

Expertise *Alexandrium*

*Dossier suivi par : Audrey Bruneau, Maud Lemoine, Zouher Amzil, Stéphane Guesdon,
Aude Piraud, Aurore Gueux, Ines Le Fur, Morgan Le Moigne*

Présentation Ifremer
DDTM, DDPP17 et 85 / CRC17 et 85
Expertise 23-068

20 Mars 2025
DDTM de La Rochelle

Contenu de la présentation

- Introduction : contextualisation de la demande d'expertise de la DDTM17
- Les microalgues du genre *Alexandrium* : tendance d'évolution + saisonnalité
- Généralités sur les toxines (PSP) produites par *Alexandrium* et sur la toxicité selon les espèces, rappels sur le REPHY
- Phénomène de contamination/ décontamination/ détoxification (exemples d'expérimentations avec paramètres naturels)
- Exemple REPHYTOX en France (Paramaps et autres...)
- Ce qu'il faut retenir – perspectives



Introduction

Mai-Juin 2023 : fortes contaminations par des toxines lipophiles (produites par le genre *Dinophysis*) et forte efflorescence à *Alexandrium* (producteur de PSP) au niveau du Pertuis Breton et d'Antioche = crainte de la profession mytilicole exprimée face à de multiples pressions sur la production ;

Saisine de la DDTM17 pour répondre à différentes interrogations (7 thèmes) et faire un retour d'expérience de l'évènement ;

Financement de l'expertise prévu par la DGAL puis annulation ;

Raffinement des questions entre la DDTM17 et Ifremer (questions prioritaires) ;

Présentation orale lors d'une réunion dédiée en présence des DDTM/DPP 17 et 85, CRC 17 et 85, Ifremer etc.



Microalgues marines

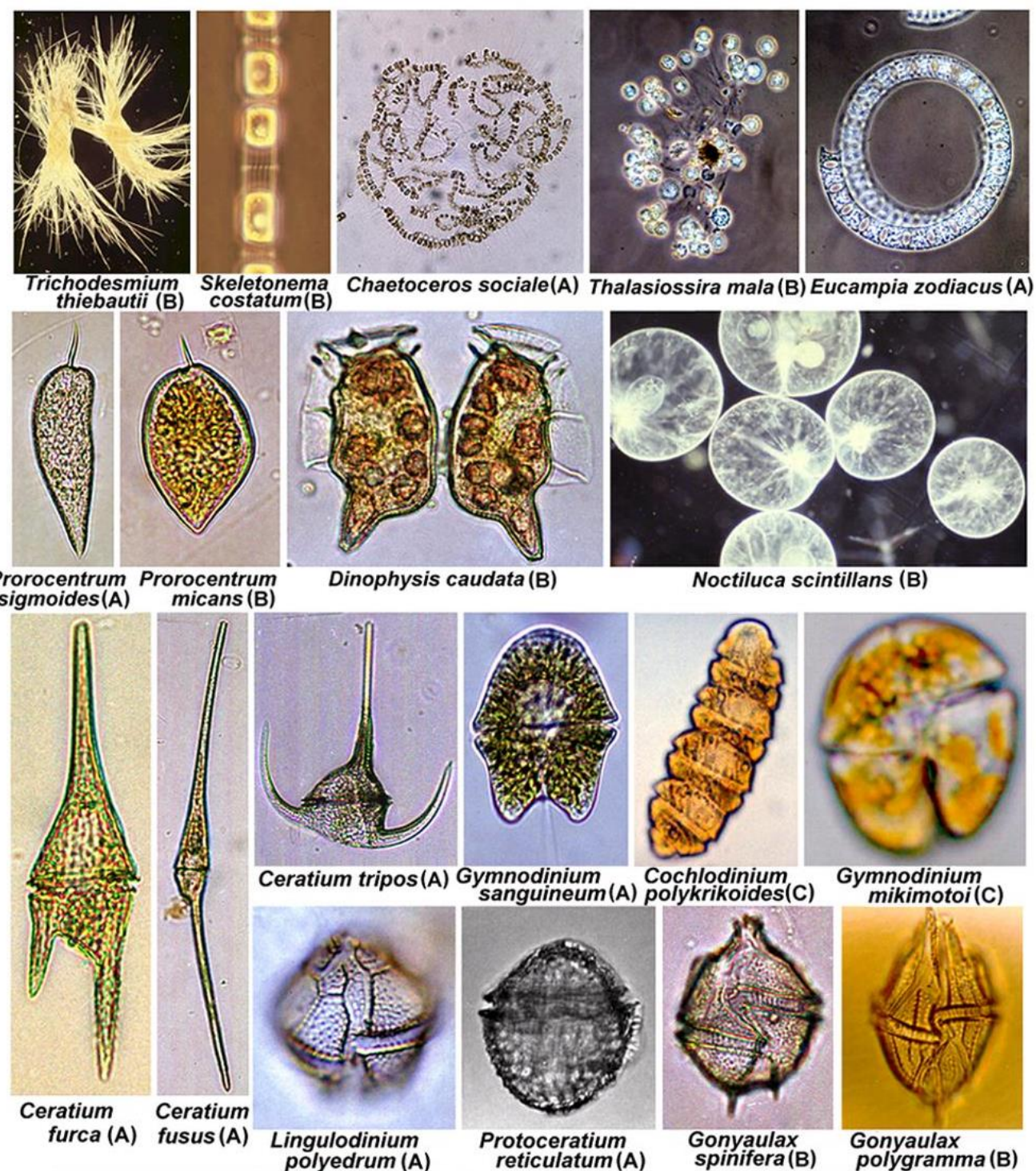
Elément fondamental de la chaîne alimentaire, sert de nourriture à de nombreux organismes.

Nombre de taxons au niveau mondial

Phytoplancton total : ~ 5000

Formant des eaux colorées : ~ 250

Toxiques ~ 170



Genre *Alexandrium* & Profils toxiniques

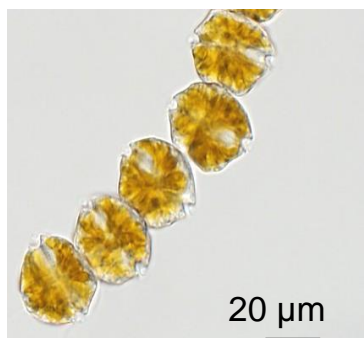
- Au niveau international, au moins 14 espèces sont considérées productrices de toxines paralysantes.
- En France : *A. minutum* en Bretagne depuis 1988 & *A. catenella* en Méditerranée depuis 1998.



