



Le directeur général

Maisons-Alfort, le 11 août 2016

NOTE
d'appui scientifique et technique
de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,
de l'environnement et du travail

**relatif à la mise en place en urgence d'un protocole d'étude de l'évaluation de l'efficacité du
décorticage de pétoncles contaminées par des phycotoxines lipophiles au-delà du seuil
réglementaire**

L'Anses a été saisie le 09 août 2016 par la Direction générale de l'alimentation (DGAL) pour la réalisation de l'appui scientifique et technique suivant : Demande d'appui pour la mise en place en urgence d'un protocole d'étude de l'évaluation de l'efficacité du décorticage sur pétoncles vis-à-vis du risque toxines lipophiles.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA DEMANDE

Dans le cadre de la surveillance du phytoplancton et des phycotoxines (REPHY¹) mis en œuvre par l'Ifremer², un bulletin d'alerte a été émis le 21 juillet 2016 suite à la détection d'une concentration en phycotoxines lipophiles (DSP) de 321,8 microgrammes d'équivalent en acide okadaïque par kg dans des pétoncles (*Aequipecten opercularis*) prélevés le 13 juillet 2016 dans la zone 017 Nord-Ouest Cotentin.

La limite maximale fixée par le Règlement (CE) n°853/2004³ est de 160 microgrammes d'équivalent en acide okadaïque par kg (pour l'acide okadaïque, les dinophysistoxines et les pectenotoxines pris ensemble).

Sur la base de ces résultats, un arrêté préfectoral portant interdiction de la pêche des pétoncles provenant des eaux françaises situées dans la zone concernée a été pris le 22 juillet 2016.

Les résultats du suivi de cette zone témoignent d'une persistance de l'épisode toxique avec la présence de 423,6 µg d'équivalent en acide okadaïque/kg pour le prélèvement du 22 juillet, de 779,1 µg d'équivalent en acide okadaïque/kg pour celui du 27 juillet et de 660,4 µg d'équivalent en acide okadaïque/kg pour celui du 5 août.

Cette activité concerne 15 navires, principalement basés dans la Manche, qui pêchent de 10 à 15 tonnes de pétoncles par marée à raison de deux marées par semaine.

¹ Réseau d'Observation et de Surveillance du Phytoplancton et des Phycotoxines

² Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer

³ 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

La préfecture de la région Normandie, sur demande des professionnels, souhaite mettre en œuvre un dispositif de décorticage vis-à-vis des phycotoxines lipophiles pour les pétoncles en vue de leur mise sur le marché, comme la réglementation européenne l'autorise déjà pour les coquilles Saint-Jacques contaminées en phycotoxines de la famille de l'acide domoïque (ASP) sous certaines conditions (décision n°2002/226/CE⁴).

La réglementation européenne ne prévoit pas de dérogation pour les pétoncles quelle que soit la famille de toxines considérées.

Une étude nationale a été réalisée en 2014-2015 par le Laboratoire National de Référence pour les Biotoxines Marines (Anses, Laboratoire de sécurité des aliments, site de Maisons-Alfort) sur l'évaluation de l'efficacité du décorticage des coquilles Saint-Jacques contaminées en phycotoxines de la famille de l'acide okadaïque (DSP). Cependant, les conclusions de cette étude ne peuvent pas être extrapolées *a priori* aux pétoncles, aucun élément ne permettant d'affirmer que le processus de contamination et de décontamination est équivalent entre ces coquillages.

Dans ce contexte, La DGAL souhaite que l'Anses puisse apporter son appui, le plus rapidement possible compte tenu de l'épisode de contamination en cours, sur le projet de protocole d'étude (en annexe).

Cette étude serait alors prise en charge financièrement par les professionnels, sous la supervision des services officiels et permettra, le cas échéant, de porter la discussion au niveau européen pour envisager une évolution de la réglementation à cet égard.

2. ORGANISATION DES TRAVAUX

L'appui scientifique et technique (AST) réalisé en réponse à la présente demande de la DGAL ne fonde pas une évaluation des risques sanitaires.

Les travaux ont été réalisés en interne à l'Anses, à la Direction de l'Evaluation des Risques, et a impliqué deux unités, à savoir l'Unité d'Evaluation des Risques liés aux Aliments (UERLIM) et l'Unité Méthodologie et Etudes (UME).

Compte tenu du délai en urgence demandé par la DGAL, le Comité d'experts spécialisé concerné, à savoir le CES ERCA (Evaluation des risques physico-chimiques liés aux aliments), n'a pas été sollicité.

