



# Ifremer

**Objet : Votre demande d'éléments de réponse aux remarques de la CRC Bretagne Nord du 4 octobre 2011 dans le cadre de l'alerte REMI niveau 2 en baie de Fresnaie**

**Direction Départementale des Territoires et de la Mer 22  
Délégation à la Mer et au Littoral**

**Avis**

**Institut français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer**

Etablissement public à caractère industriel et commercial

**Laboratoire Environnement littoral et Ressources aquacoles  
Finistère Bretagne Nord**

**IFREMER CRESCO**  
Station IFREMER Dinard  
38 Rue du Port-Blanc  
BP 80 108  
35801 DINARD Cedex  
France

téléphone 33 (0)2 23.18.58.58  
télécopie 33 (0)2 23.18.58.50

Station de Concarneau  
13, rue de Kérose  
Le Roudouic  
29187 Concarneau Cedex  
France

téléphone 33 (0)2 98 97 43 38  
télécopie 33 (0)2 98 50 51 02

**Siège social**  
155, rue Jean-Jacques  
Rousseau  
92138 Issy-les-Moulineaux  
Cedex  
France  
R.C.S. Nanterre B 330 715 368  
APE 731 Z  
SIRET 330 715 368 00297  
TVA FR 46 330 715 368

téléphone 33 (0)1 46 48 21 00  
télécopie 33 (0)1 46 48 22 96  
<http://www.ifremer.fr>

Affaire suivie par Julien CHEVÉ

Dinard, le 12 octobre 2011

Vos réf. : Courriel du 4 octobre 2011 : Tr : Fermeture temporaire de la baie de la Fresnaie suite à une alerte REMI

Nos réf. : LER/FBN/DN-11-Avis n°8/JC

Monsieur,

Suite à votre demande par courriel concernant les remarques de la CRC BN au sujet de la fermeture temporaire de la baie de la Fresnaie suite à une alerte REMI de niveau 2 (annexe 1), voici nos éléments de réponses sur le suivi scientifique et sanitaire :

## **HISTORIQUE**

L'alerte concerne le groupe III pour la zone 22-05. L'annexe 2 montre l'historique des résultats d'analyses.

La première série d'échantillons prélevés le 12/09 a été analysée le 13/09, les résultats d'analyse obtenus le vendredi 16/09 ont permis un déclenchement de l'alerte le même jour.

Les conditions de marée de la semaine suivante (coefficients 45-40-32-34-46) ne permettaient pas d'accéder aux points de surveillance. Le prélèvement a été programmé le premier jour où conjointement les parcs étaient accessibles et où le CVPA de Saint-Malo, laboratoire sous-traitant, pouvaient accepter les échantillons pour analyse, soit le 26/09/11.

Depuis la persistance de l'alerte a été vérifiée pour le groupe III et la fréquence des prélèvements est devenue hebdomadaire : prélèvements des 3 (diminution de la contamination) et 10 octobre (résultats en attente).

#### **PRELEVEMENTS**

Concernant les délais de prélèvement entre la détection d'une contamination et sa la vérification de sa persistance :

- Comme il est précisé dans le cahier de prescription REMI, et repris dans le courrier de la CRC BN, ce délai ne doit pas dépasser les 48h, sous réserve de conditions d'accès favorables. Les coefficients de marée ne nous ont pas permis d'accéder à la ressource dans ce délai.
- Nous mettons toujours tout en œuvre pour pouvoir respecter ce délai et ainsi être à même de détecter et confirmer les contaminations les plus courtes. Le fait qu'un second prélèvement plus éloigné dans le temps soit positif ne remet pas en cause la persistance de la contamination, il la renforce.

Concernant le point de prélèvement 023-P-011 « Fresnaie F'5 » groupe III, huîtres creuses :

- Le prélèvement d'huîtres creuses est réalisé au point 023-P-011 situé au plus près de la filière afin d'être le plus sensible aux sources de contamination de la zone, dans un objectif de protection de la santé du consommateur. Ces poches ne semblent effectivement pas régulièrement travaillées, ce qui n'affecte en rien la qualité des données obtenues dans le cadre de la surveillance. D'autant plus que cela permet d'assurer que les coquillages prélevés sont présents sur le site depuis quinze jours minimum.
- Par ailleurs, nous prélevons les plus petits individus sur les tables les plus hautes. La distance de ces poches par rapport aux sédiments est certes faible, mais vu les déplacements de sédiments dans cette zone, nombre de parcs se rapprochent de ces conditions.

