île du Vivier
29840 Argenton en Landunvez

Stephane.Pouvreau@ifremer.fr

La croissance et la reproduction des mollusques marins sont des fonctions fortement dépendantes des facteurs environnementaux (température, MES, phytoplancton, oxygène...), c'est d'autant plus vrai chez les bivalves-filtreurs. Par exemple, chez l'huître creuse la quantité de gamètes produite en été est complètement sous la dépendance (1) des réserves accumulées en hiver, (2) de l'intensité des blooms printaniers et (3) de la température de l'année écoulée. Notre compréhension de la physiologie de ces animaux est donc intimement liée à la quantification et à l'intégration temporelle de ces relations multi-factorielles. Cette compréhension passe désormais par la construction de modèles déterministes basés des concepts sur

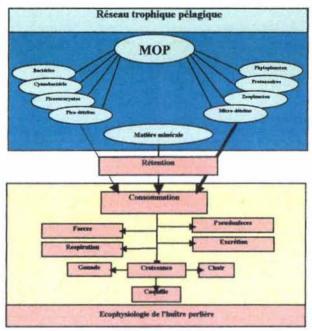


Schéma conceptuel du modèle de croissance

bioénergétiques. Bien qu'encore peu opérationnels, ces modèles sont bien souvent au cœur de la problématique de nombreux programmes d'environnement, d'écotoxicologie et de physiologie aquacole menés à l'Ifremer.

Après un état de l'art des modèles écophysiologiques disponibles chez les mollusquesfiltreurs, et à partir d'un exemple « exotique » mais très concret, le travail présenté ici vise à (1) exposer les méthodes de construction d'un modèle écophysiologique et (2) à présenter le fonctionnement de ce modèle. Enfin, cet exposé conclue par les perspectives transversales qu'il faudrait engager sur cette thématique vouée à s'épanouir.

Contaminants Organiques et réseaux trophiques

Alain Abarnou

Ifremer DEL/EC Centre de Brest BP 70 29280 Plouzané

Alain.Abarnou@ifremer.fr

La présence de contaminants organiques dans l'environnement marin pose la question importante de leur devenir dans les réseaux trophiques et, finalement, celle de l'exposition des consommateurs finaux à de telles substances potentiellement toxiques. Le devenir des contaminants organiques dans les organismes dépend de facteurs chimiques, liés aux caractéristiques physico-chimiques des substances, de facteurs biologiques notamment les grandes fonctions physiologiques comme l'alimentation et la croissance ou la reproduction, ainsi que des conditions environnementales comme la proximité d'une source ponctuelle de contamination ou de façon plus générale des conditions du milieu qui agissent sur les fonctions biologiques. Pour tenter de prendre en compte les interactions entre ces différents processus un modèle de bioaccumulation a été établi et validé dans le cas des PCB dans le réseau trophique du bar en estuaire de Seine. A la différence des PCB qui sont persistants et bioaccumulables les PAH sont facilement métabolisés en composés polaires. L'amélioration du modèle et son utilisation plus générale au cas de telles substances partiellement biotransformées requièrent de nouvelles investigations pour mieux prendre en compte la bio-transformation des substances. Finalement, quelques résultats sont donnés sur la contamination par les dioxines (PCDD et PCDF) et les PCB apparentés aux dioxines; il apparaît ainsi que ce sont les PCB qui contribuent le plus à l'équivalent toxicité dioxine et que les dioxines présentent un comportement dans les réseaux trophiques intermédiaire entre celui des PCB persistants et celui des PAH qui eux sont métabolisés.

Mots clés :

PCB, HAP, dioxines, réseaux trophiques, modèle de bioaccumulation, estuaire de la Seine

Modélisation de la bioaccumulation des métaux traces chez la moule, *Mytilus galloprovincialis*, en milieu méditerranéen

Stellio Casas

Ifremer
DEL/PC
BP 330
Centre de Toulon
83507 La Seyne sur Mer

Stellio.Casas@ifremer.fr

La surveillance de la contamination côtière au moyen de mollusques bivalves, du genre *Mytilus*, est de pratique courante dans de nombreux programmes de surveillance à travers le monde (RNO, RINBIO, US-Mussel Watch). En effet, les moules présentent des caractéristiques qui en font de bons bioindicateurs de la contamination en raison de leur faculté de concentration, de leur large répartition géographique, de leur mode de vie sessile et euryhalin, de leur tolérance à différents stress et de la possibilité de les transplanter.

