

DINOFLAGELLÉS TOXIQUES SUR LES CÔTES FRANÇAISES PENDANT L'ÉTÉ 1983

**VALIDITÉ DU TEST-SOURIS POUR LE CONTRÔLE ROUTINIER
DE SECTEURS MYTILICOLES CONTAMINÉS
PAR LA TOXINE DU DINOPHYSIS**
Cas particulier de la Vilaine

Claire MARCAILLOU-LE BAUT, Loïc LE DÉAN et Philippe TRUQUET
IFREMER - Centre de Nantes, B.P. 1049, 44037 Nantes Cedex, France.

Abstract

VALIDITY OF THE MOUSE TEST FOR THE ROUTINE CONTROL OF MOLLUSC AREA CONTAMINATED BY THE DINOPHYSIS TOXINE.

Following exceptional outbreak of toxic dinoflagellate species in Vilaine Bay (summer 83) a survey was carried out : variations in phytoplankton abundance and distribution in water and in mussel guts were followed. In the same time toxicity studies using mouse-test were performed with contaminated shellfishes, and mouse-test calibration was attempted. In spite of sampling and analysis conditions could be open to criticism, results obviously showed relation between shellfishes toxicity and occurrence of responsible species : *Dinophysis acuminata*. Despite correlation between human diseases and mouse toxicity levels failed to be determined with accuracy, the experience has showed the necessity as well as limitations of survey plan mouse-test methods.

Résumé

Suite au développement exceptionnel d'une espèce phytoplanctonique toxique (toxine diarrhéique ou DSP) en baie de Vilaine, durant l'été 1983, un réseau d'alerte a été mis en place : l'évolution des populations phytoplanctoniques dans l'eau et dans les contenus stomacaux des moules contaminées a été suivie régulièrement. Parallèlement, des « tests-souris » permettant d'évaluer les niveaux de toxicité des coquillages ont été réalisés selon une méthode décrite par YASUMOTO (1980) tandis qu'une calibration du test a été tentée à l'aide des résidus de chair contaminée. Bien que les prélèvements et les analyses n'aient pas toujours été réalisés dans des conditions optimales, les résultats obtenus ont montré objectivement une relation entre la toxicité des coquillages et la présence dans le phytoplancton de l'espèce responsable : *Dinophysis acuminata*. Par contre, le seuil à partir duquel il y a des risques pour la santé humaine n'a pu être déterminé précisément. L'expérience acquise a montré la nécessité mais aussi les limites du réseau d'alerte et du test-souris.

Introduction.

A la fin du mois de juin 1983, de nombreux cas d'intoxication mettant en cause la salubrité des coquillages ont été signalés dans la région du Morbihan. Les consommateurs se plaignaient principalement de troubles diarrhéiques qui n'ont pu être imputés à des causes d'origine bactérienne. Devant l'ampleur du phénomène, les autorités administratives ont décidé d'interdire la vente des coquillages en provenance de cette zone.

Or, précédant de quelques jours ces intoxications, une succession d'efflorescences planctoniques s'était développée en baie de Vilaine et il était normal de faire le rapprochement avec ce que certains auteurs ont mis en évidence récemment. En effet, les symptômes signalés sont aussi caractéristiques d'une intoxication due à un poison élaboré par une espèce phytoplanctonique du genre *Dinophysis* (YASUMOTO *et al.*, 1980 ; KAT, 1982 ; TANGEN, 1983). Nous avons donc recherché l'agent responsable dans la flore planctonique et nos présomptions ont été confirmées : *Dinophysis acuminata* a été observé à la fois dans l'eau (avec plus de 300 cellules par litre fin juin) et dans les contenus stomacaux des moules prélevées dans la zone concernée.

L'analyse de la toxicité des coquillages a été systématique et réalisée à l'aide d'un test biologique décrit par YASUMOTO *et al.* (1978), premier auteur ayant mis en évidence cette toxine dans les mollusques. C'est la première fois que l'on détecte sur les côtes françaises une espèce phytoplanctonique toxique entraînant des effets à long terme tant du point de vue de la santé publique que du point de vue économique. La surveillance de l'extension du phénomène, dans un souci de protection des consommateurs, nous a permis d'acquiescer un certain nombre de résultats. Malheureusement, ces derniers n'ayant pas été obtenus dans le cadre d'un programme scientifique élaboré préalablement, n'ont pu être exploités d'une manière entièrement satisfaisante. Néanmoins, nous avons pu dégager quelques données préliminaires concernant la validité du test utilisé, son étalonnage par rapport à un extrait de référence, les niveaux de toxicité et leur relation avec les concentrations cellulaires dans l'eau.