Alexandrium minutum

- Profil toxinique

Toxines les plus abondantes : **C-1,-2 ; GTX-2,-3.**

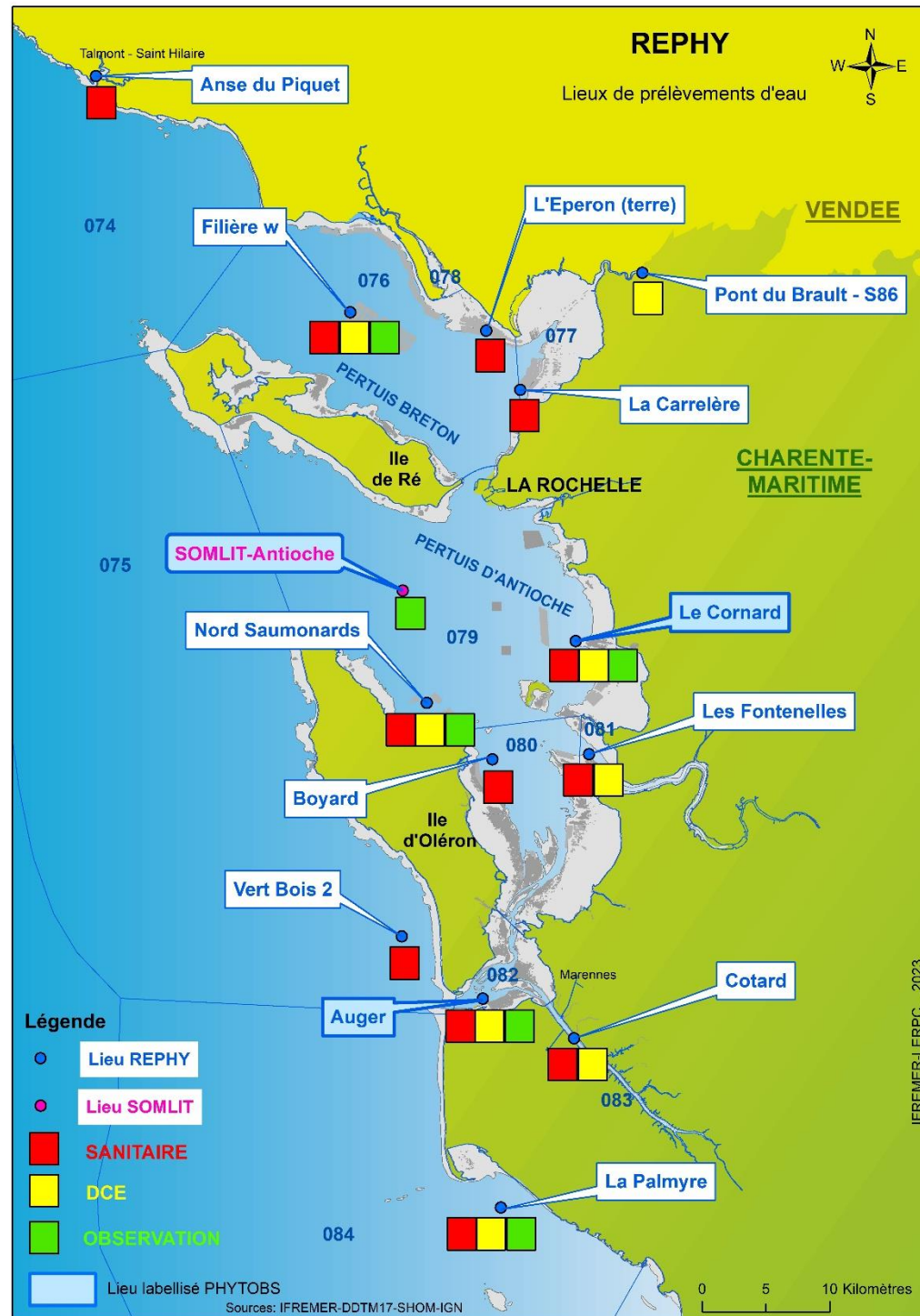


Alexandrium catenella

- Profil toxinique

Toxines les plus abondantes : **C-1,-2 ; GTX-2,-3 & GTX-1,-4,-5.**

REPHY dans les Pertuis Charentais



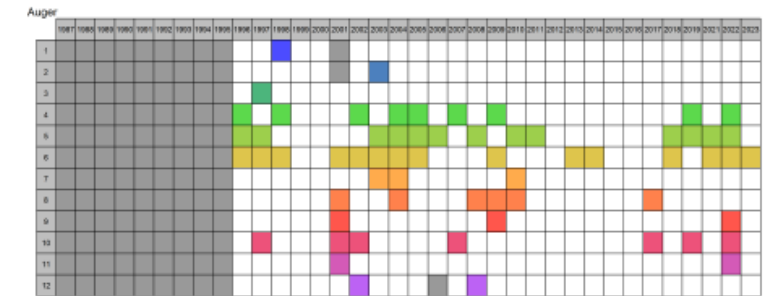
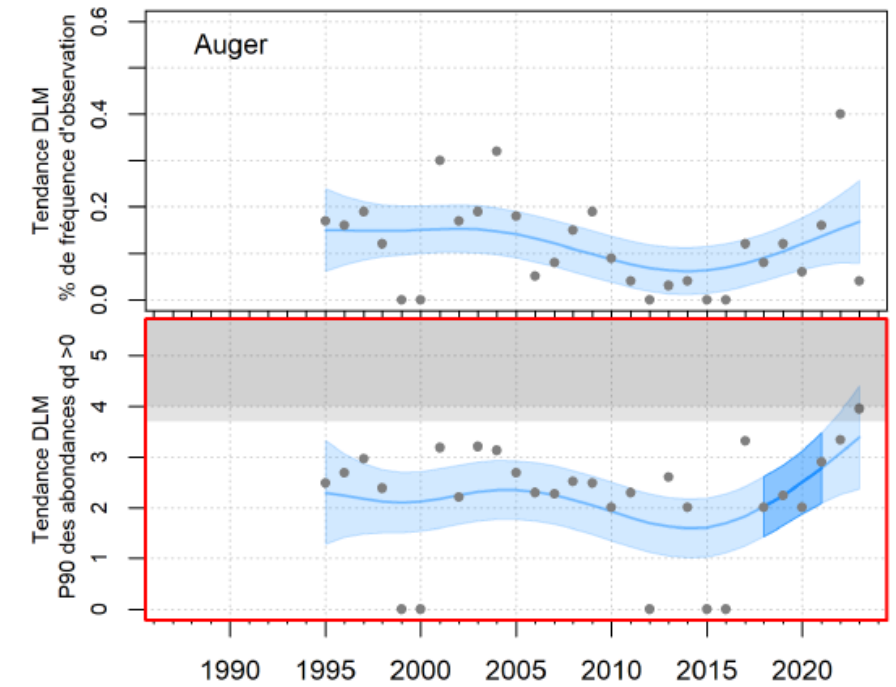
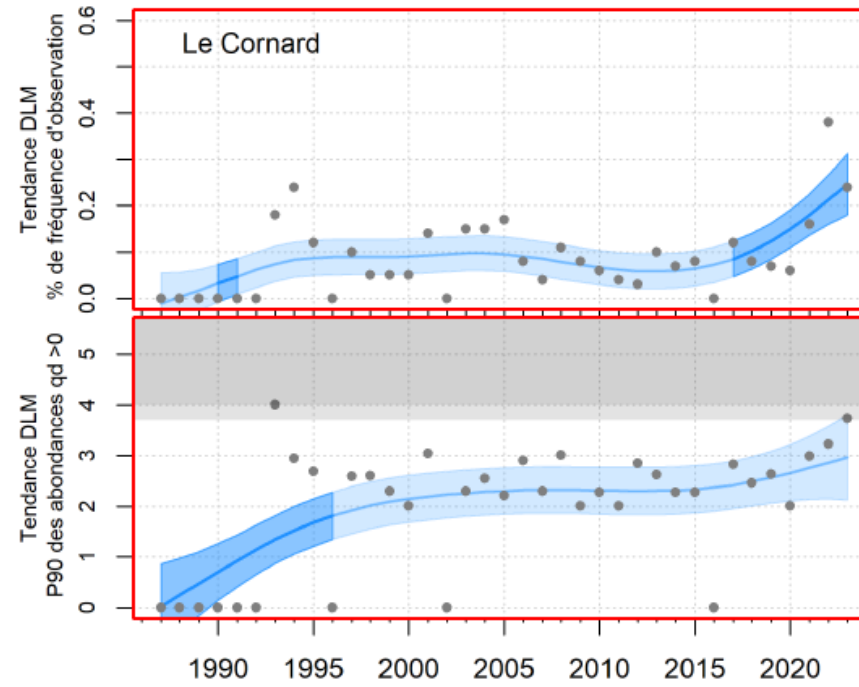
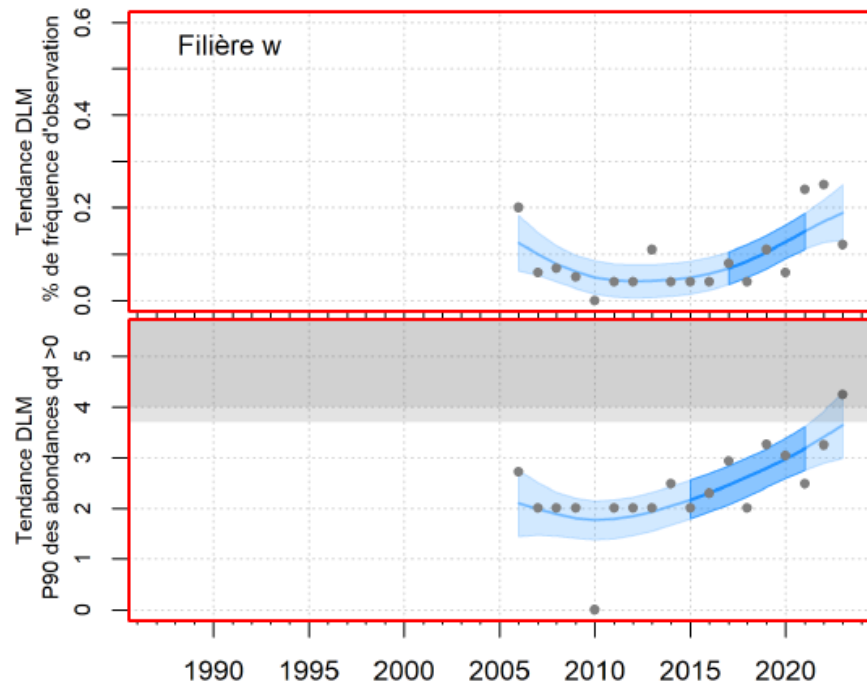
Stratégie REPHY : Flore Totale et Flore Indicatrice

- Niveau : Surface (0-1m), Surface-Fond (profondeur <3 m), Surface (0-20cm), de 3 à 5 mètres, Mi-profondeur, 2 mètres

Pour l'exploitation des données :

- Série temporelle de plus de 10 ans
- Série temporelle s'étendant jusqu'en 2022 minimum
- Médiane annuelle du nb d'échantillons >20
- Minimum 10 mois échantillonnés/ an (2nd temps)

Alexandrium tendance d'évolution d'Alexandrium dans les Pertuis Charentais



- Présence saisonnière de plus en plus large (présence tout l'année sur certaines stations)
- Pour stations situées entre la Loire et la Gironde, % de fréquence d'observation annuelle de plus en plus fort et des abondances en augmentation (tendance significative à la hausse)



Contamination des mollusques → impact économique

Procédés pour le maintien de la commercialisation des mollusques lors des proliférations de microalgues toxiques

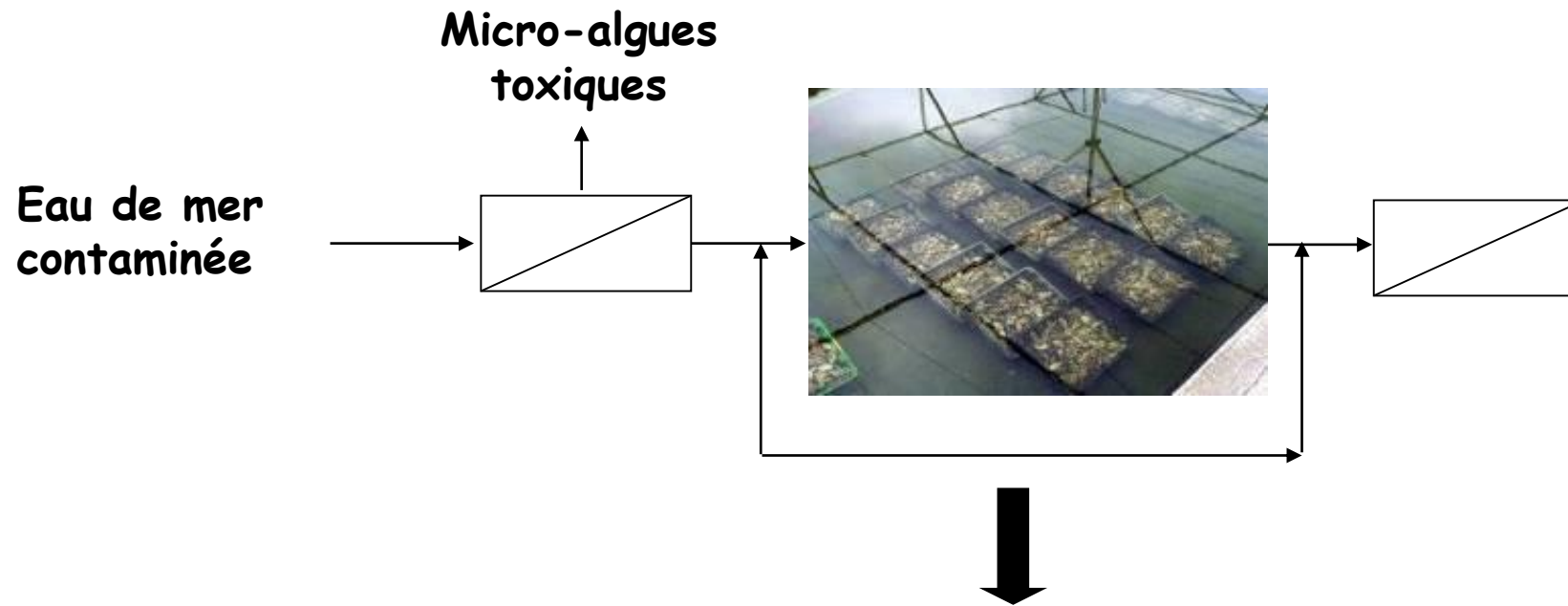
Années 2000 - 2010 : efforts de recherche & développement orientés vers des procédés permettant de préserver une activité commerciale durant les périodes de fermeture des bassins de production.

Deux solutions principales avaient été envisagées :

1. Déplacement des bivalves, avant une contamination, dans eau pompée dans une zone fermée, après traitement de l'eau.
2. Détoxifier les bivalves, déjà contaminés, plus rapidement qu'une détoxification naturelle in situ.

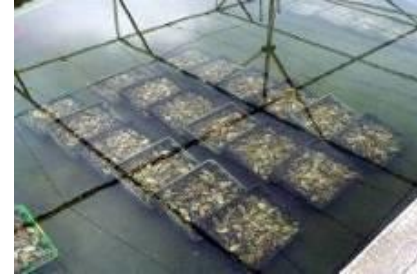
Nota : contrairement aux toxines lipophiles causant des épisodes toxiques récurrents, peu de travaux sur les essais expérimentaux de détoxification des toxines paralysantes.

1. Déplacement de bivalves dans un bassin alimenté en eau pompée dans une zone contaminée fermée (1/3)



Quel procédé sera le plus adapté à l'élimination totale des micro-algues toxiques y compris les toxines dissoutes?

1. Déplacement de bivalves dans un bassin alimenté en eau pompée dans une zone fermée (2/3)



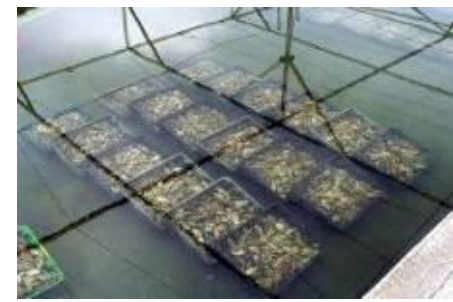
➤ Filtre à sable :

- Simple d'utilisation, moins onéreux et attractif.
 - Performances de rétention du filtre à sable en fonction de la hauteur du sable, de la taille des grains et de la distribution granulométrique.
 - Risque lié à la lyse mécanique des cellules algales entraînant la libération de toxines et donc un risque de leur accumulation dans les mollusques sains initialement.
-
- Seul un sable fin (diamètre de grain compris entre 0,1 et 0,3 mm) permettrait une rétention de plus de 90% des microalgues.
 - Des essais expérimentaux ont montré que :
 - ✓ les toxines PSTs sont stables à l'état dissous pendant 2 semaines environ,
 - ✓ les bivalves (huîtres, moules) se contaminent en se nourrissant des microalgues toxiques, et non en ingérant des toxines dissoutes.