Cette bioaccumulation des métaux traces résulte d'une interaction entre facteurs chimiques (spéciation, biodisponibilité, stockage, etc.), physiologiques (croissance, amaigrissement, ponte, etc.) et environnementaux (température, matières en suspension, chlorophylle, etc.). De ce fait, nous avons choisi de développer et coupler un modèle de bioaccumulation avec un modèle de croissance (DEB model : modèle à dynamique de budget énergétique), afin d'intégrer l'ensemble des processus physiologiques de l'organisme utilisé comme bioindicateur.

Afin de calibrer ce modèle, une étude cinétique d'accumulation (6 mois) et de décontamination (3 mois) a été réalisée sur trois sites aux potentiels trophiques et chimiques différents. En plus de traiter de l'accumulation des métaux traces à partir de la voie dissoute et particulaire, le modèle tient compte de la biologie de l'individu et permet de quantifier l'effet de la croissance et des changements environnementaux, tant chimiques que nutritifs, sur la bioaccumulation.

Mots-clés:

Bioindicateur, *Mytilus galloprovincialis*, bioaccumulation, métaux traces, croissance, capture et élimination, spéciation, biodisponibilité.

Modélisation de la bioaccumulation des PCB dans les moules (exemple d'application en baie de Seine)

Véronique Loizeau, Philippe Cugier

Ifremer DEL/EC Centre de Brest BP 70 29280 Plouzané

veronique.loizeau@ifremer.fr

Un modèle de bioaccumulation a été développé pour simuler les concentrations en PCB dans les moules (Mytilus edulis) provenant de l'estuaire et de la baie de Seine. L'approche modélisation a été réalisée selon plusieurs étapes. Dans un premier temps, nous avons développé un modèle déterministe basé sur les données écophysiologiques de la moule vivant sur l'estran. Ce modèle permet d'estimer les besoins trophiques de Mytilus edulis et de simuler sa croissance somatique (poids de chair et de coquille) au cours du temps. Ce modèle est couplé avec le modèle écologique de la baie de Seine (Cugier, 1999) et permet de prendre en compte les variations des paramètres environnementaux comme la biomasse phytoplanctonique, la température ou le taux de matière en suspension. Dans une seconde approche, nous avons modélisé la bioaccumulation des PCB dans les moules. Trois fonctions biologiques déterminent le processus de bioaccumulation. La vitesse de nutrition (filtration) contrôle l'assimilation des contaminants, tandis que l'excrétion et la croissance régissent les processus d'élimination et de dilution. Les cinétiques d'accumulation dépendent d'une part de la nature des particules ingérées et d'autre part du coefficient de partage octanol/eau propre au contaminant. Ce modèle de bioaccumulation a été couplé avec le modèle écophysiologique pour décrire la contamination par les PCB dans les moules. Ce modèle couplé, a été validé par les mesures du RNO sur cinq ans et sur quatre sites de la baie de Seine (Antifer, Villerville, Port en Bessin et Le Moulard). Le modèle de bioaccumulation simule relativement bien les variations saisonnières pour des niveaux très différents, le site du Moulard étant environ dix fois moins contaminé que celui de Villerville.

Références

- Barillé, A-L. 1996. Contribution à l'étude des potentialités conchylicoles du Pertuis Breton. Thèse Univ. Aix-Marseille II, 312 p.
- Connolly J. P., 1991. Application of a food chain to polychlorinated biphenyl contamination of the lobster and winter flounder food chain in New Bedford harbor. *Environmental Science and Technology* 25, 760-770.
- Cugier P., 1999. Modélisation du devenir à moyen terme dans l'eau et la sédiment des éléments majeurs (N, P, Si) rejetés par la Seine en Baie de Seine. Thèse Univ. Caen, 249 p.
- Dewarumez J. M., 1984. Etude de la croissance de la moule (*Mytilus edulis*) sur trois sites de centrales nucléaires. Rapport d'étude CNEXO.COB.ELGMN, Edition CNEXO.
- Guillaud J-F. Ménesguen A., 1998. Modélisation sur vingt ans (1976-1995) de la production phytoplanctonique en baie de Seine. *Oceanologica Acta* 21, 887-905.
- Loizeau V., Anarnou A. and Ménesguen A., 2001. A steady-state model of PCB bioaccumulation in the sea bass (*Dicentrarchus labrax*) food web from the Seine Estuary, France. *Estuaries* 24, 1074-1087.
- Ménesguen A., 1991. « ELISE », an interactive software for modelling complex aquatic ecosystems. Computer modelling in ocean engineering. Arcilla A.S., Pastor M., Zienkiewicz O.C. and Schrefler B.A., eds, Balkema, Rotterdam, 87-94.
- Thomann R. V. and Connolly J. P., 1984. Models of PCBs in the Lake Michigan lake trout food chain. Environmental Science and Technology 18: 65-71.