Moyens de détection du poison diarrhéique.

La recherche rapide de la toxine par des essais immunologiques ou des analyses chimiques semblables à ceux menés pour la détection du poison paralytique (PRAKASH *et al.*, 1971) n'est pas au point à ce jour. Actuellement, la détection de la toxine se fait essentiellement à l'aide de tests biologiques qui utilisent le rat ou la souris de laboratoire avec des critères d'appréciation différents.

Test « rat ».

Ce test est basé sur l'observation de la consistance des fécès de rats alimentés avec des hépatopancréas de moules contaminées, mélangés à leur nourriture habituelle. En tenant compte de la proportion d'aliment consommée, KAT (1982) établit ainsi une échelle de toxicité relative basée sur la consistance des fécès (tabl. 1).

Nourriture contaminée consommée (%)	Consistance des fécès de l'animal testé	Degré de toxicité
100	normal	négatif -
>80	normal à mou	légèrement toxique +
50 < % < 80	mou à diarrhéique	toxique ++
< 50	diarrhéique	sérieusement toxique +++

TABL. 1. — Estimation de la toxicité par le test-rat (KAT, 1982).

Test « souris ».

C'est à l'aide de ce test que YASUMOTO *et al.* (1978) ont soupçonné d'abord et mis en évidence plus tard (YASUMOTO *et al.*, 1980) une toxine différente du poison paralytique (P.S.P.) également élaborée par les dinoflagellés. Pour la détection du poison paralytique, le test est relativement précis et les résultats obtenus par différents laboratoires peuvent être comparés entre eux puisque ce test est calibré à partir de la toxine purifiée (PRAKASH *et al.*, 1971). Dans le cas du poison diarrhéique (D.S.P.), on ne peut disposer de quantité suffisante de toxine purifiée et la calibration du test ne peut se faire qu'à partir d'extraits de coquillages contaminés : la comparaison des niveaux de toxicité dans le temps ou dans l'espace devient donc difficile. Cependant, ce test présente l'avantage par rapport au test « rat » de donner une appréciation plus objective puisqu'on observe la mort ou la survie des souris ; il est d'ailleurs utilisé au Japon et en Espagne pour une surveillance régulière de la salubrité des coquillages, ressource importante dans ces pays.

Méthodes et étalonnage du test-souris.

Méthodes.

YASUMOTO *et al.* (1978) ont montré que la toxine est plus concentrée dans les hépatopancréas des coquillages, c'est pourquoi elle est extraite préférentiellement à partir de cet organe.

L'extraction se fait à l'acétone de la manière suivante :

- 10 g d'hépatopancréas sont broyés dans 50 ml d'acétone puis la suspension obtenue est filtrée sur papier, on réitère l'opération deux fois avec la chair restée sur le filtre. Les phases solvant étant rassemblées, l'acétone est évaporé à froid, sous vide. Le résidu est repris avec 2 ml d'une solution de tween à 1 % ;
- 1 ml de cette solution finale est injecté par voie intrapéritonéale à une souris mâle pesant environ 20 g, qui est gardée 48 h en observation. Sous le stress de l'injection les souris restent prostrées ; seuls les témoins ayant reçu 1 ml de solution de tween récupèrent en moins d'une heure alors que chez les essais les symptômes apparaissent environ 30 minutes après l'injection : déplacement et respiration difficiles, paralysie plus ou moins prononcée du train arrière. La mort survient par apnée après un temps plus ou moins long suivant le niveau de toxicité de l'extrait.

Tous les échantillons de coquillages soupçonnés d'être contaminés ont été traités ainsi. Afin de pouvoir piquer plusieurs souris et conserver congelé un certain volume d'extrait, nous avons prélevé 30 g au lieu de 10 g d'hépatopancréas dans la mesure où nous disposions de suffisamment d'échantillon et de temps.

Etalonnage par rapport à un extrait de référence.