Filtration sur sable

1. Déplacement en eau dans un bassin alimenté en eau pompée dans une zone fermée (3/3)



- **Filtres à membrane (10 kDa - 300 kDa - 0,2 μm) :**
- 0,2 μm permettait d'avoir une productivité la plus élevée tout en retenant l'intégralité des microalgues (*A. minutum* ou *H. triquetra* ou *P. Lima* ou un cocktail d'algues) :
 - Abattements de plus de 99% en microalgues et 90% en matière en suspension (30 000 cell/mL).
 - Aucune lyse des cellules n'a été remarquée.
- Reste à envisager des tests de filtration en conditions réelles avec de l'eau de mer naturelle (en période de bloom) avec des unités de taille industrielle.
 - **Un couplage de deux systèmes de filtration peut-être envisagé : un filtre à sable monté en série avec une filtration à membrane.**
 - **Addition en série d'une cartouche de charbon actif pour adsorber d'éventuelles toxines dissoutes**



Filtration membranaire

2. Procédés de détoxification (1/7)

Différents échelles :

- 1. réponse physiologique
- 2. détoxification
- 3. la charge en toxines



1. Boîtes individuelles



2. Raceways



3. Bacs de 800 L

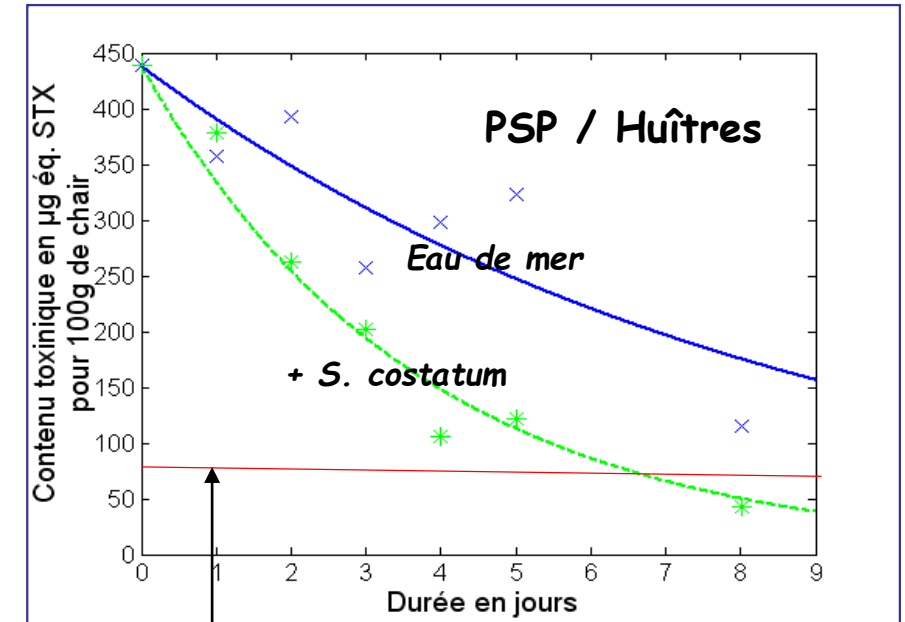
Objectifs :

- Réduire la charge en toxines dans les bivalves par des procédés n'altérant pas la qualité de ceux-ci.
- Atteindre une durée de détoxification plus courte que dans le milieu naturel (demande des professionnels).
- Développer des procédés réalistes, faciles à mettre en œuvre, économiques et efficaces.

2. Tests de procédés de détoxification (2/7)

➤ Effet de la nourriture particulaire organique

- Présence d'une microalgue de fourrage (*Skeletonema costatum*) augmente significativement la vitesse de détoxification.
- Les scores obtenus sur les huîtres sont acceptables pour un procédé de détoxification rapide (environ une semaine).



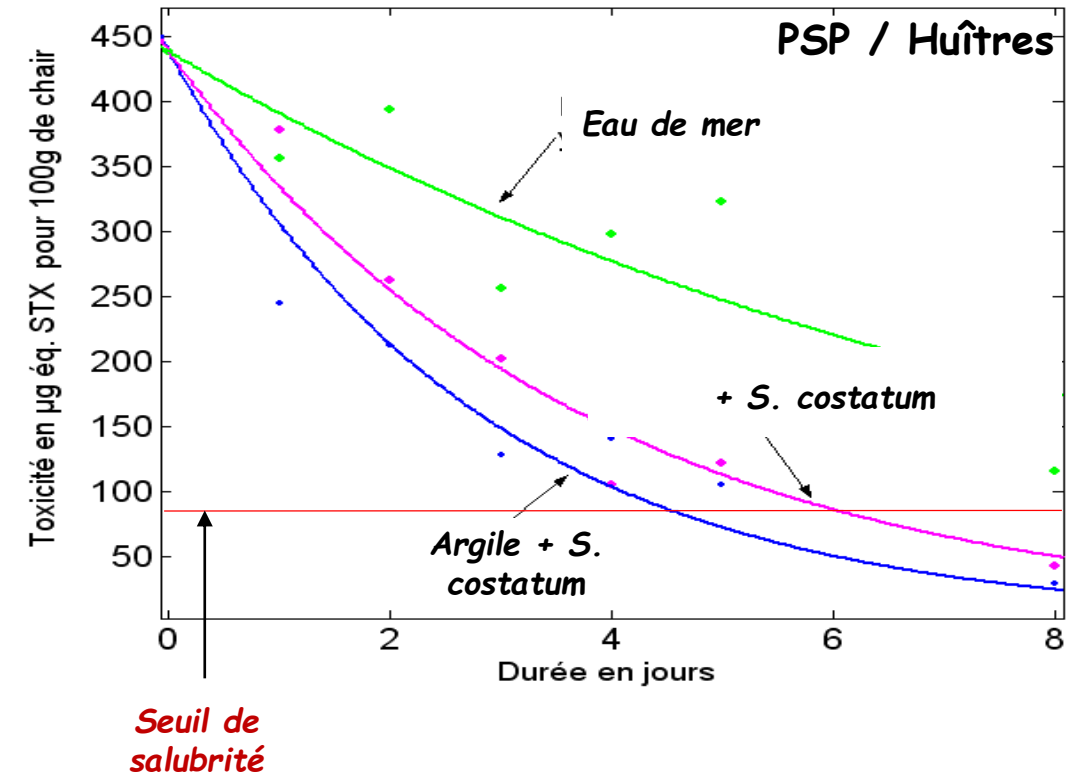
Seuil de salubrité
(80 µg/100 g)

2. Tests de procédés de détoxification (3/7)

➤ Effet du matériel particulaire inorganique

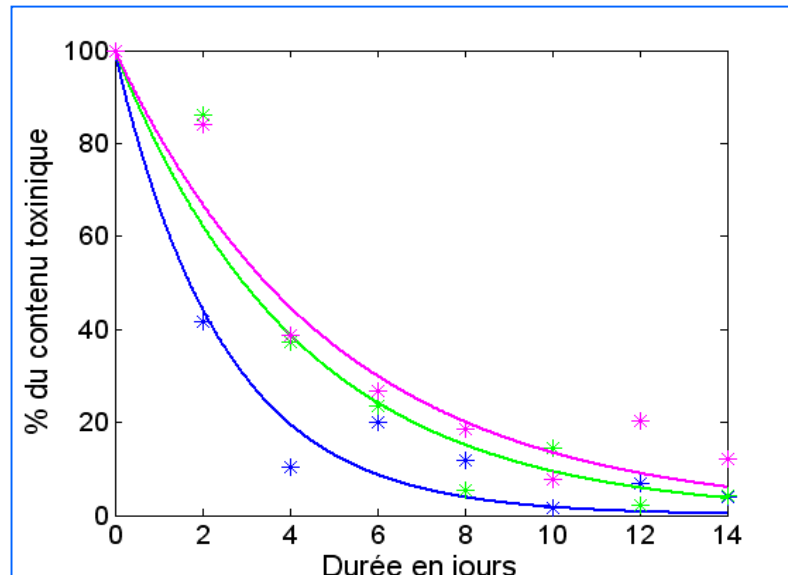
Ajout de particules fines d'argile (kaolinite : silicates) à de la nourriture de la microalgue non toxique (*Skeletonema costatum*).

- Malgré une apparente amélioration d'un ajout d'argile, la différence avec *S. costatum* seul n'est pas significative.
- Par rapport à des huîtres non nourries, une application de 20 mg/ml d'argile pendant 4 jours diminue significativement la toxicité mais sans atteindre le seuil de salubrité.



2. Tests de procédés de détoxification (4/7)

- Influence de la qualité de la nourriture sur l'abattement en toxines PSP des huîtres.



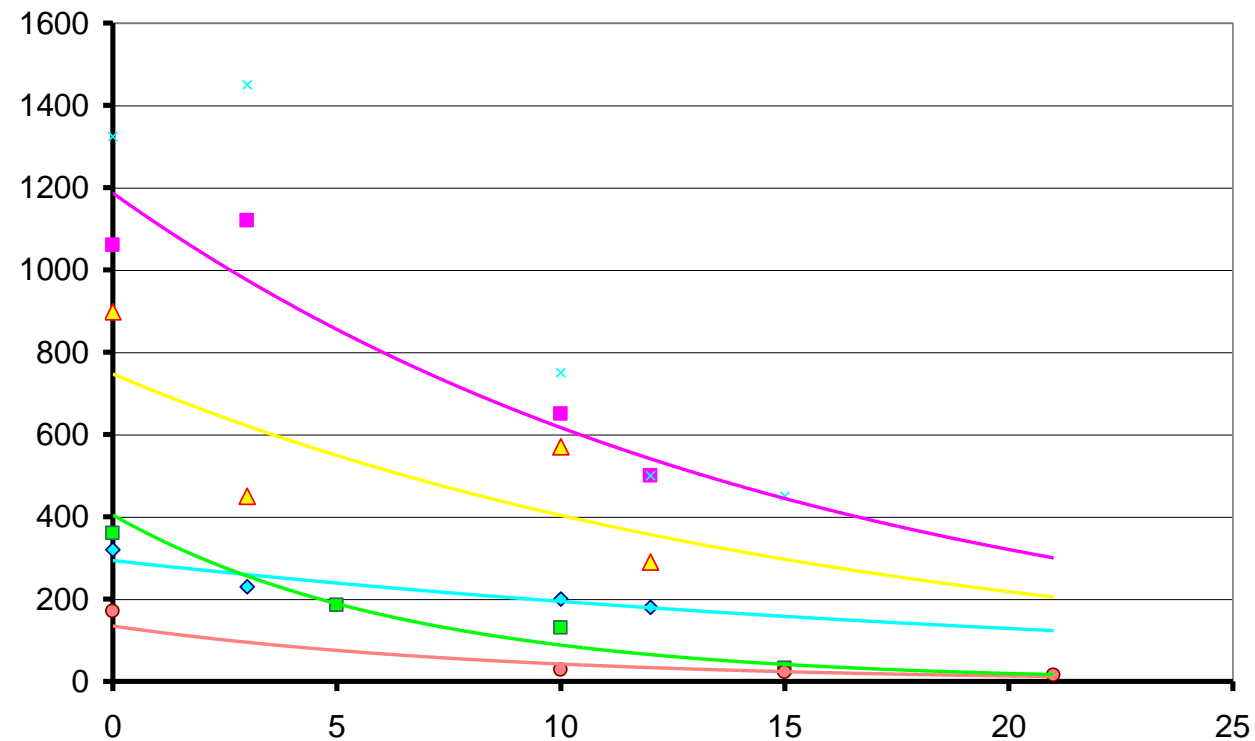
	glucides	lipides	protéines
<i>I. galbana</i>	3.4	26.6	41.8
<i>T. suecica</i>	0.4	14.4	46.9
<i>S. costatum</i>	3.1	10	27.7

Composition biochimique en % de matière sèche

Compte tenu de la valeur des écart-types, il n'y a pas de différences significatives entre les différents régimes alimentaires