#### **DIFFUSION DES RESULTATS**

La diffusion des résultats, au moyen des bulletins d'information REMI, est tributaire des délais entre le prélèvement et la réception des résultats d'analyses.

Les échantillons sont traités le lendemain du prélèvement. Nous sous-traitons les analyses microbiologiques au CVPA, laboratoire accrédité COFRAC pour le dénombrement des *Escherichia coli* qui utilise la méthode de référence XP ISO TS 16 649-3. Cette méthode nécessite 48h avant d'obtenir un résultat.

Ces délais sont incompressibles et nous diffusons les bulletins dès la réception des résultats.

#### **NIVEAU DE CONTAMINATION ET SEUIL SANITAIRE**

Le classement sanitaire est défini en France par groupe de coquillages suivant l'arrêté du 21/05/1999 : groupe II : bivalves fousseurs (coques, praires...) et groupe III : bivalves non-fousseurs (huîtres et moules).

Aussi la qualité microbiologique concerne un groupe et non une espèce de coquillages. Le dispositif de surveillance et de classement français est basé sur ce principe.

Par ailleurs, une étude récente menée par Ifremer sur les données REMI entre 1989 et 2010 sur la comparaison des niveaux de contamination entre différentes espèces de bivalves met en évidence qu'au sein du groupe III, il n'existe pas de différence significative entre les niveaux de contamination sur les huîtres et sur les moules. (Poster joint présenté à l'International Conference on Molluscan Shellfish Safety 2011).

Ainsi l'interprétation scientifique et sanitaire de cette situation est claire. La faible différence de contamination entre les huîtres et les moules s'explique par leurs différences physiologiques mais aussi par l'hétérogénéité de la contamination de la colonne d'eau. La logique sanitaire est de privilégier le résultat le plus important. Ces deux résultats sont proches, l'un est au-dessus du seuil sanitaire, traduisant d'un risque potentiel pour la santé humaine et si l'autre est en-dessous, il reste particulièrement exposé à la contamination avérée de son voisin.

#### CONCLUSION

Confronté à une telle situation sanitaire, il est légitime d'avoir des interrogations. Cette alerte sanitaire a été parfaitement gérée suivant les prescriptions du réseau de contrôle microbiologique des zones de production conchylicole. Si ces questionnements ont permis de mieux présenter nos méthodes de travail, un certain nombre de réponses auraient pu être apportées en amont. Nous restons à la disposition des professionnels pour échanger plus directement sur les réseaux de surveillances et leurs interprétations.

**Claire Rollet**  
**Chef de Station Ifremer de Dinard**

#### PIECE JOINTE

- Courrier du 4 octobre 2011 de la CRC BN
- Bulletin d'alerte REMI du 6 octobre 2011
- Poster "Comparison of microbiological contamination level between different species of shellfish" présenté au ICMSS 2011

\*\*\*\*\*

Copie interne Ifremer :

- ODE-DYNECO-VIGIES
- ODE-LER

# Comparison of microbiological contamination level between different species of shellfish

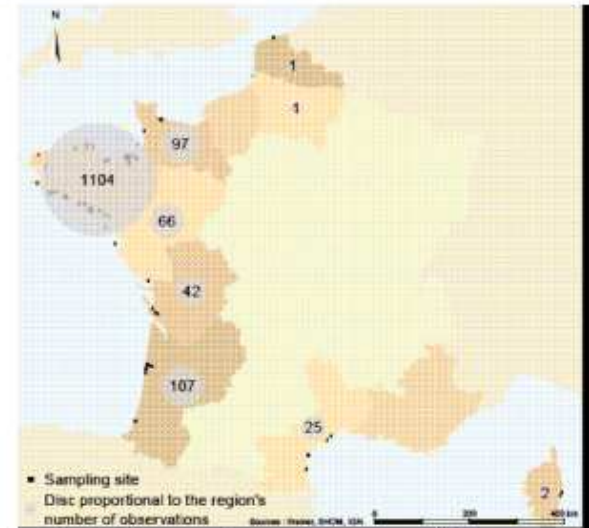
**Amouroux I., Soudant D.**  
 Isabelle.Amouroux@ifremer.fr, Dominique.Soudant@ifremer.fr, RBE & ODE Department / Dyneco/vigies, Ifremer, BP 21105, 44311 Nantes Cedex 3, France

## Introduction

Each area from which shellfish are collected to be commercialised has to be classified and monitored on microbiological parameter in order to protect consumer health, according to requirements of regulation (EC) n°854/2004. The microbiological monitoring is carried out by Ifremer since 1989 throughout the REMI, French microbiological monitoring network for shellfish growing areas. REMI allows notably to evaluate and monitor faecal contamination levels (*Escherichia coli* /100 g Flesh and Intravalvular Liquid -FIL of shellfish production areas.