En admettant que dans une population homogène de souris une même quantité de toxine entraîne un temps de survie comparable compte tenu des variations propres à chaque individu, nous avons recherché une relation entre les temps de survie et les concentrations en toxine des extraits. Comme nous ne disposons pas de toxine purifiée, l'étalonnage a été réalisé à partir d'un extrait de référence qui, dilué, a permis d'obtenir des concentrations décroissantes en toxine dont la valeur absolue n'est pas connue. L'extrait de référence a été constitué en mélangeant les extraits les plus concentrés en toxine qui ont provoqué la mort dans un délai identique (compris entre 60 et 90 minutes).

Etalonnage. — Les dilutions successives de l'extrait composite ont été injectées par voie intrapéritonéale à des souris. Le volume d'extrait obtenu n'a pas permis de piquer plus de 5 à 7 souris. Dans un premier temps, nous avons tracé la courbe (fig. 1) représentant les temps de survie des souris (en minutes) en fonction des dilutions des extraits (exprimées en pourcentage d'extrait de référence). Arbitrairement, les souris qui ont survécu ont été considérées comme mortes au bout de 48 h. Puis, pour convertir aisément les temps de survie en pourcentage de dilution, nous avons cherché à linéariser la relation précédente en transformant les données en leurs logarithmes décimaux.

L'unité-souris. — L'unité-souris est définie comme étant la plus grande dilution de l'extrait de référence provoquant la mort des souris en 24 h (YASUMOTO *et al.*, 1978, 1980, 1984). On admet que la mortalité est significative si au moins deux souris inoculées sur trois meurent en 24 heures (YASUMOTO, comm. pers.). D'après cette définition, cette dilution renferme 29 % de l'extrait acétonique que nous avons obtenu à partir de 30 g d'hépatopancréas, le résidu sec étant repris par 6 ml de tween 60 ; 1 ml étant injecté par voie intrapéritonéale à des souris de 20 g.

Conversion des temps de survie correspondant aux différents échantillons en unités-souris. — Si on a :

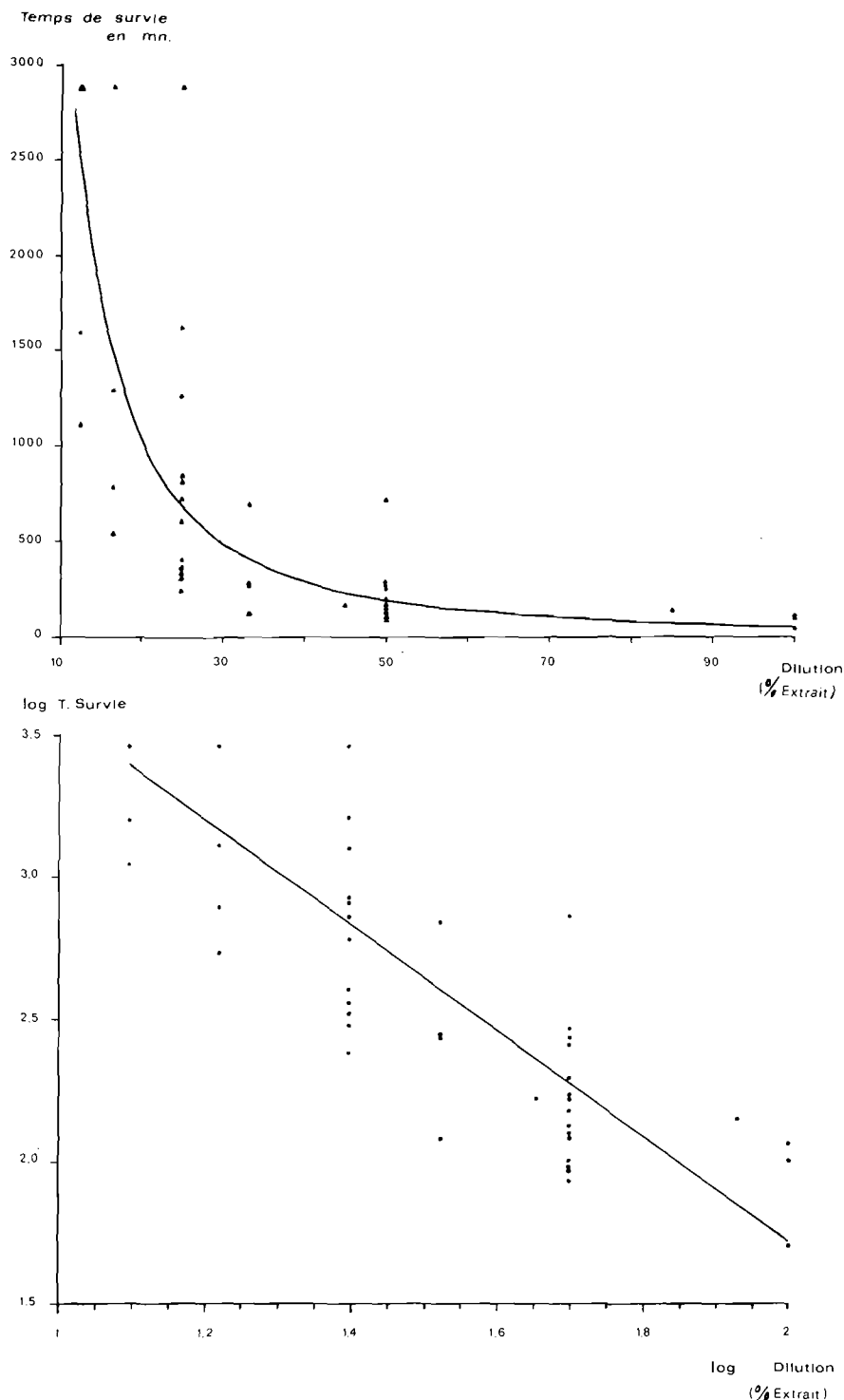
t = temps de survie correspondant à un échantillon ;