2. Tests de procédés de détoxification (5/7)

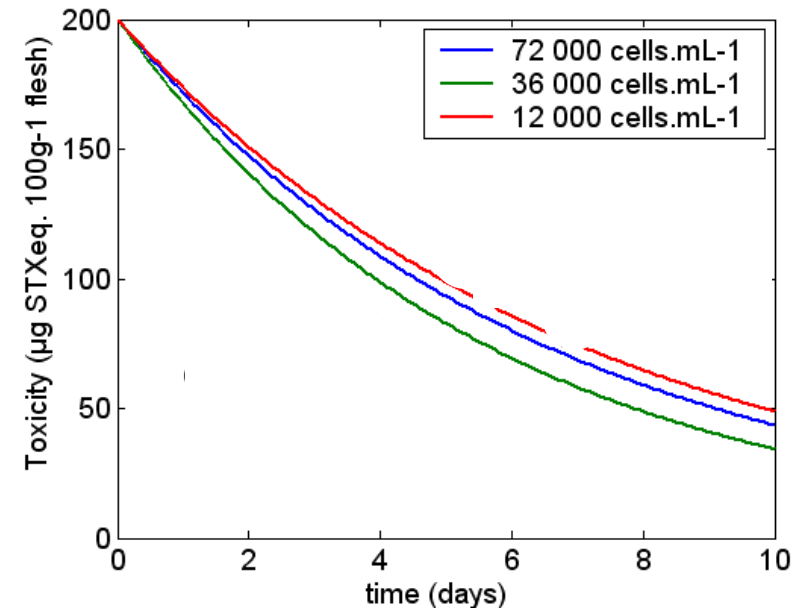
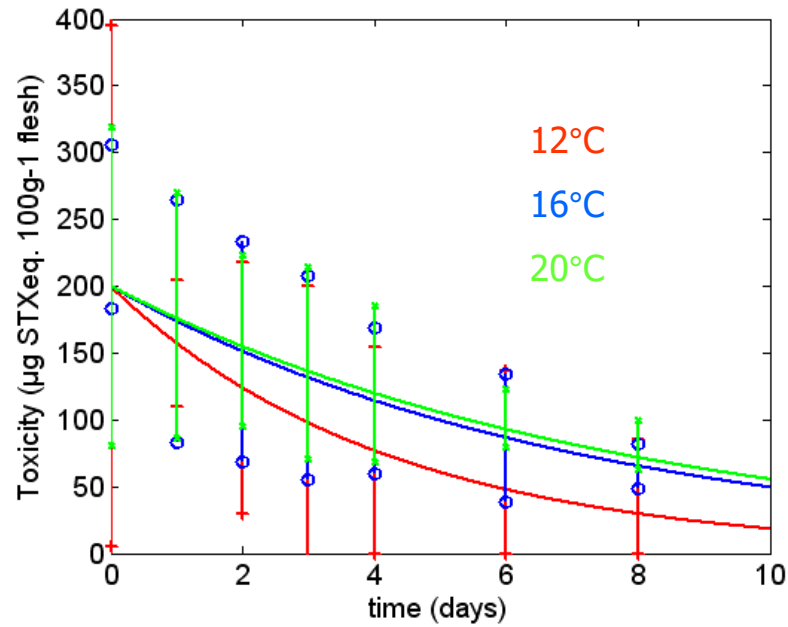
- Ingestion de particules alimentaires : influence de la toxicité initiale sur la détoxification PSP de moules nourries avec *Tetraselmis suecica*.



Quelque soit la toxicité initiale, la cinétique de détoxification suit la même tendance

2. Tests de procédés de détoxification (6/7)

- Rôle de la température et de la concentration en particules (*Isochrysis*) sur la détoxification des huîtres.

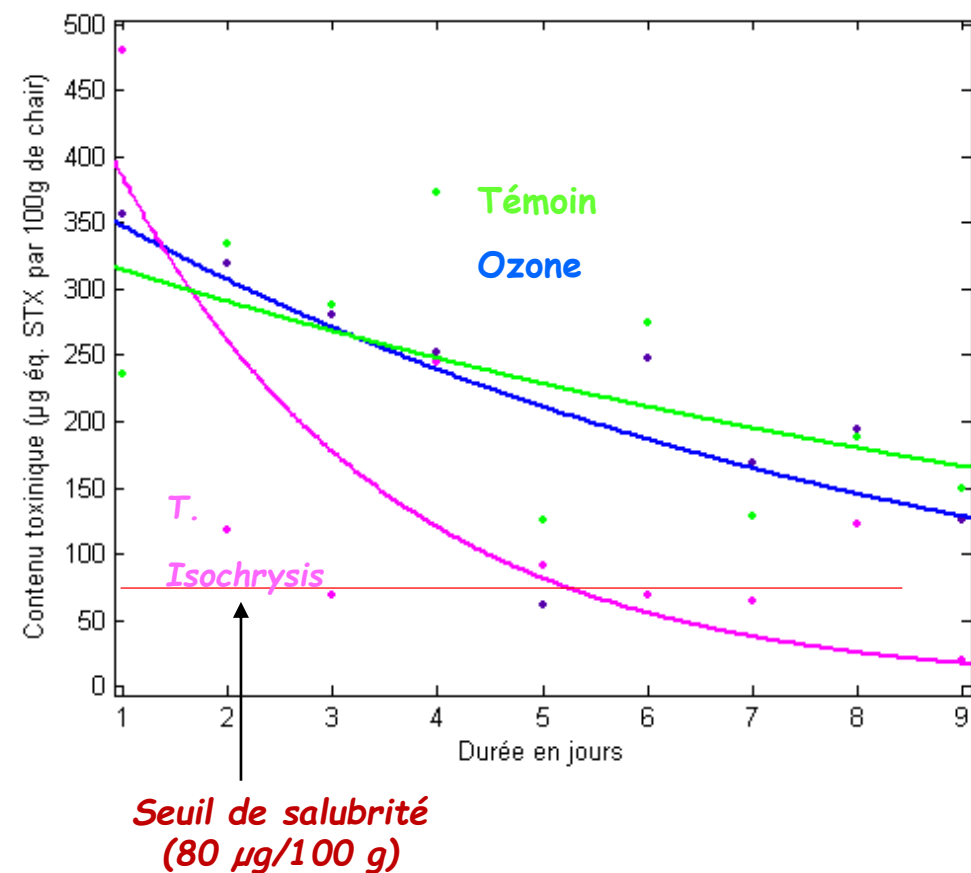


Compte tenu de la valeur des écart-types, pas d'effet significatif des températures ou des concentrations cellulaires en *Isochrysis* dans les gammes étudiées

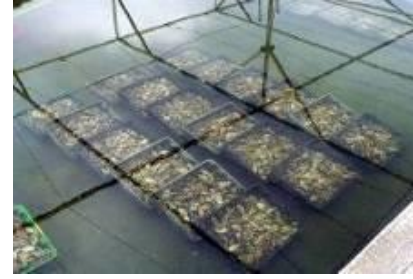
2. Tests de procédés de détoxification (7/7)

➤ Détoxification physico-chimique (ex. l'ozone)

- Résultats controversés dans la littérature pour les PSP.
- Des essais en laboratoire ont montré qu'il n'y avait pas de différence entre un témoin non nourri et de l'eau ozonée à 1 mg/L alors que les huîtres nourries avec *Isochrysis* se décontaminaient en 6 jours.



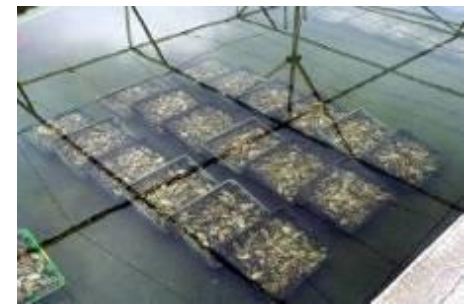
En résumé (1/2)



Plusieurs essais expérimentaux ont montré que :

- le plus simple des procédés de décontamination consiste à transférer les coquillages contaminés en zone salubre pour qu'ils s'auto-épurent, cependant, cette méthode n'est pas à l'abri de contamination d'une zone saine par des kystes d'algues toxiques.
- les glandes digestives (GD) étaient détoxifiées plus rapidement que les autres organes dans l'ordre suivant :
GD > branchies > manteau > muscle adducteur.
- La cinétique de détoxification des mollusques est dépendante de différents facteurs dont :
 - l'âge, la taille de l'espèce de bivalve et sa croissance pondérale ;
 - le niveau initial de contamination qui dépend de la concentration algale & la toxicité cellulaire ;
 - les variations individuelles intra- et inter-espèces, l'ingestion de l'algue, sa digestion et son assimilation ;
 - le transfert des toxines au sein des différents organes ;
 - les bio-transformations des toxines PSTs vers d'autres métabolites toxiques dans la chair des bivalves.

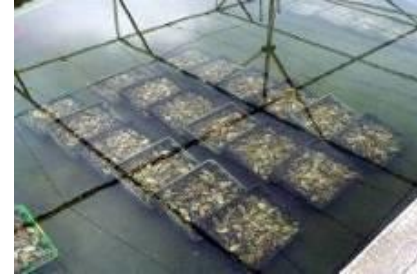
En résumé (2/2)



- Les cinétiques de détoxification sont comparables entre huîtres et moules contaminées avec *Alexandrium minutum*.
- La nutrition des huîtres ou des moules contaminées avec un régime algal de fourrage améliore la vitesse de détoxification par rapport au milieu naturel.
- L'effet détoxifiant de la nourriture n'est pas significativement amélioré par la température, la concentration ou la qualité des microalgues non toxiques (flagellés et/ou diatomées).

- Les bivalves exposés à des conditions identiques de contamination par les toxines montrent généralement une capacité variable de détoxification :
 - ➔ Espèces à taux de détoxification rapide (ex. moules, huîtres), avec une corrélation positive entre la toxicité initiale et le temps nécessaire pour la détoxification.
 - ➔ Espèces à détoxification lente (ex. coquilles St Jacques, Couteaux).

Questions posées... (1/2)

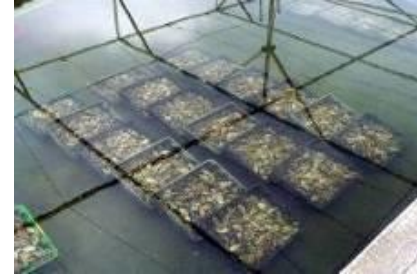


... sur les aspects technico-économiques

- **Combien coûte une interdiction de la commercialisation des coquillages pour un bassin conchylicole donné ?**
- **Investissement nécessaire à une sauvegarde/détoxification : est-il vraiment intéressant pour une entreprise, par rapport à la détoxification « naturelle » qui s'opère dans le milieu (reparcage en eau propre)?**
- **Les surcoûts énergétiques et les coûts des autocontrôles pendant les process ?**
- **Est-ce que les exploitants ont intérêt à se grouper pour utiliser une installation en commun ?**
- **Quelle est la sensibilité de ces résultats à des variations de prix ?**
- ...

Questions posées... (2/2)

... sur les procédés de détoxification



La réglementation interdit de sortir les coquillages de l'eau quand une toxicité est avérée, en vue d'une détoxification.

Quelle que soit le procédé, certaines questions restent posées sur la conception et le montage du procédé à tester à l'échelle industrielle :

- Quantité de bivalves à détoxifier pour que le procédé soit représentatif ?
- Choix du niveau initial de contamination : détoxification de mollusques contaminés juste au-dessus du seuil de sanitaire ou très contaminés ?
- Un résultat montrant une détoxification serait difficile à extrapoler à l'ensemble du lot de bivalves traité à cause des variations individuelles au sein d'une même espèce ?
- Capacité des professionnels à entretenir des cultures en masse d'algue fourrage dans le cas d'une détoxification par voie alimentaire ?
- ...

Les réponses à ces questions relèvent des compétences de l'ANSES et la DGAL chargés de l'évaluation de risque sanitaire et la validation du système de détoxification.