Modélisation de la spéciation des contaminants

Jean-Louis Gonzalez

Ifremer
DEL/PC
BP 330
Centre de Toulon
83507 La Seyne sur Mer

gonzalez@ifremer.fr

Un des objectifs de l'étude du cycle des contaminants est d'évaluer leur devenir dans le milieu, leur possible accumulation et leurs flux à travers les différents réservoirs biogéochimiques du milieu, ceci afin de déterminer leurs effets potentiels sur les écosystèmes et les organismes marins.

L'amélioration des techniques analytiques a permis une bonne connaissance du cycle biogéochimique de nombreux contaminants. Mais, les seules mesures des concentrations d'un élément dans les différentes fractions présentes dans le milieu (particules, phase dissoute) ne donnent que peu d'informations sur les différentes espèces chimiques (complexes minéraux, complexes organiques, formes colloïdales, associations à la phase particulaire) présentes dans le milieu. C'est la spéciation du contaminant qui va contrôler sa mobilité dans le milieu et sa biodisponibilité.

Cette connaissance est indispensable si l'on veut comprendre et prévoir la dynamique des espèces les plus biodisponibles et est un préalable aux études des effets sur les organismes marins.

La modélisation est un outil complémentaire aux mesures. L'application de cet outil, avec ses limites et ses avantages, à la simulation de la spéciation des contaminants sera présentée.

Pollutions accidentelles et contaminations

Michel Marchand

Ifremer
DEL/PC
BP 21105
Centre de Nantes
44311 Nantes Cedex 3

Michel.Marchand@ifremer.fr

En situation de pollutions accidentelles, les interdictions de pêches et de cultures marines sont de plus en plus fréquentes dans le but de protéger la santé humaine. De telles interdictions sont relativement faciles à imposer, sur la base de constats visuels de la pollution par exemple, de la mesure de la contamination de l'environnement, de tests organoleptiques ou en invoquant le principe de précaution. Les conditions de ré-ouverture des zones de pêches ou de conchyliculture sont plus complexes et nécessitent de s'appuyer sur des critères scientifiques de salubrité des produits de la mer. Ceci nécessite une bonne compréhension des processus de bioaccumulation et d'épuration des contaminants dans les poissons et coquillages suite à un déversement accidentel d'hydrocarbures ou de produits chimiques en milieu marin.

Nous prendrons comme exemple une étude réalisée sur l'évolution de la situation dans les zones ostréicoles en Bretagne nord atteintes par les hydrocarbures de *l'Amoco Cadiz*. Trois situations ont été étudiées : (i) le maintien d'huîtres sur des sites pollués, (ii) le transfert d'huîtres sur des sites salubres et (iii) l'implantation d'huîtres saines dans des zones contaminées. Les conclusions de cette étude seront confrontées à d'autres situations analogues de déversements accidentels d'hydrocarbures.

Facteurs impliqués dans l'accumulation des phycotoxines paralysantes par les bivalves