d = dilution de l'extrait de référence correspondant à t et lue sur la courbe étalon ;

le rapport $\frac{d}{29}$ donne le nombre d'unités-souris qui peut être assigné à l'échantillon.

Le test « souris » est le seul moyen dont nous disposons actuellement pour détecter la toxicité des coquillages. En effet, tant qu'une quantité suffisante de toxine purifiée n'a pas été isolée, l'analyse chimique de la toxine n'est pas envisageable en routine et les tests immunologiques vers lesquels s'orientent les recherches ne sont pas encore au point.

Ce test biologique est d'ailleurs largement utilisé pour contrôler les organismes marins destinés à la consommation et susceptibles de contenir des toxines de nature différente (poison paralytique, ciguatoxine...). Cependant, dans le cas du poison diarrhéique, la quantification de la toxicité en unité-souris n'est pas satisfaisante pour deux raisons.



• Aux doses sublétales (dilutions supérieures à 50 %), les possibilités de défense et/ou de récupération inhérentes à chaque animal deviennent prépondérantes : les temps de survie présentent alors une grande dispersion. De plus, cette dispersion va croissante quand la toxicité diminue et l'approximation faite en linéarisant la relation « temps de survie en fonction des quantités de matériel toxique injectées » peut être discutée.

• En l'absence d'échantillon de toxine pure, l'étalonnage est réalisé à partir d'un extrait de référence propre au laboratoire, il est donc impossible de standardiser le test.

En conséquence, les travaux futurs devraient s'orienter vers une titration du test-souris semblable à celle utilisée pour évaluer la présence du « poison paralysant des fruits de mer » (PRAKASH *et al.*, 1971). Une amélioration de la reproductibilité peut déjà être envisagée en purifiant les extraits. Cette procédure n'a pu être mise en place immédiatement du fait de la nécessité de traiter un grand nombre d'échantillons dans un temps très court.

FIG. 1. — Relation entre le temps de survie des souris et les dilutions de l'extrait de référence.
Relationship between the survival time and the reference extract dilutions.

Données toxicologiques et épidémiologiques.

La toxine.

A partir d'une grande quantité d'hépatopancreas de moules, MURATA *et al.* (1982) ont extrait plusieurs toxines à l'aide de différents solvants. L'une des fractions a révélé après traitement et test-souris une toxicité correspondant à 88 % de la toxicité de l'extrait brut ; ils ont appelé cette toxine la dinophysistoxine I (D.T.X.1). Ses caractéristiques spectrales sont très proches de celles de l'acide okadaïque qui est un dérivé polyether d'un acide gras à 38 carbones. Cette molécule était déjà connue car elle a été isolée par TACHIBANA *et al.* (1981) à partir d'éponges (in BADEN, 1983). La D.T.X.1 est donc l'acide 35 S methyl okadaïque (C₄₅H₇₀O₁₃).

Les symptômes.