L'analyse statistique a été effectuée avec le logiciel R.2.5.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS

L'appui de l'Anses porte sur l'aspect statistique du protocole d'échantillonnage proposé afin de déterminer si le nombre de pétoncles prélevés peut permettre de répondre à la question posée de manière satisfaisante.

3.1 Analyse

Afin d'évaluer l'efficacité du décorticage de pétoncles contaminés par des phycotoxines lipophiles au-delà du seuil réglementaire, trois approches peuvent être envisagées :

1. Calculer la probabilité que la concentration en phycotoxines lipophiles dans la noix soit supérieure au seuil réglementaire ;
2. Estimer la corrélation entre la concentration en phycotoxines lipophiles dans la noix et celle dans la chair totale ;
3. Comparer la moyenne des concentrations en phycotoxines lipophiles dans les noix au seuil réglementaire.

⁴ Décision n°2002/226/CE de la Commission du 15 mars 2002 instaurant des contrôles sanitaires spéciaux pour la récolte et le traitement de certains mollusques bivalves présentant un taux de toxine ASP (Amnesic Shellfish Poison) supérieur à la limite fixée par la directive 91/492/CEE du Conseil.

Quelle que soit l'approche, il est important de disposer d'une gamme de valeurs étendues et quantifiées.

Le protocole proposé par la DGAL prévoit le prélèvement de 120 pétoncles au minimum dans la zone la plus contaminée.

Si la prévalence de pétoncles contaminés par des phycotoxines lipophiles au-delà du seuil réglementaire au moment de la pêche est faible, par exemple de 5% ou de 1%, il est possible de calculer la probabilité d'avoir au moins un échantillon supérieur au seuil réglementaire selon différentes tailles de l'échantillon. Le calcul est effectué à partir de la fonction de répartition d'une loi binomiale, sous l'hypothèse d'une population de taille très supérieure à la taille de l'échantillon (>10%). Les résultats sont présentés dans le tableau 1.

Tableau 1 : probabilité d'obtenir au moins un résultat supérieur au seuil réglementaire, selon deux hypothèses de prévalence (1 et 5%) et différentes tailles de l'échantillon

Taille de l'échantillon (nombre de pétoncles)	Prévalence de 5%	Prévalence de 1%
40	0,871	0,331
60	0,953	0,452
80	0,983	0,552
100	0,994	0,633
120	0,997	0,701
140	0,999	0,755
160	0,9997	0,799
180	0,9999	0,836
200	0,99996	0,866

Par exemple, la probabilité d'avoir un résultat supérieur au seuil réglementaire pour un échantillon de 120 pétoncles et une prévalence de 5% est de 0,997 (soit 99,7%). Si la prévalence est de 1%, cette probabilité baisse à 70%.

Approche n°1 : Calculer la probabilité que la concentration en phycotoxines lipophiles dans la noix soit supérieure au seuil réglementaire

Pour ajuster une distribution, il est préférable de disposer de valeurs quantifiées dans la noix. Par défaut, si toutes les valeurs sont inférieures à la limite de quantification analytique, et que cette limite est assez éloignée du seuil réglementaire, il y a peu de chances que la distribution ajustée prédise une forte probabilité de dépassement. Des difficultés peuvent apparaître s'il y a une très forte variabilité des résultats (forte dispersion des concentrations). En l'absence de données de contamination, seuls des essais par simulation, qui n'étaient pas réalisables dans le délai imparti, auraient permis de définir un nombre minimal d'échantillons nécessaires.

Approche n°2 : Estimer la corrélation entre la concentration en phycotoxines lipophiles dans la noix et celle dans la chair totale

L'estimation de la relation entre la contamination dans la noix en fonction de la concentration dans la chair totale permettra d'évaluer le risque de dépassement du seuil réglementaire et son incertitude, pour différents niveaux de contamination.

Des valeurs non quantifiées sont une source d'incertitude dans l'établissement du coefficient de corrélation.

De la même manière que pour l'approche n°1, en l'absence de données de contamination, seuls des essais par simulation, qui n'étaient pas réalisables dans le délai imparti, aurait permis de définir un nombre minimal d'échantillons nécessaires.