Patrick Lassus *, Régis Baron **

Ifremer Centre de Nantes

* DEL/MP, ** DRV/VP

BP 21105

44311 Nantes Cedex 3

Patrick.Lassus@ifremer.fr - Regis.Baron@ifremer.fr

De nombreuses études ont été réalisées sur les conditions de contamination des mollusques bivalves par les phycotoxines, en particulier par les phycotoxines paralysantes (PSP) neurotoxines étudiées depuis des décennies en Amérique du nord et au Japon. Parmi les facteurs interférant avec le processus d'accumulation il y a d'abord le mollusque bivalve luimême: fermeture des valves, inhibition de la filtration, enfouissement, modifications de la consommation d'oxygène et du rythme cardiaque sont autant d'effets notés chez les espèces les plus sensibles comme l'huître creuse. Interviennent également la taille et le poids de l'animal, l'espèce étudiée et plus particulièrement ses capacités de biotransformation *in vivo* des toxines ainsi que la résistance acquise vis-à-vis de ces dernières (adaptation génétique). Pour ce qui est des facteurs externes il y a en premier lieu la densité cellulaire d'algues toxiques, le ratio avec les microalgues accompagnatrices non toxiques, la toxicité spécifique du dinoflagellé producteur de PSP et enfin la durée de l'épisode de prolifération. La température semble avoir peu d'effet sur l'élimination comme l'accumulation des toxines.

Les tentatives de modélisation des processus de contamination *in situ* ont surtout fait l'objet d'études au Canada, en Espagne et plus récemment, au Japon. Les facteurs environnementaux pris en compte (salinité, température, lumière, biomasse algale, durée d'émersion, poids du corps) ont donné des résultats variables selon les modèles et les toxines testés. En règle générale, pour les toxines PSP, les facteurs environnementaux auraient peu d'effet sur le processus de détoxification tandis que la taille des bivalves pourrait interférer. Les données obtenues avec d'autres phycotoxines (DSP) iraient au contraire dans le sens d'un effet des variables environnementales (en particulier la concentration en phytoplancton et la transmission lumineuse) ainsi que du poids de chair. Dans tous les cas les auteurs insistent sur la nécessité de modèles à deux compartiments intégrant les processus de biotransformation des toxines.

Une étude expérimentale (circuit fermé automatisé) des facteurs environnementaux pouvant interférer avec l'accumulation des toxines PSP dans les huîtres de l'estuaire de Penzé a été réalisée ces trois dernières années. Des huîtres adultes étaient soumises individuellement à une alternance de régimes alimentaires toxiques (Alexandrium minutum) et non toxiques (Skeletonema costatum) selon une fréquence et des temps d'exposition simulant les effets de la marée sur le déplacement des lentilles d'eau colorée à A.minutum. Les paramètres testés ont été successivement : la concentration cellulaire en A.minutum, les matières minérales et les salinités à basse mer et pleine mer soit des conditions correspondant aux épisodes d'eaux colorées observés sur ce site en juin. Les résultats font apparaître une contamination des huîtres en 4 jours supérieure à 80 μg eq STX / 100 g de chair pour des régimes constitués soit uniquement d'A.minutum à faibles concentrations, soit d'une alternance d' A.minutum et de Skeletonema costatum à concentrations élevées. Les bioaccumulations sont inférieures au seuil sanitaire pour un régime constitué exclusivement d'*A.minutum* mais avec des pics à 10 000 cellules ml⁻¹. Dans ce dernier cas il semble qu'il y ait une inhibition partielle de la consommation. L'ajout de matière minérale aurait un effet positif sur la bioaccumulation tandis que la salinité n'aurait pas de rôle prépondérant dans l'accumulation des toxines. Ces dernières observations ont été vérifiées statistiquement en utilisant un modèle de régression linéaire multiple « pas à pas » intégrant l'un ou l'autre des paramètres testés.

Modèles préliminaires de contamination PSP des mollusques bivalves

Régis Baron*, Marielle Couedel**, Patrick Lassus***

Ifremer Centre de Nantes

* DRV/VP, ** stagiaire DEL/MP et DRV/VP, *** DEL/MP
BP 21105
44311 Nantes Cedex 3