Les symptômes décrits ont attiré l'attention des chercheurs sur la nature de l'intoxication qui se révélait d'une manière différente de celle, déjà connue, causée par le poison paralytique. Lors de l'été 1976 et 1977, l'équipe japonaise avait décrit les manifestations chez les malades de la manière suivante : 92 % de gastro-entérites, 80 % de nausées, 79 % de vomissements, 53 % de dérangements abdominaux. L'apparition de symptômes a lieu entre 30 mn (dans les cas sévères) et quelques heures après l'ingestion des coquillages rarement après 12 heures. YASUMOTO *et al.* (1978) n'ont pas noté de perturbations neurologiques caractéristiques du P.S.P. ; KAT (1982) a observé les mêmes manifestations lors d'une intoxication due à des coquillages durant l'été 1981.

En France, l'enquête épidémiologique a été réalisée par la Direction départementale des Affaires sanitaires et sociales qui a répertorié 3 394 cas de gastro-entérites, attribuables à la consommation de coquillages durant l'été 1983 ⁽¹⁾. D'après cette enquête, les troubles diarrhéiques sont bien les symptômes majeurs et indicateurs de l'intoxication, mais ils sont accompagnés d'autres signes cliniques : malaises généraux (74,7 %), fièvre (61,8 %), céphalées (52,2 %), signes cardiovasculaires, neurologiques, cutanés. Cette symptomatologie, plus riche que prévue, laisserait supposer qu'en effet la toxine diarrhéique n'est pas seule en cause, mais qu'elle est associée à d'autres toxines en quantité mineure.

Lien entre l'épidémiologie humaine et les niveaux de toxicité des coquillages.

Devant la soudaineté du phénomène et l'ampleur de la surveillance qu'il a fallu assurer prioritairement, les coquillages directement responsables de malaises n'ont jamais pu être saisis chez le consommateur afin d'en évaluer la toxicité à l'aide du test-souris. De plus, les autorités sanitaires ont procédé à une enquête à la fin de la période critique, il n'est donc pas possible d'établir une relation entre les résultats des tests effectués au laboratoire et les cas de gastro-entérites attribuables aux coquillages. Dans ces conditions, la détermination d'un seuil de toxicité au-dessous duquel il n'y a pas de risque pour la santé humaine est basée sur l'observation.

Caractérisation du Dinophysis comme agent responsable.

En raison probablement de conditions météorologiques exceptionnelles, des eaux colorées, de grande ampleur, se sont développées et succédées au printemps de cette année-là, en baie de Vilaine. Des prélèvements réguliers dans le temps et l'espace, d'eau et de moules ont permis de suivre l'évolution des populations phytoplanctoniques. Ainsi, nous avons pu faire des rapprochements qui confirment la présomption : *D. acuminata* serait bien l'agent causal des intoxications signalées en sud-Bretagne au cours de l'été 1983.

Relation entre la toxicité des mollusques et les niveaux de présence de Dinophysis.

Pour l'ensemble des cinq stations de la baie de Vilaine, nous avons les concentrations cellulaires moyennes en *Dinophysis acuminata* (exprimées en log. décimal) et les niveaux de toxicité des moules (exprimés en unité-souris / g). Puis nous avons reporté sur un même graphique (fig. 2) l'évolution de ces données dans le temps : le bloom de *D. acuminata* atteint son maximum autour du 15 juin, il se maintient pratiquement

(1) Note sur les aspects scientifiques des intoxications par les coquillages survenues du 25 juin 1983 au 31 juillet 1983 en Loire-Atlantique. Dr J.-P. AULLEN, médecin-inspecteur de la Santé, D.R.A.S.S. de Bretagne.

jusque fin juillet tandis que la toxicité des moules se manifeste une dizaine de jours après ce bloom et se poursuit aussi tout le mois de juillet, mais avec une décroissance qui est pratiquement parallèle à celle du bloom. Il apparaît donc bien une relation entre la toxicité des moules (tests-souris positifs) et le niveau de présence de *D. acuminata* qui est supérieur à 200 cell.l⁻¹ durant la période critique. Or, ce seuil est considéré par YASUMOTO *et al.* (1980) comme le taux au-dessus duquel des risques pour les consommateurs sont à craindre.

Relation entre les populations phyto-planctoniques dans l'eau et les contenus stomacaux.