REPHY



Réseau d'observation du **phytoplancton** et de l'**hydrologie** dans les eaux littorales

REPHYTOX



Réseau surveillance sanitaire des **phycotoxines** réglementées dans les coquillages exploités professionnellement en milieu marin

Prélèvements et mesures *in situ*



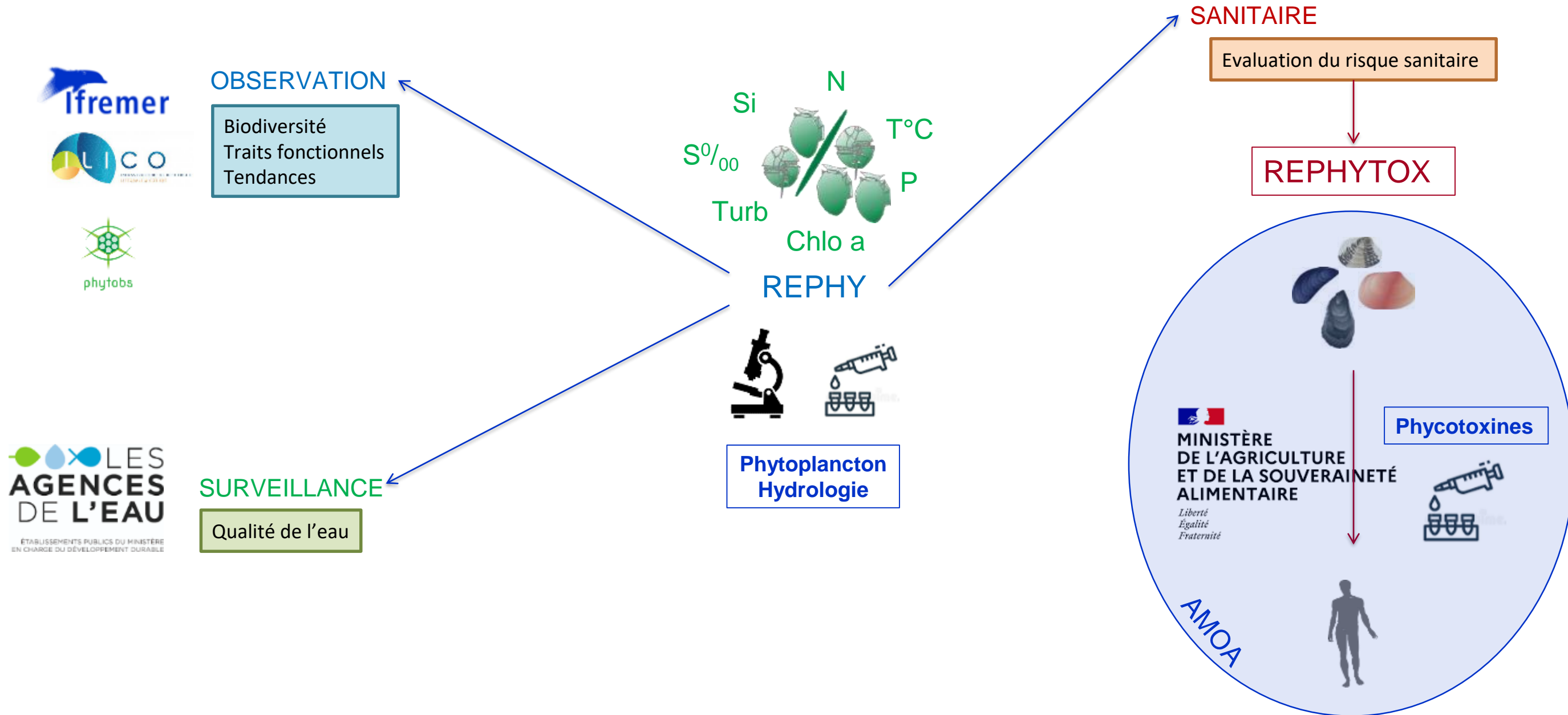
Source : Ifremer, Envlit : <https://wwz.ifremer.fr/envlit>

Analyse au microscope optique

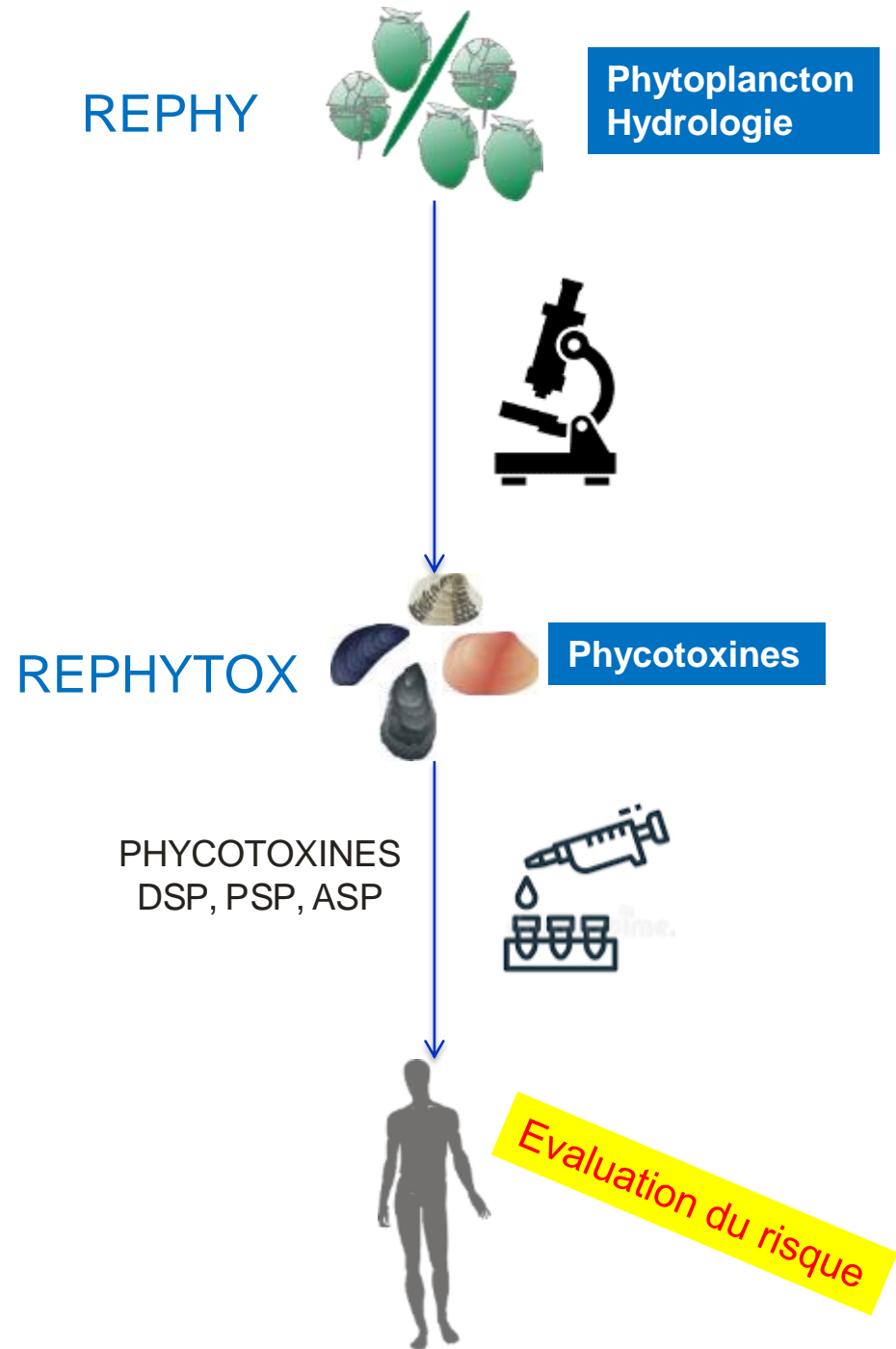


Source : Ifremer, Unité Littorale : <https://littoral.ifremer.fr/>

Surveillance et observation



Surveillance sanitaire



Surveillance sanitaire

Liste d'espèces obligatoires produisant ou susceptible de produire des toxines	Seuils en cellules par litre	Toxines produites
<i>Dinophysis</i> (toutes espèces ensemble)	dès présence	lipophiles
<i>Gonyaulax spinifera</i> , <i>Lingulodinium polyedra</i> , <i>Protoceratium reticulatum</i> , <i>Prorocentrum lima</i>	10 000 cellules (seuil provisoire)	
<i>Alexandrium</i> (toutes espèces ensemble, incluant <i>Alexandrium minutum</i>)	10 000 cellules par litre	PSP
<i>Alexandrium tamarense / catenella</i>	5000 1000 pour étang de Thau	
<i>Pseudo-nitzschia</i> (toutes espèces fines ensemble)	300 000	ASP
<i>Pseudo-nitzschia</i> (autres espèces)	100 000	

RÈGLEMENT (CE) N° 853/2004 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL
du 29 avril 2004