Patrick.Lassus@ifremer.fr - Regis.Baron@ifremer.fr

Plusieurs expériences ont été réalisées en laboratoire pour déterminer les facteurs environnementaux susceptibles d'influencer l'accumulation de toxines paralysantes (PSP) par l'huître creuse Crassostrea gigas. Ces facteurs ont été déterminés à partir d'observations réalisées en estuaire de Penzé, lors de proliférations d'Alexandrium minutum. Ce sont essentiellement la concentration cellulaire en cellules toxiques et non-toxiques, la matière minérale du seston et la salinité. L'analyse chimique de la chair des huîtres artificiellement contaminées ne permet pas un suivi satisfaisant du processus d'accumulation des toxines du fait du nombre relativement restreint d'animaux testés, de la variabilité individuelle importante et peu compressible et surtout de la méthodologie 'destructive' utilisée (CLHP). En revanche parmi les paramètres mesurés en continu, l'évaluation de la fluorescence en sortie des boîtes expérimentales, couplée à des mesures discrètes de la concentration cellulaire en algues toxiques et non toxiques, a permis de déduire le Qtox ou encore la quantité de toxines prélevée par les huîtres dans le milieu au cours du temps, ainsi que les cinétiques reconstruites d'accumulation individuelles et moyennes par 100 g de chair et par unité de temps. Cette évaluation n'a été possible que parce que la relation entre fluorescence et concentration cellulaire est linéaire, et que la concentration moyenne de toxine par cellule d'A.minutum est connue et relativement stable au cours des expériences. Les cinétiques de contamination / décontamination PSP peuvent être décrites par un modèle simple à un compartiment tel que dC / dt = I - dC, où C est la concentration en toxines par 100 g de chair, I le taux d'ingestion et d le coefficient décrivant le taux relatif d'excrétion des toxines. Dans les conditions expérimentale (pas ou peu de production de pseudo-fèces) on peut considérer que I # Qtox. Le logiciel Matlab Simulink a été utilisé pour valider l'influence de l'ingestion et des taux de détoxification sur la prédiction de la toxicité par rapport aux valeurs observées. Les premiers résultats montrent que les plus fortes valeurs de Qtox se rencontrent pour des concentrations d'A.minutum variant de 5000 cellules.ml-1 à # 500 cellules.ml⁻¹ selon que l'on est en cycle toxique ou non toxique (valeurs résiduelles d'Alexandrium dans un régime constitué de Skeletonema costatum). Les concentrations résiduelles d'A.minutum semblent jouer un rôle significatif dans le processus général de contamination PSP. En outre les valeurs élevées de cellules toxiques (10 000 cellules.ml⁻¹) seraient un facteur limitant à la contamination puisque les toxicités trouvées sont significativement plus faibles. Si l'on considère les cinétiques de détoxification obtenues, il semble qu'un modèle à deux compartiments prenant en compte à la fois les processus de détoxification rapide et lent serait plus proche de la réalité et mériterait des développements ultérieurs.

Spécificité de la contamination virale

M. Pommepuy*, F. Loisy**, S. Le Guyader**

* Ifremer DEL/MP Centre de Brest BP 70 29280 Plouzané ** Ifremer DEL/MP Centre de Nantes BP 21105 44311 Nantes Cedex 3

Monique.Pommepuy@ifremer.fr, Fabienne.Loisy@ifremer.fr, Soizick.Le.Guyader@ifremer.fr

Très peu d'études ont été réalisées sur la purification de coquillages naturellement contaminés par des virus humains. Ceci est principalement dû au fait que souvent les virus impliqués dans les épidémies, les norovirus ne sont pas cultivables. Les techniques de détection moléculaire sont récentes et peu de données quantitatives existent (RT-PCR, real time PCR). Cependant, même si les études en laboratoire présentent des biais, les principaux facteurs qui se dégagent sur la spécificité de la contamination virale sont liés à la physiologie du coquillage qui doit être activée pour avoir une épuration efficace. Certains facteurs spécifiques doivent être pris en compte car ils semblent avoir un poids important sur l'efficacité de la purification vis-à-vis des virus. Il s'agit de :

- La spécificité des virus : leur diversité, leur virulence à des faibles doses, leur petite taille et leur adhésion à des particules organiques leur confère une spécificité dans leur comportement en zones littorale. Par ailleurs, ils sont séquestrés dans des niches intestinales du coquillage où leur adhésion pourrait être liée à des caractères physiologiques de ces derniers (teneur en glycogène, par exemple).
- La résistance des virus dans l'environnement et de ce fait, dans les coquillages. Contrairement à *Escherichia coli*, les virus persistent plusieurs mois dans les eaux côtières et dans les coquillages, lorsque les températures sont basses. Certains virus (virus de l'hépatite A) sont particulièrement résistants.
- Du degré de contamination et l'antériorité de la contamination : plus le niveau de contamination est élevé et ancien et plus l'élimination est difficile.