Nous avons répertorié les principales espèces de dinoflagellés rencontrées dans l'eau et les contenus stomacaux pour deux stations (st. 1 et 2) et durant la période critique en notant aussi la toxicité correspondante des moules (tabl. 2). D'après ce tableau on peut éliminer certaines espèces : a) dans un cas elles sont présentes dans l'eau mais les résultats toxicologiques ne dépassent pas 0,5 unités-souris, ce qui est négligeable (*Gymnodinium* sp., *Gyrodinium* sp., *Prorocentrum* sp., *Protogonyaulax* sp., *Protoperdinium* sp., *Ceratium*) ; b) dans d'autres cas elles sont absentes dans l'eau alors que les résultats en toxicologie dépassent 1,5 unités-souris, ce qui correspond grossièrement à une survie des souris d'environ 3 ou 4 h (*Amphidinium* sp., *D. rotundata*, *D. caudata*, *Noctiluca* sp., *Gonyaulax* sp.).

Après cette sélection, les espèces restantes susceptibles d'être responsables des intoxications sont les suivantes : *Dinophysis acuminata*, *Exuviaella* (*Prorocentrum*) sp., *Heterocapsa triquetra*, *Prorocentrum micans*. *Prorocentrum micans* se trouve en concentration relativement élevée, mais il est reconnu par les auteurs comme non toxique (KAT, 1983). En comparant les niveaux de présence des trois autres espèces, dans deux cas (29 juin : station 1. et 3 juillet : station 1) les concentrations en *D. acuminata* sont supérieures à celles des deux autres et les résultats toxicologiques dépassent 1,5 U.S. Par ailleurs, en Hollande, des blooms à dinoflagellés ont été recensés en septembre des années 1976, 1979 et 1981 en mer de Wadden (KAT, 1983). Les espèces dominantes, observées un peu avant l'apparition des symptômes diarrhéiques chez les consommateurs de moules, étaient *D. acuminata*, *Prorocentrum micans* et *P. minimum*. Comme les deux *Prorocentrum*, isolés à partir de l'eau de mer des sites suspects, ne se sont pas révélés toxiques, KAT a attribué la toxicité à *D. acuminata*.

Au Japon, YASUMOTO *et al.* (1980) et MURATA *et al.* (1982) attribuent sans ambiguïté l'origine de la toxine à un *Dinophysis* : *D. fortii*. Nos observations semblent donc bien coïncider avec celles de la littérature et confirment la responsabilité de *D. acuminata* dans l'apparition des intoxications de l'été 1983.

Relation entre la diminution du *Dinophysis* et la décontamination des coquillages.

Dans des conditions expérimentales, en transplantant les coquillages dans un container, ceux-ci semblent s'épurer très vite. YASUMOTO *et al.* (1978) ont montré qu'environ la moitié de la quantité de toxine disparaît en 8 jours. C'est le temps qu'il a fallu pour que les moules de Normandie dont la toxicité équivalait à 1,5 U.S., et que nous avons immergées en zone dépourvue de *Dinophysis*, ne montrent aucune toxicité à la suite du test-souris.

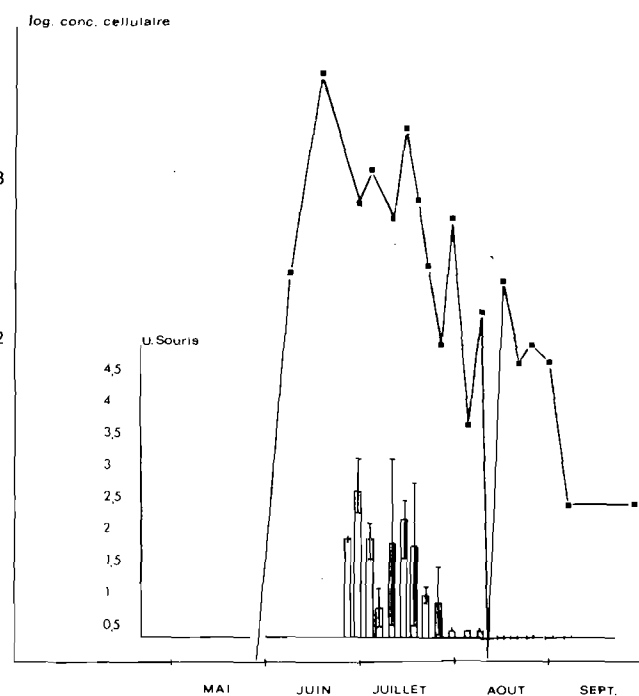


FIG. 2. — Evolution de la concentration cellulaire de *D. acuminata* en baie de Vilaine (moyennes de 5 stations) et de la toxicité des moules (exprimée en unité-souris) durant l'été 1983. Average variations, from 10 stations in Vilaine Bay of *Dinophysis acuminata*, related toxicity levels in mussels at the same time.