fixant des règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale

25.6.2004

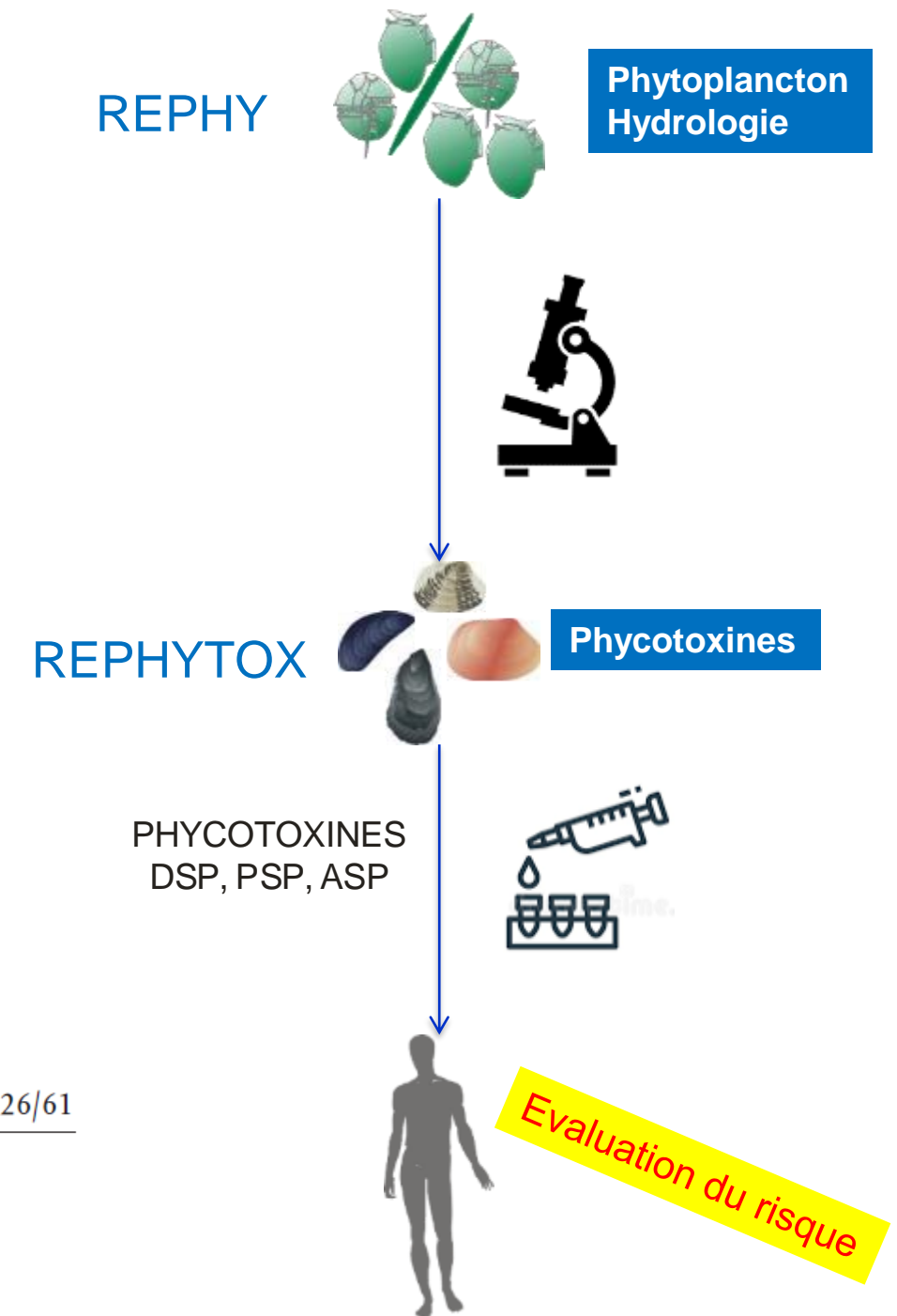
FR

Journal officiel de l'Union européenne

L 226/61

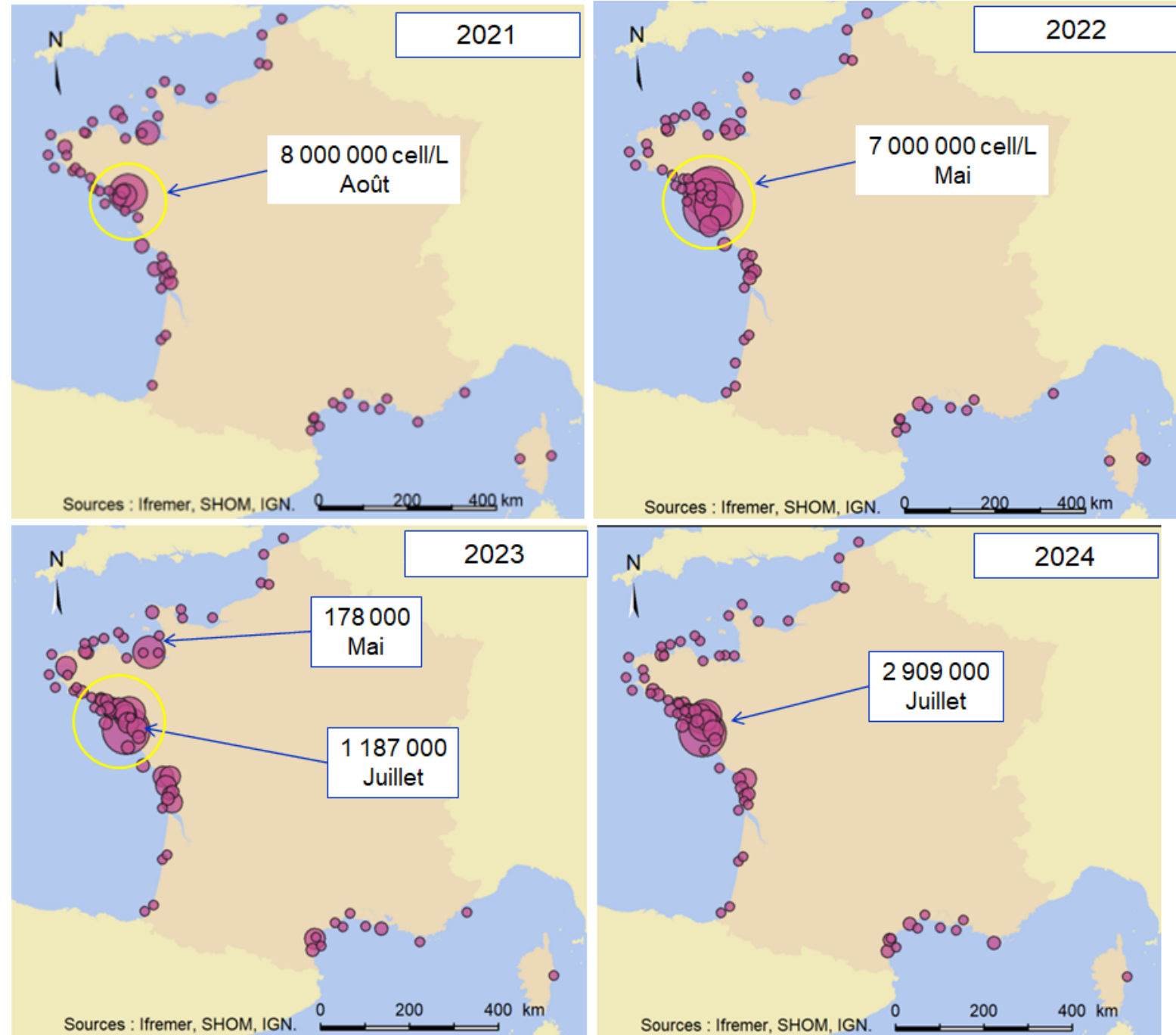
2. La quantité totale de biotoxines marines (mesurées dans le corps entier ou dans toute partie comestible séparément) ne doit pas dépasser les limites suivantes:

a) pour le «Paralytic Shellfish Poison» (PSP), 800 microgrammes par kilogramme;

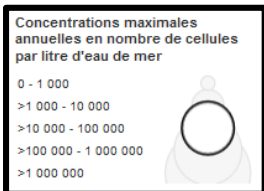
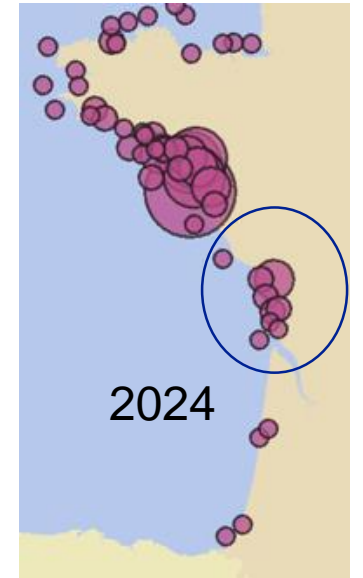
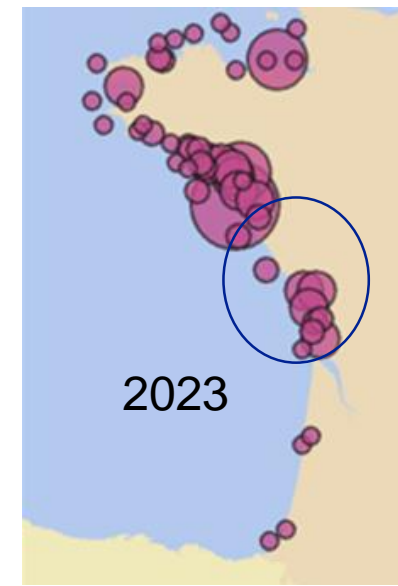
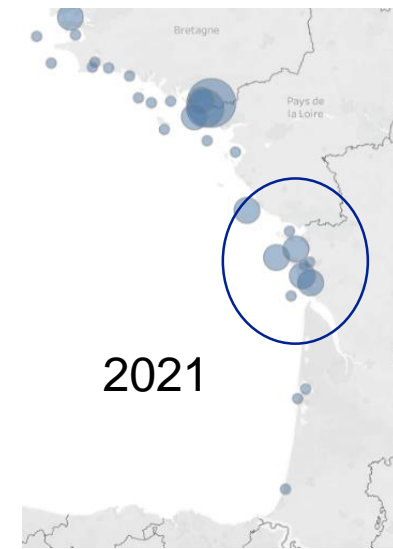
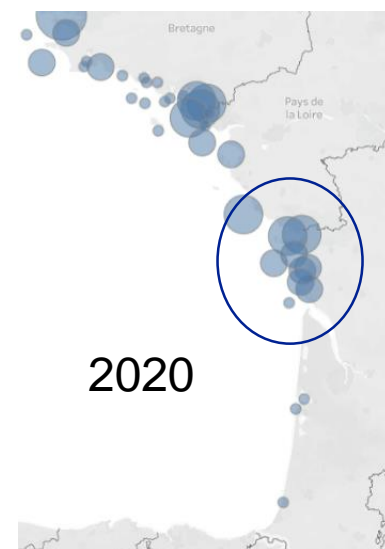
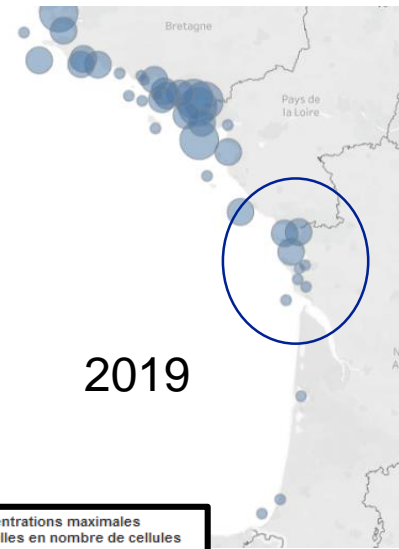
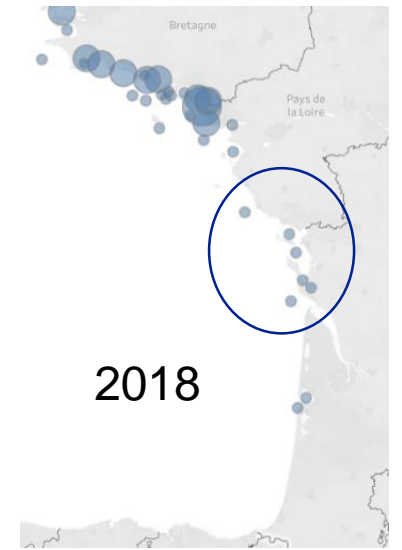
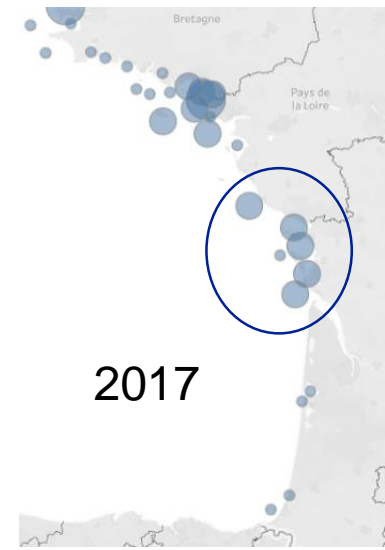
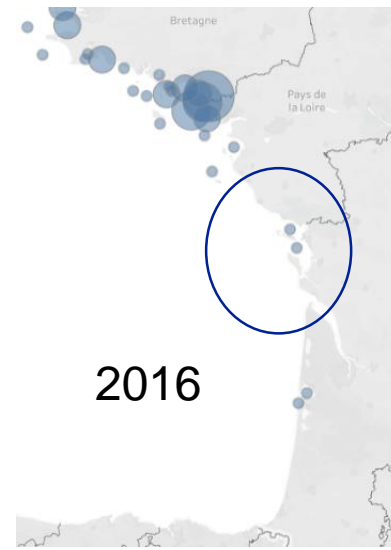
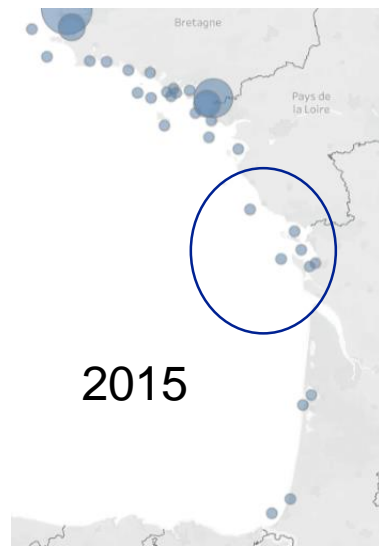
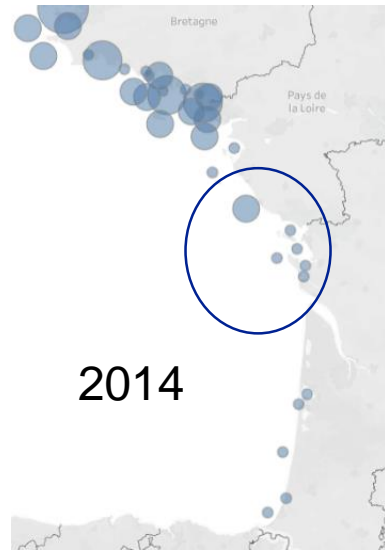
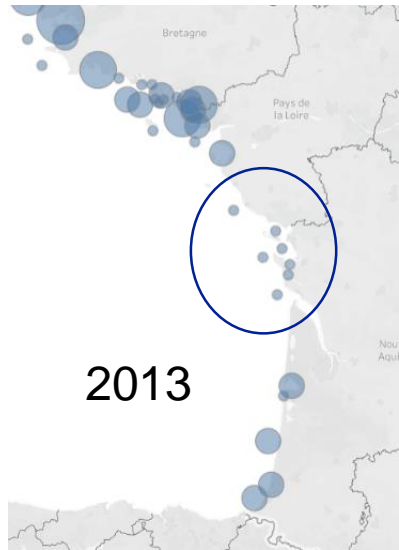