La présence aléatoire des virus dans l'environnement rend cette recherche encore plus difficile. En effet l'occurrence de virus infectieux n'est pas signalée par un "indicateur" tenant compte d'une part du caractère aléatoire de cette contamination (déversement pendant des épidémies dans la population, lorsque les apports urbains ne sont pas maîtrisés) et d'autre part, de sa spécificité (survie des virus dans ces environnements plus longue qu'*E. coli* : plusieurs semaines ou dizaine de semaines).

Si l'on considère que les coquillages issus des zones B, doivent être passés en purification, ces facteurs (contamination élevée et rémanente) devraient être évoqués dans la pratique de purification, pour tenir compte du fait qu'il est plus facile de décontaminer des huîtres ayant subi une pollution courte et sporadique (issues d'une zone B présentant des valeurs proches de 1 000 *E. colil* 100 g) que celles issues d'une zone d'élevage plus fortement contaminée (issues de zone B présentant des valeurs limitrophes au seuil de 4600 *E. colil* 100 g) : d'où l'intérêt, lors des opérations ou expériences de purification, de notifier ces paramètres.

Décontamination virale des coquillages Systèmes existants et leurs limites

Jean-Claude Le Saux

Ifremer DEL/MP Centre de Brest BP 70 29280 Plouzané

Jean.Claude.Le.Saux@ifremer.fr

Ces dernières années des coquillages répondant aux normes sanitaires de mise à la consommation ont été impliqués dans des toxi-infections alimentaires collectives (TIACs). Systématiquement les analyses microbiologiques ont alors démontré la présence de virus d'origine entérique.

Après un bilan des équipements de purification utilisés par les établissements conchylicoles, nous avons vérifié leur efficacité par rapport à la purification virale. A partir d'un système prototype de purification, nous avons comparé simultanément les différents équipements. Les résultats démontrent que les équipements conventionnels les plus utilisés, de type bassin insubmersible aéré (BIA) donnent d'excellentes performances sur les critères normatifs indicateur de contamination fécale : *Escherichia coli* (*E.coli*).

Par contre sur le plan viral, les résultats sont nettement moins performants. A partir d'un modèle viral, le bactériophage F+ARN spécifique de type MS2, nous avons étudié l'influence des différents facteurs impliqués dans la décontamination virale que ce soit au nieau de l'eau : qualité microbiologique, température, salinité, taux d'oxygène dissous et recirculation ou au niveau du coquillage : taux de filtration, niveau de contamination initiale et durée de contamination.

Sur la base d'une trentaine d'expériences sur l'installation prototype de purification virale et dans des conditions optimales de reproductibilité et de répétabilité, les résultats montrent qu'une purification « renforcée » devrait permettre d'éliminer la présence de virus entériques en 4 à 5 jours. Cette purification demande des conditions tout à fait singulières et principalement des températures de l'eau proche de 22/25°C, mais également que le niveau initial de contamination virale ne soit pas trop élevé et que la contamination soit récente.

En effet, pour les coquillages issus de zones ou la contamination virale est récurrente, la présence de virus a été observée après huit jours d'une telle purification.

Par ailleurs, il existe différentes limites à cette purification « renforcée », tel que son application aux espèces autres que les huîtres et son coût. De ce fait ce type d'opération doit rester exceptionnel, au vu des résultats limités obtenus. En tout état de cause, l'obtention d'une bonne qualité sanitaire des coquillages passe par l'assurance qualité à toutes les étapes, de l'élevage à la commercialisation. La reconquête ou la préservation de la qualité des zones d'élevage est le préalable incontournable.

Le concept de bioaccumulation dans le domaine de l'analyse de risque et des normes de qualité de la DCE

Chrystelle Tissier

Ineris - Ifremer Cellule ARC BP 21105 Centre de Nantes 44311 Nantes Cedex 3

Chrystelle.Tissier@Ifremer.fr

Dans le cadre de la réglementation européenne, les risques des substances chimiques (nouvelles, existantes, pesticides, biocides) sont évalués, notamment pour les organismes aquatiques. Les effets toxiques directs et indirects, via la chaîne trophique (empoisonnement secondaire), sont étudiés. L'empoisonnement secondaire est défini comme : l'observation d'effets toxiques chez des organismes de niveaux supérieurs dans la chaîne trophique suite à l'ingestion d'organismes de niveaux trophiques inférieurs ayant accumulé des substances chimiques.