In France, 323 areas are delimited. Each one of these areas can be classified either for one, two or three groups of shellfish (group 1 : gastropod, echinoderm and tunicate ; group 2 : filter feeding burrowing bivalves (cockle, clams...) ; group 3 : filter feeding non burrowing bivalve : oyster and mussel). Finally, 458 areas are classified for a group of shellfish. Some on these areas are monitored for two groups, corresponding to at least two different species in a concomitant way (same sampling point, same time of sampling).

The present study was conducted in order to optimize the sampling strategy, allowing to keep a high level of consumer's health protection while minimizing the costs of surveillance. Its aim is to identify if one or more species can be used as indicator species for microbiological contamination of other species present.



Map 1 : Location of monitoring points sampled for two species of molluscs and number of observation per point.

## Material and methods

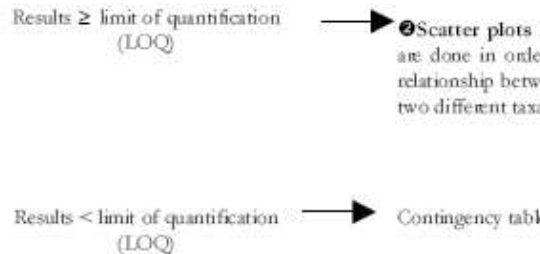
This study is based on the analysis of REMI data collected from 01/01/1989 to 31/12/2010. For all couples of taxa, common sites and dates were identified. Among 100 107 records present in the national database Quadragé<sup>2</sup>, a total of 1 525 couples were extracted, representing all the couples of shellfish species that were concomitantly present at the same time. Sampling points included 84 locations (Map 1), most of the data are from Brittany.

In order to insure the statistical significance of results, we arbitrarily decided to work with couple of species with more than 30 results. Seven couples of taxa have been kept concerning five species : two filter burrowing, *Cerastoderma edule* and *Tapes spp.*, two non filter burrowing, *Mytilus spp* and *Crassostrea gigas* and one gastropod (Tab. 1).

Table 1 : Number of results for couples of taxa with more than 30 results at common sites and dates

	<i>Tapes spp</i>	<i>Mytilus spp</i>	<i>Crassostrea gigas</i>	<i>Patella vulgata</i>
<i>Cerastoderma edule</i>	70	345	316	26
<i>Tapes spp</i>		55	528	No data
<i>Mytilus spp</i>			105	80
<i>Crassostrea gigas</i>				No data

Depending on the results on *E. coli* two types of statistic approach have been done



- 1 Results are transformed in base-10 logarithms.
- 2 Scatter plots with an orthogonal regression are done in order to study the unique reciprocal relationship between concentrations measured for two different taxa.
- 3 Differences of log-concentration are tested to be null using the non-parametric Wilcoxon rank test ( $\alpha=0,05$ ). The null hypothesis of this test is the nullity of the median of the differences.
- 4 The Bonferroni correction is used to address the problem of multiple comparisons.
- 5 The robust and non-parametric Hodges-Lehmann estimate the median of the log-differences is given.

## Results

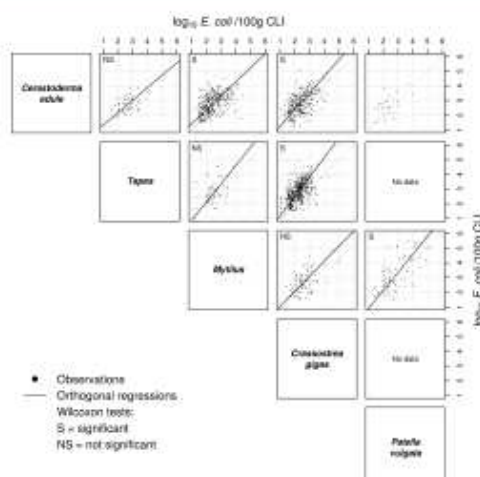


Figure 1: Scatter plots of observations for couples of taxa with more than 30 observations at common sites and dates with more than 7 days between two dates.