Alexandrium 2021-2024

Dernière observation de coquillages avec résultats > seuil réglementaire : 2017



Surveillance sanitaire *Alexandrium*



Alexandrium Finistère sud 2021

- Détection d'un bloom d'*Alexandrium minutum* dans les rivières du sud Finistère (Août)
 - Détection d'un bloom de *Lingulodinium polyedra* (du sud Finistère à la Vendée, Septembre)
- REPHYTOX dans les zones de production : pas de dépassement du SR



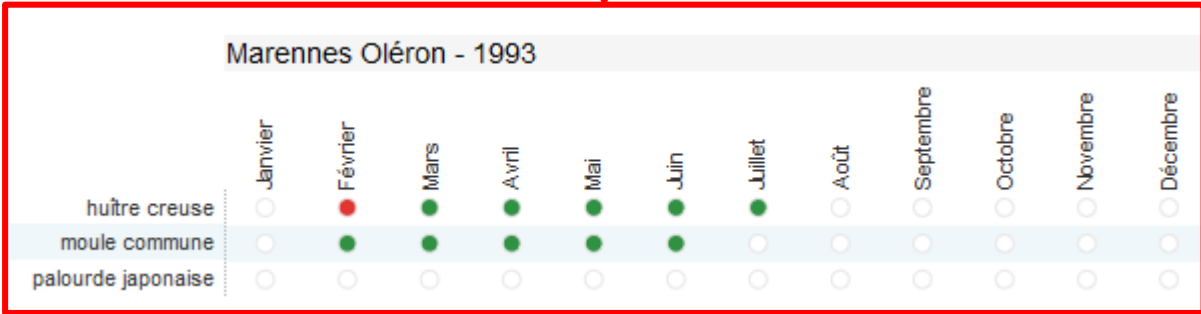
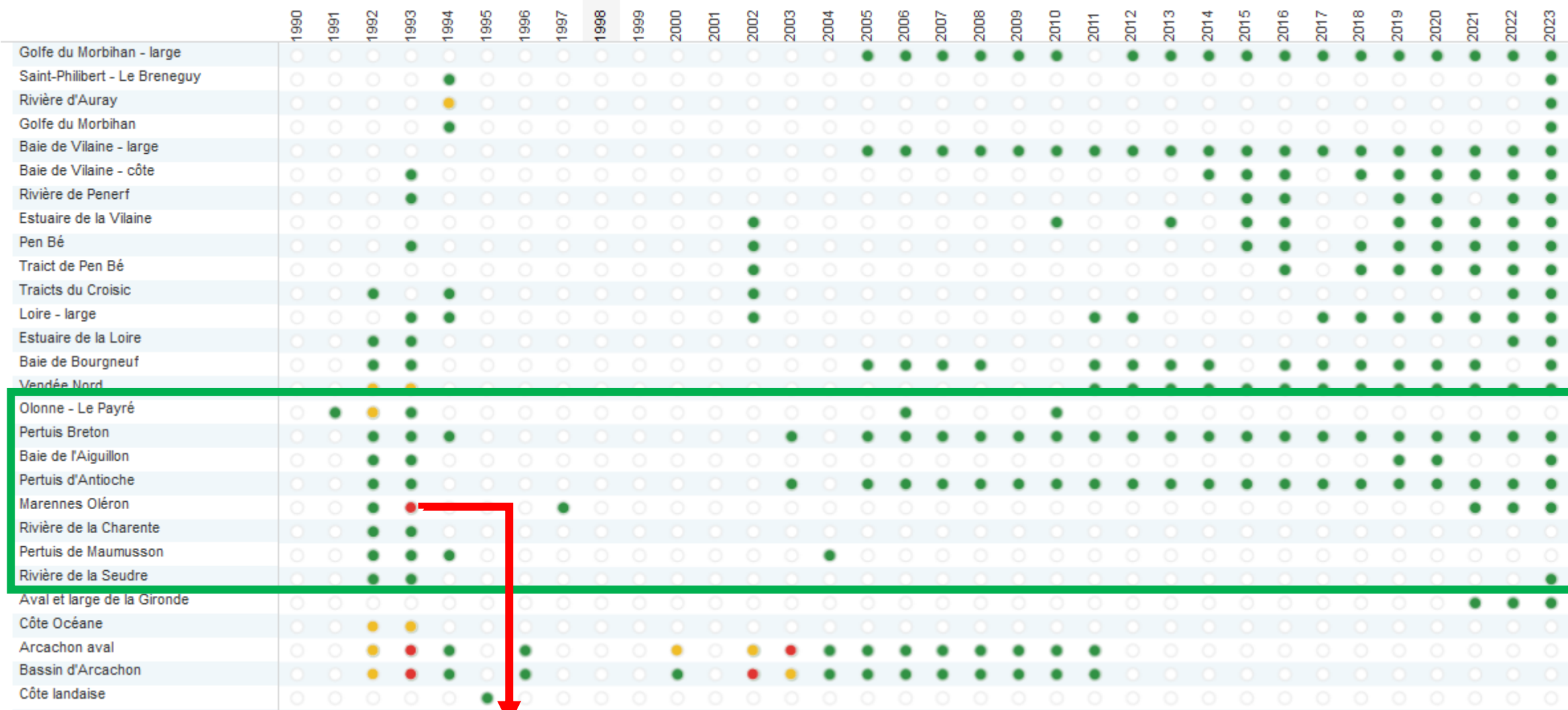
Alexandrium Finistère sud 2021



Alexandrium Morbihan 2021

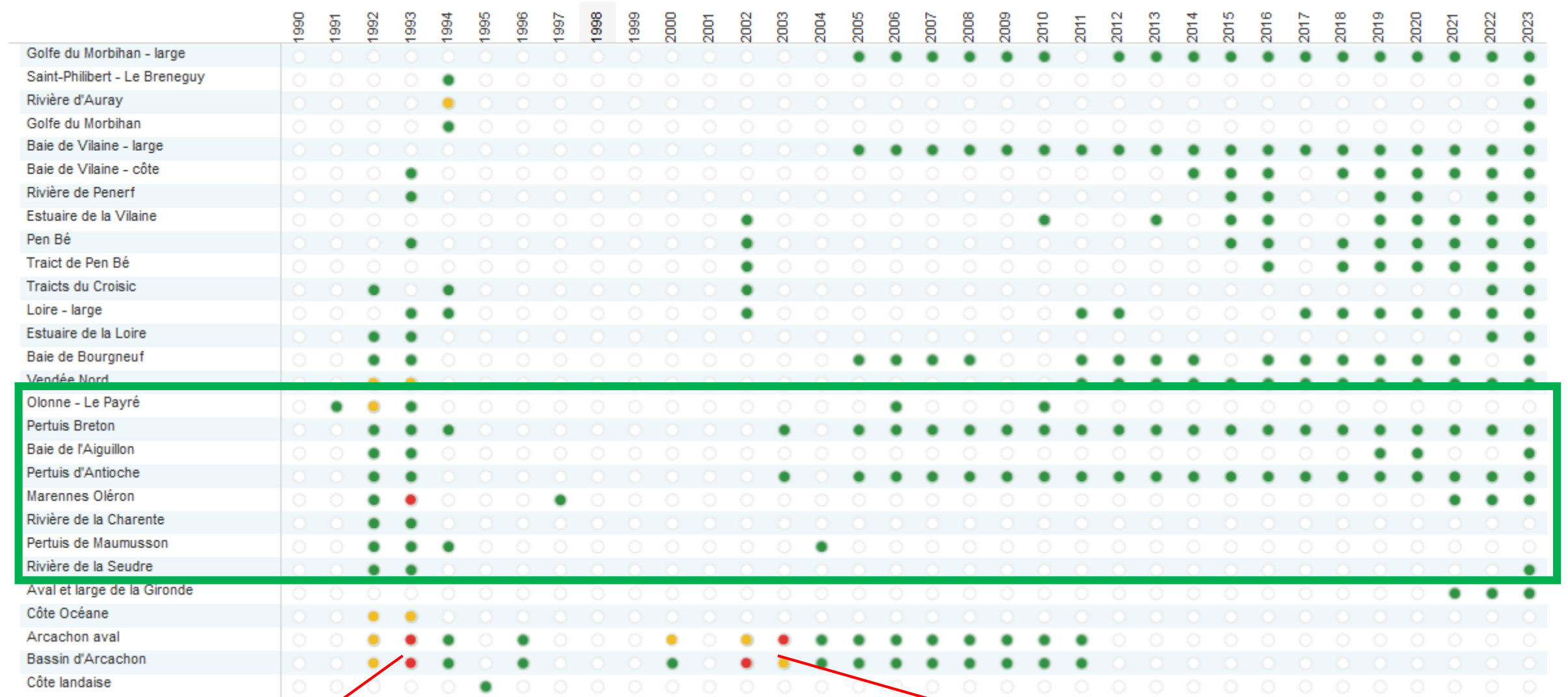


Surveillance sanitaire des PSP

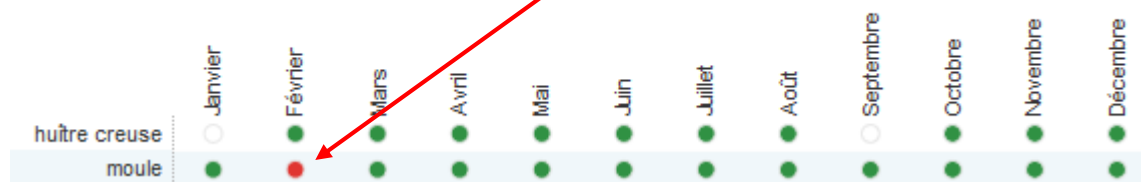


02/1993 : 1189µg/kg

Surveillance sanitaire des PSP

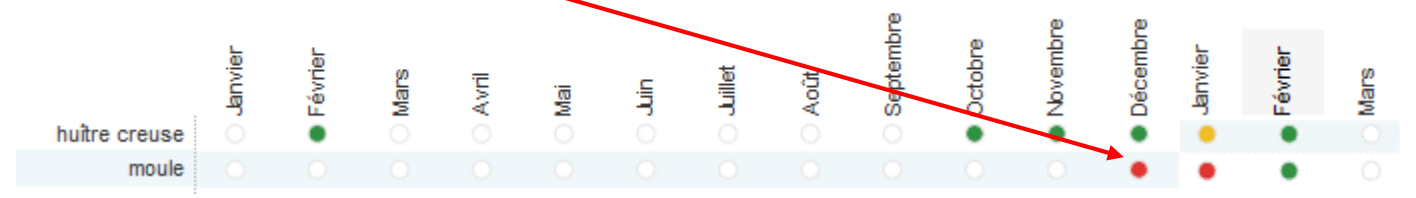


Bassin d'Arcachon - 1993



02/1993 : 950 µg/kg

Bassin d'Arcachon - 2002



12/2002 : 864 µg/kg

Ce qu'il faut retenir - perspectives

Alexandrium :

- Présence saisonnière de plus en plus large (présence tout l'année sur certaines stations)
- Pour stations situées entre la Loire et la Gironde, % de fréquence d'observation annuelle de plus en plus élevé et des abondances en augmentation (tendance significative à la hausse)

REPHY, REPHYTOX

- Dernière contamination historique aux PSP dans le Bassin de Marennes-Oléron en février 1993 depuis aucun évènement de contamination des coquillages
- *Alexandrium minutum* identifié comme présente lors des énumérations de 2023

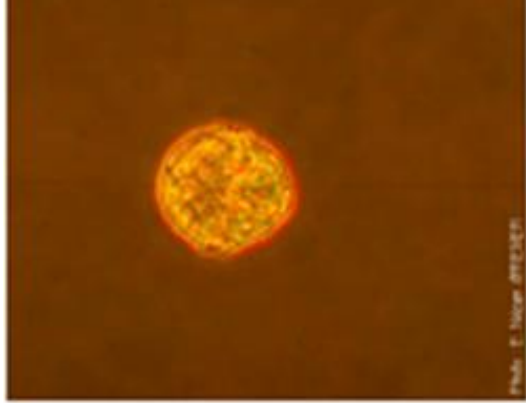


Ce qu'il faut retenir - perspectives

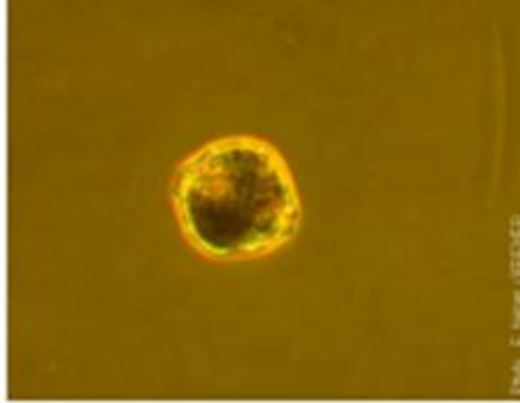
Détoxification :

- Cinétiques de détoxification sont comparables entre huîtres et moules suite à une contamination avec *Alexandrium minutum*.
- La nutrition des huîtres ou des moules contaminées avec un régime algal de fourrage améliore la vitesse de détoxification par rapport au milieu naturel.
- L'effet détoxifiant de la nourriture n'est pas significativement amélioré par la température, la concentration ou la qualité des microalgues non toxiques (flagellés et/ou diatomées).
- Les bivalves exposés à des conditions identiques de contamination par les toxines montrent généralement une capacité variable de détoxification :
- Espèces à taux de détoxification rapide (ex. moules, huîtres)
- Espèces à détoxification lente (ex. coquilles St Jacques, Couteaux).
- Corrélation positive entre la toxicité initiale et le temps nécessaire pour atteindre le seuil réglementaire pour les bivalves à détoxification rapide.
- Détoxification selon les organes : viscères (GD) > branchies > manteau / siphon / pied > muscle adducteur.