Par contre, sur le terrain il est très difficile d'apprécier le temps nécessaire pour que les coquillages s'épurent totalement. D'après la figure 2 on remarque qu'après un certain temps de latence (environ 15 jours) entre le moment où la concentration cellulaire en *Dinophysis* dépasse 200 cellules par litre et l'apparition de la toxicité des moules, les deux paramètres évoluent à peu près simultanément dans le sens de la décroissance. La toxicité semble disparaître avant même que le taux de *Dinophysis* soit inférieur à 200 cellules par litre.

Par ailleurs, il n'a pas été possible d'établir une relation cohérente entre la quantité relative de dinoflagellés toxiques dans les estomacs de moules et les unités-souris, l'absence de *Dinophysis* ne correspondant pas systématiquement à un test-souris négatif et vice et versa. Ceci oblige donc à attendre 2 à 3 semaines après avoir constaté une absence de toxicité (ou une toxicité négligeable) avec le test-souris et un taux de présence dans l'eau de *Dinophysis* inférieur à 200 cellules par litre. KAT *et al.* (1982) pensent que la toxine s'élimine très lentement, en quatre semaines après le bloom toxique avec des variations selon le niveau de contamination.

	25 juin		29 juin		3 juillet		10 juillet		14 juillet		25 juillet	
Stations	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Toxicité (U.S.) des moules			2,4	3,2	2,2	1,9	0,55	3,2	2,55	1,6	1,5	0,45
<i>Gymnodinium</i> spp. <i>Gyrodinium</i> sp.	3 300	1 500		800	303 500	303 200	3 100	42 700	9 500	24 400	3 800	7 700
<i>Amphidinium</i> sp.	1 500	1 100		100	2 600		400	1 600	200		300	
<i>Prorocentrum micans</i> <i>P. triestinum</i>	55 300	40 500	16 400	41 400	144 300	117 200	2 100	51 700	6 800	11 200	2 800	3 400
			++++	++++	++++	++++	++	+++		+++		
<i>Dinophysis acuminata</i>	200	200	1 600	300	3 100	3 300	100	200	300	500		
			+++	+++	+++	+++	+	++	++	+-		
<i>D. rotundata</i>					200	+		1 800				
<i>D. caudata</i>												+
<i>Noctiluca scintillans</i>	300				900			200				
<i>Exuviaella (Prorocentrum) sp.</i>	2 200	1 300	1 300	5 800	200	800	500	200	300	700		
<i>Gonyaulax spinifera</i> <i>G. digitale</i>	1 700				13 800	400	200	1 300	1 000		100	
<i>Protogonyaulax</i> sp.					1 000		100	3 500	200	100	300	100
<i>Heterocapsa triquetra</i>	900		200	400	1 900	4 300		400	500	1 100		
<i>Protoperdinium</i> spp. (petites formes)	8 300	1 600	4 100	33 400	26 800	76 100	2 000	3 200	6 500	8 000	400	1 400
			++	++	++	+++	++	+		++		
<i>Protoperdinium</i> spp. (grandes formes)	1 100	100			75 100	8 200	400	600	3 700	1 900	100	
<i>Ceratium</i> spp.	300				2 800	700	500	1 000	800	800		200

TABL. 2. — Concentrations en dinoflagellés dans l'eau (cell./l) et dans les estomacs de moules (+) et toxicités correspondantes exprimées en unités-souris (U.S.) aux stations 1 et 2, du 25 juin au 25 juillet 1983.

Dinoflagellates concentrations (cell./l) in water, in mussels stomachs (+) and related toxicity levels (mouse units) at stations 1 and 2 in June 25 to July 25, 1983.

Conclusion.

Par le passé, la présence de dinoflagellés toxiques en Bretagne-sud avait été suspectée d'être la cause de quelques cas isolés de gastro-entérites que l'on ne pouvait attribuer à une contamination bactérienne, mais rien ne permettait d'étayer cette hypothèse. Les observations et les résultats de l'été 1983 ont apporté des éléments objectifs concrétisant la relation entre la toxicité des coquillages et la présence de phytoplancton toxique et permettant d'en tirer un enseignement pour l'avenir.