Table 2: Wilcoxon tests ( $\alpha=0,05$ ) and median estimates for comparisons in  $\log_{10}$  E. coli/100g CLI between couples of taxa. Adjusted p-values are computed according to Bonferroni.

Comparisons in $\log_{10}$ E. coli/100g FIL	Median of differences [95% confidence interval]	p-values	Adjusted p-values
<i>Cerastoderma edule</i> - <i>Tapes</i>	0.094 [0.063 ; 0.254]	0.2375	> 1
<i>Cerastoderma edule</i> - <i>Mytilus</i>	0.388 [0.313 ; 0.463]	< 1e-04	< 1e-04
<i>Cerastoderma edule</i> - <i>Crassostrea gigas</i>	0.48 [0.403 ; 0.555]	< 1e-04	< 1e-04
<i>Tapes</i> - <i>Mytilus</i>	0.244 [0.017 ; 0.469]	0.0241	0.1688
<i>Tapes</i> - <i>Crassostrea gigas</i>	0.614 [0.568 ; 0.663]	< 1e-04	< 1e-04
<i>Mytilus</i> - <i>Crassostrea gigas</i>	0.102 [0.05 ; 0.259]	0.1677	> 1
<i>Mytilus</i> - <i>Patella vulgata</i>	0.383 [0.169 ; 0.591]	0.0007	0.0082

Table 2: Wilcoxon tests ( $\alpha=0,05$ ) and median estimates for comparisons in  $\log_{10}$  E. coli/100g CLI between couples of taxa. Adjusted p-values are computed according to Bonferroni.

Table 3: Contingency tables

	<i>Cerastoderma edule</i> > LOQ	<i>Cerastoderma edule</i> ≤ LOQ
<i>Mytilus</i> > LOQ	354	20
<i>Mytilus</i> ≤ LOQ	318	86

	<i>Crassostrea gigas</i> > LOQ	<i>Crassostrea gigas</i> ≤ LOQ
<i>Tapes</i> > LOQ	549	59
<i>Tapes</i> ≤ LOQ	72	346

Table 3: Contingency tables

## Discussion & conclusion

As a result of the statistical treatment (Fig1, Tab. 2), three pairs of species show no significant differences in their level of microbiological contamination. This applies to the following pairs:

- *Cerastoderma edule* / *Tapes spp.*, *Tapes spp* / *Mytilus spp.*, *Mytilus spp* / *Crassostrea gigas*.

For four pairs of shellfish species, significant differences in levels of contamination are highlighted:

- *Cerastoderma edule* / *Mytilus spp.*, *Cerastoderma edule* / *Crassostrea gigas*, *Tapes spp* / *Crassostrea gigas*, *Mytilus spp* / *Patella vulgata*

Based on the following property of the logarithm :  $\log(A) - \log(B) = \log(A/B)$ , the ratio of concentration between species can be estimate. Thus, the contamination level of:

- *Cerastoderma* is about 2.5 times higher than *Mytilus spp.*
- *Cerastoderma edule* is about 3 times higher than *Crassostrea gigas*.
- *Tapes spp* is about 4 times higher than *Crassostrea gigas*.
- *Mytilus spp* is about 2.5 times higher than *Patella vulgata*.

For non-quantifiable data, ie data below the LOQ of the method used, the data pairs of species showing significant differences were examined. Previous results are confirmed by contingency tables (tab 3) which indicates for example that for 593 results "< LOQ" on *Crassostrea gigas*, results on *Tapes* were quantified. For 348 results, both were "< LOQ" and 72 indicates a results "< LOQ" for *Tapes* while results had been quantified for *Crassostrea gigas*.

From this study based on 1525 couples of data collected by the REMI since 1989, a significant difference of the microbiological contamination level between taxa has been demonstrated. This difference does not allow for modelling of microbiological contamination, but identifies species that can be considered as sentinel for other species. These results confirm the existence of groups of shellfish. *Cerastoderma edule* is a sentinel species for group 2 (burrowing bivalves), and either *Mytilus spp* or *Crassostrea gigas* can be used to represent group 3 (non burrowing bivalves). *Cerastoderma spp* can be used as indicator for all commercial species present in the area (*Mytilus spp.*, *Crassostrea gigas*, *Tapes spp*).