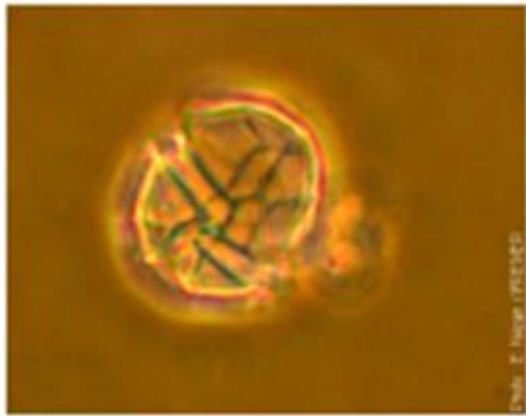




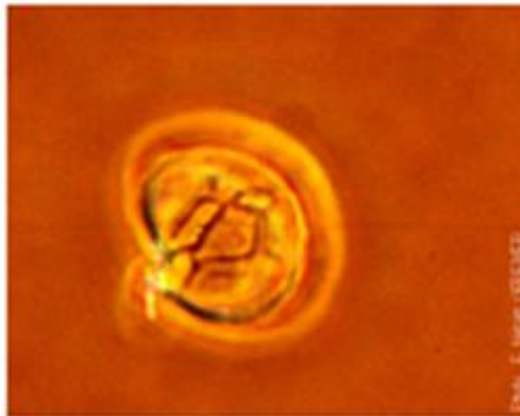
Alexandrium minutum
(Icharillon lugoli)



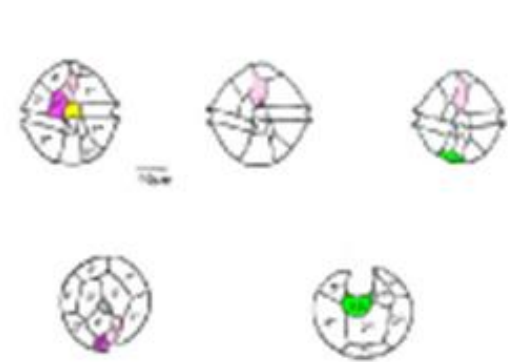
Alexandrium minutum
(Icharillon lugoli, formé)



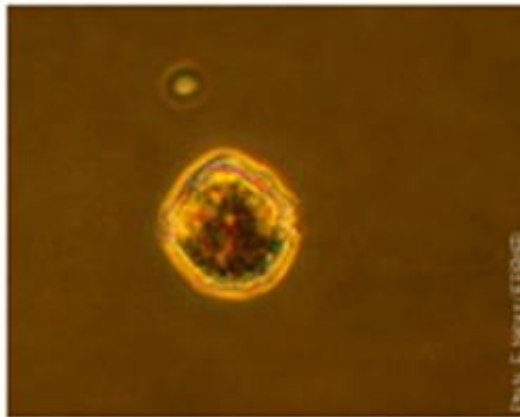
Alexandrium minutum
(thique)



Alexandrium minutum
(disséminé - épithèque)



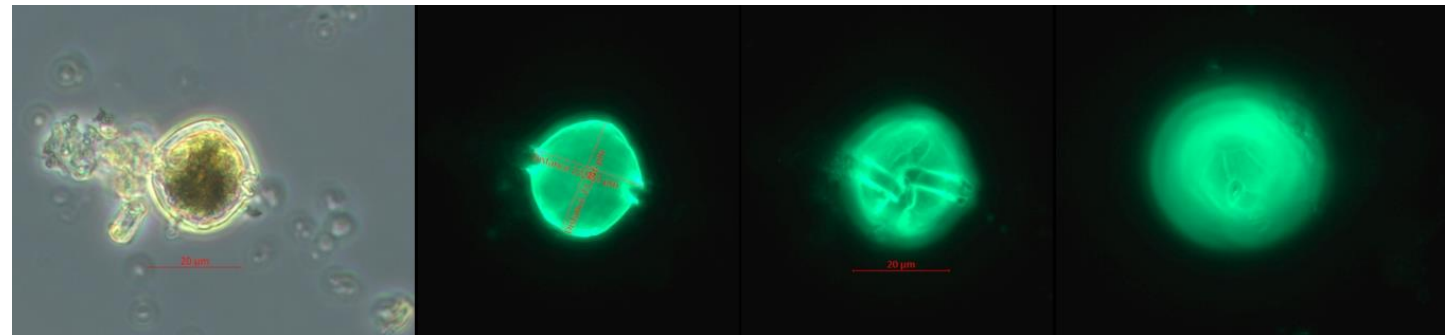
Alexandrium minutum



Alexandrium minutum
(Icharillon lugoli, formé)



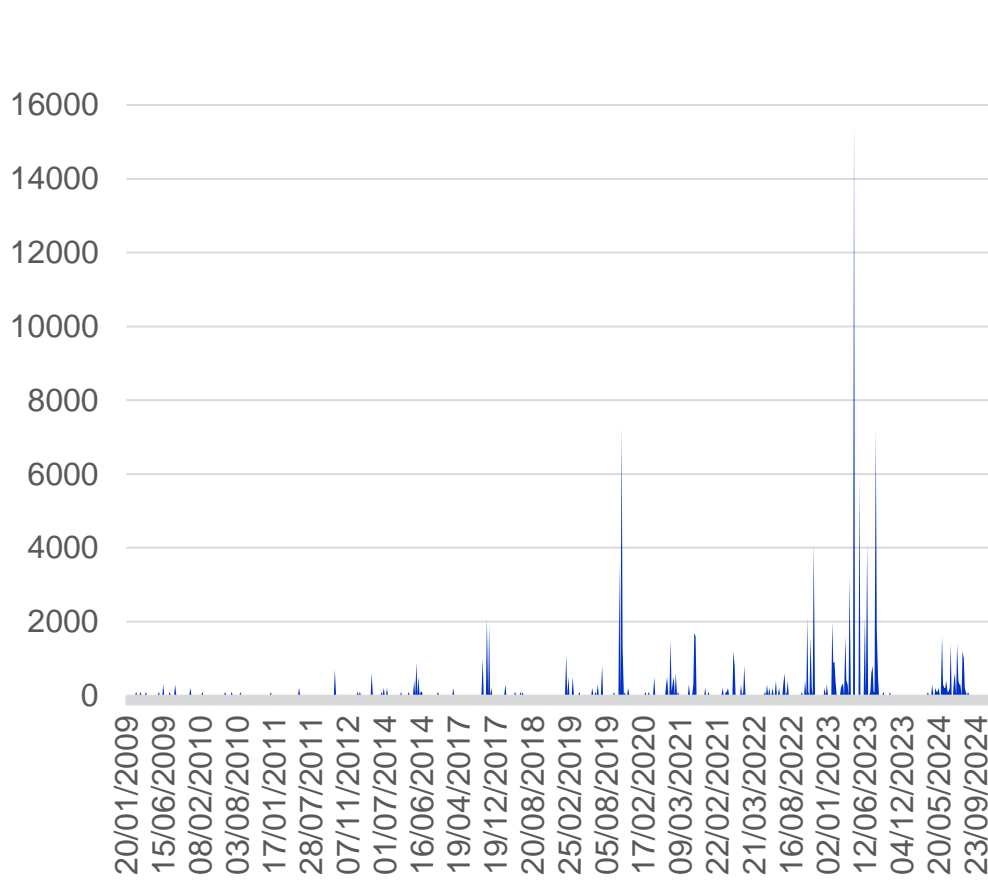
Alexandrium minutum



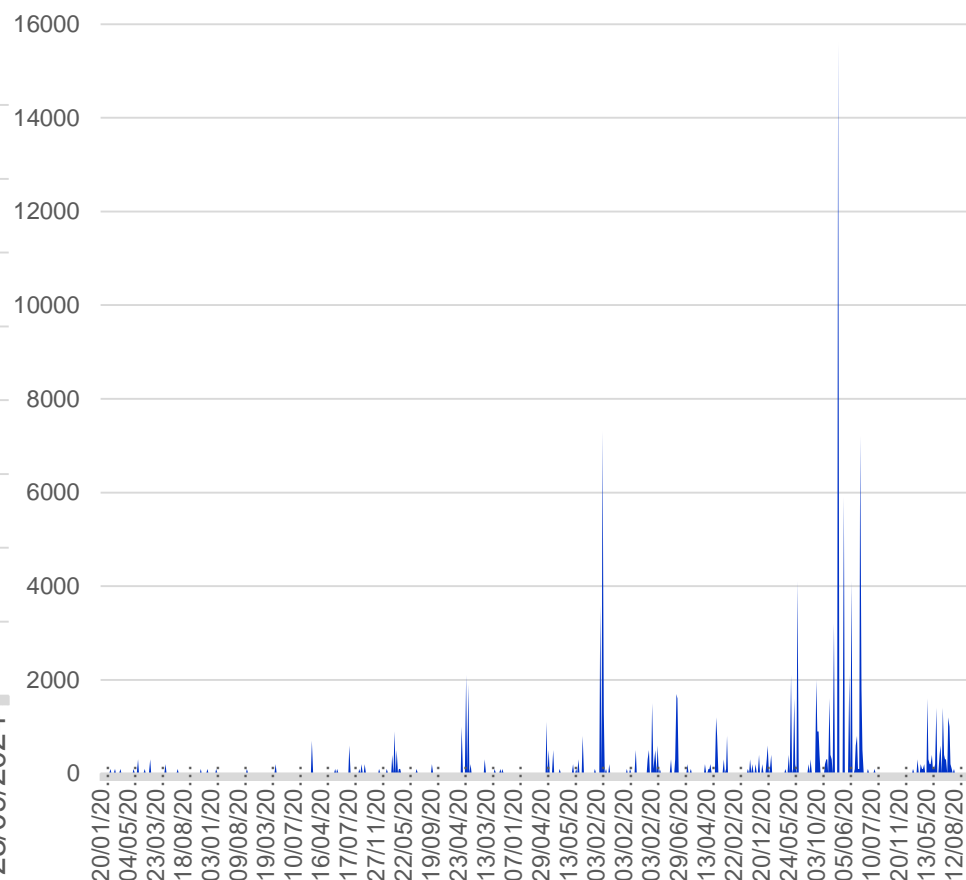
Merci pour votre attention

Phénomène *Alexandrium* dans les Pertuis Charentais

Alexandrium - Filières W



Alexandrium - Le Cornard



Alexandrium - Auger