Des modèles génériques simples d'accumulation chez les organismes aquatiques ainsi que des modèles de chaîne trophique ont été développés et sont utilisés notamment en évaluation des risques où la méthodologie est détaillée dans un guide : le TGD (*Technical Guidance Document*). A la base de ces modèles deux facteurs sont principalement utilisés : le facteur de bioconcentration (BCF) et le facteur de biomagnification (BMF). Ces facteurs permettent d'évaluer la concentration à laquelle les organismes seront exposés. Une concentration sans effet pour les organismes supérieurs ingérant cette nourriture est également déterminée à partir de données de toxicité obtenues en laboratoire après ingestion de nourriture contaminée. Cette méthodologie, développée plus particulièrement dans le domaine de l'évaluation des risques des substances chimiques, a été reprise récemment dans le cadre de la Directive Cadre sur l'Eau pour la définition de normes de qualité environnementale. En effet les normes définies pour la qualité des eaux se doivent d'intégrer la capacité d'empoisonnement secondaire des substances afin d'être les plus protectrices possible.

Les modèles génériques utilisés présentent encore de nombreuses incertitudes pour plusieurs raisons : d'une part la difficulté à définir les deux principaux facteurs que sont le BCF et le BMF et d'autre part la difficulté à relier les capacités d'accumulation et de biomagnification des substances à un effet observable au niveau des organismes supérieurs.

Technologies de la purification / détoxification et réglementation

Pierre Aubert

Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche et des Affaires Rurales Direction Générale de l'Alimentation (DGAL) 251, rue de Vaugirard 75732 Paris edex 15

pierre.aubert@agriculture.gouv.fr

La réglementation sanitaire communautaire prend en compte les connaissances acquises sur la physiologie des mollusques bivalves vivants et les technologies disponibles pour définir les conditions que les professionnels doivent respecter s'ils veulent récolter et mettre sur le marché des coquillages exposés à des contaminations.

Historiquement, seule la décontamination bactérienne par filtration d'eau de mer propre a été autorisée. La directive 91/492/CEE a défini à cet effet :

- les critères bactériologiques à respecter pour une mise à la consommation humaine directe (seuils relatifs à *Escherichia coli* et à *Salmonella*) ;
- les conditions d'agrément des centres de purification dans lesquels les mollusques bivalves récoltés en zone classée B doivent ainsi être traités pour satisfaire à ces critères ;
- les conditions d'agrément et d'utilisation des zones de reparcage où les coquillages récoltés en zone C doivent séjourner au moins deux mois pour éliminer les contaminations microbiologiques.

Le législateur considère que la décontamination chimique (dont les métaux lourds et résidus de molécules organiques) ne peut pas être autorisée en routine; seuls les très jeunes coquillages peuvent être récoltés en zone D pour être ensuite élevés dans les zones dont le classement permet l'exploitation (A, B ou C). En cas de pollution accidentelle, des conditions particulières de gestion peuvent être mises en œuvre comme cela a été nécessaire lors des naufrages de l'ERIKA et du PRESTIGE, en tenant compte des avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments.

En matière de phycotoxines, deux approches sont retenues :

- en cas d'efflorescence non durable responsable de la contamination des coquillages au-dessus des seuils réglementaires, la gestion repose sur une décision officielle d'interdiction provisoire de récolte et de mise sur le marché. La décontamination a lieu de manière naturelle dans la zone de production concernée. Ce sont les contrôles de l'Etat qui vérifient que la décontamination respecte les critères de salubrité en vigueur pour les toxines en cause avant de lever les mesures de restriction ;
- en cas de contamination durable d'une zone par les toxines PSP ou ASP, phénomènes notamment observés en Espagne et au Royaume Uni, des décisions communautaires autorisent la récolte et la mise à la consommation sous conditions très strictes de maîtrise ne concernant que certaines espèces de coquillages. Ces solutions imposent une transformation des coquillages considérés (élimination des parties les plus contaminées ou cuisson selon des barèmes élevés) et des analyses des lots produits finis.

La réglementation communautaire est en voie de révision pour renforcer la responsabilité des opérateurs du secteur alimentaire. Bien que les règles ne laissent pas toute liberté aux professionnels, cette évolution est de nature à encourager le développement de nouvelles solutions de maîtrise des contaminations des coquillages ; mais celles-ci ne pourront être acceptées qu'après évaluation favorable par l'Agence Européenne de Sécurité Alimentaire.