L'expérience a montré que pour déceler précocement l'apparition du phénomène, la mise en place d'un réseau de surveillance est indispensable : des examens réguliers et simultanés de la flore planctonique dans l'eau et les contenus stomacaux de moules parallèlement à des analyses toxicologiques à l'aide du test-souris se sont avérés efficaces pour donner l'alerte et suivre l'évolution du phénomène.

L'étalonnage du test-souris reste empirique mais il est difficile d'envisager un autre procédé étant donné le niveau de connaissance actuel concernant le dosage de la toxine et le contexte dans lequel les résultats ont été obtenus. Néanmoins, il permet de mettre en évidence un seuil approximatif de toxicité au-dessous duquel il est raisonnable de penser qu'il n'y a pas de risque pour la santé humaine. Ce seuil se situant autour de 0,5 U.S., ce qui ramène le temps d'observation des souris à 24 heures au lieu de 48 heures.

La relation entre la concentration cellulaire de *D. acuminata* dans l'eau et le niveau de toxicité des moules est remarquable et il apparaît, comme YASUMOTO *et al.* (1980) le signalent, qu'un taux supérieur à 200 cellules par litre est le seuil au-dessus duquel la toxicité devient appréciable. Néanmoins, le taux de contamination a été moins élevé qu'en Hollande durant l'été 1981, ce qui expliquerait que la décontamination ait été plus rapide ; en effet, la consommation de moules à partir du mois d'août ne devait vraisemblablement plus représenter de risques.

La relation entre les niveaux de toxicité des moules et la symptomatologie humaine n'a pas été possible, l'établissement d'une telle relation nécessite une collaboration étroite entre les autorités sanitaires. Ceci est d'autant plus regrettable qu'en l'absence de précisions dans ce domaine, il est indispensable de maintenir une marge de sécurité assez grande pour protéger le consommateur, ce qui est évidemment préjudiciable aux conchyliculteurs.

BIBLIOGRAPHIE

- BADEN (D.G.), 1983. — Marine Food-Borne Dinoflagellate Toxins. — *Intern. Rev. Cyt.*, 82 : 99-148. bibliographie.
- KAT (M.), 1982. — Diarrhetic Mussel poisoning in the Netherlands related to the occurrence of *Dinophysis acuminata*. — C.I.E.M. C.M. 1982/E : 24.
- 1982. — The sequence of the principal Phytoplankton blooms in the Dutch coastal area (1973-1981). — C.I.E.M. C.M. 1982/L : 22.
- 1983. — *Dinophysis acuminata* Blooms in the Dutch coastal Area related to diarrhetic mussel poisoning in the Dutch Wadden-sea. — *Sarsia* : 81-84.
- MURATA (M.), SHIMATANI (M.), SUGITANI (H.), OSHIMA (Y.) et YASUMOTO (T.), 1982. — Isolation and structural elucidation of the causative toxin of the Diarrhetic Shellfish Poisoning. — *Bull. Jap. Soc. Fish.*, 48 (4) : 549-552.
- PRAKASH (A.), MEDCOF (J.C.), TENNANT (A.D.), 1971. — Paralytic shellfish Poisoning in eastern Canada. — *Fish. Res. Bd. Can. Bull.*, 177.
- TANGEN (K.), 1983. — Mussel poisoning and the occurrence of potentially toxic dinoflagellates in Norwegian waters. — C.I.E.M. C.M. 1983/L : 3.
- YASUMOTO (T.), OSHIMA (Y.) et YAMAGUCHI (M.), 1978. — Occurrence of a new type of Shellfish Poisoning in the Tohoku District. — *Bull. Jap. Soc. Fish.*, 44 (11) : 1249-1255.
- YASUMOTO (T.), OSHIMA (Y.), SUGAWARE (W.), FUKUYO (Y.), OGURI (H.), IGARASHI (T.) et KUJITA (N.), 1980. — Identification of *Dinophysis fortii* as the causative organism of Diarrhetic Shellfish Poisoning. — *Bull. Jap. Soc. Fish.*, 46 (11) : 1405-1411.
- YASUMOTO (T.), MURATA (M.), OSHIMA (Y.), MATSUMOTO (G.K.) et CLARDY (J.), 1984. — Diarrhetic Shellfish Poisoning In Seafood Toxins. — *Ragelis Ed. ACS Symposium Serie n° 262* : 207-214.

Manuscrit soumis le 3-10-1984, accepté le 16-9-1985.