Approches n°3 : Comparer la moyenne des concentrations en phycotoxines lipophiles dans les noix au seuil réglementaire

Afin de pouvoir réaliser une analyse statistique de comparaison de moyennes avec une puissance satisfaisante, il faudrait disposer d'un échantillon de taille suffisante. De façon empirique, un minimum de 30 valeurs dépassant le seuil réglementaire peut assez bien décrire une certaine variabilité individuelle. A titre d'exemple, cet effectif permet de détecter une différence de 70 entre deux moyennes, avec une confiance de 95%, pour une puissance de 80% et une variance élevée, de l'ordre de 10⁴. Si la variance est plus faible, il est possible de détecter une plus faible différence entre les 2 moyennes.

Le tableau 2 présente, pour trois niveaux de pourcentage de dépassement du seuil réglementaire (10%, 20 et 30%), la probabilité d'obtenir 30 valeurs supérieures au seuil réglementaire, en fonction du nombre d'échantillons.

Tableau 2 : probabilité d'avoir au moins 30 échantillons supérieurs au seuil réglementaire en fonction du nombre d'échantillons et du pourcentage de dépassement du seuil dans la population d'origine

Taille de l'échantillon (nombre de pétoncles)	10% de dépassement du seuil	20% de dépassement du seuil	30% de dépassement du seuil
40	0	0	0,57
80	0	0	0,91
120	0	0,10	0,90
160	0	0,68	0,995
200	0,016	0,97	0,999999
240	0,12	0,999	1
280	0,37	0,99999	1
320	0,67	0,999999	1

Si 30% des échantillons ont une concentration supérieure au seuil réglementaire, la probabilité d'avoir 30 échantillons de chair totale supérieurs au seuil réglementaire parmi 120 pétoncles est de 90%.

3.2 Conclusion

Le protocole proposé par la DGAL prévoit le prélèvement de 120 pétoncles au minimum dans la zone la plus contaminée. Avec ce nombre de prélèvements, la probabilité de détecter une valeur supérieure au seuil réglementaire dans le chair totale est de plus de 99% si la prévalence de ces valeurs dans la population d'origine est de 5%, elle est de 70% si la prévalence est de 1%.

L'Anses recommande, dans la mesure du possible, d'augmenter le nombre de pétoncles prélevés. Les pétoncles supplémentaires seraient décortiqués et conservés afin de permettre des analyses complémentaires si le nombre de valeurs quantifiables ou supérieures au seuil réglementaire s'avéraient insuffisant pour conclure.

En absence de données issues d'autres études ou d'une étude préliminaire, il est toujours difficile d'établir un plan d'échantillonnage robuste.

Le reste du protocole concernant la mise en œuvre du prélèvement, le décorticage, la conservation et l'analyse des phycotoxines n'appelle pas de commentaire de l'Anses, le Laboratoire National de Référence pour les Biotoxines Marines ayant été associé à son élaboration.

Roger GENET

MOTS-CLES

Pétoncle, décorticage, biotoxines marines, acide okadaïque

Scallop, processing, marine biotoxins, okadaic acid

ANNEXE 1

Projet de protocole d'étude de l'évaluation de l'efficacité du décorticage sur pétoncles vis-à-vis du risque toxines lipophiles

- Un minimum de 120 pétoncles *Aequipecten opercularis* à prélever au plus vite dans la zone la plus contaminée à savoir 017 La Hague – Carteret Nord Ouest Cotentin (dite zone n°1), en 2 prélèvements indépendants de 60 pétoncles minimum chacun (soit le même jour en deux traits de chaluts différents soit à deux temps différents au plus près du pic de contamination, et dans tous les cas au sein de la zone la plus contaminée sus-mentionnée).

- Le prélèvement devra avoir lieu en présence d'un agent des services de l'État permettant de garantir la traçabilité du prélèvement.

- Les services devront également superviser les opérations de décorticage et de répartition des parties à analyser : noix d'une part et chair restante d'autre part en en assurant la parfaite traçabilité (noix n°1 correspondant à la pétoncle n°1 provenant de la zone n°1, chair restante n°1 correspondant à la pétoncle n°1 provenant de la zone n°1, noix n°2 de la zone n°1, chair restante n°2 de la zone n°1, noix n°3 de la zone n°1, chair restant n°3 de la zone n°1, ce qui suppose des emballages individuels).

Les échantillons doivent être décortiqués dans les meilleurs délais pour éviter la migration des toxines depuis les organes épurateurs vers les parties habituellement comestibles.

Pour cette même raison, la congélation ne peut avoir lieu qu'une fois les opérations de décorticage et de répartition réalisées.

Le but est d'analyser chaque pétoncle, et chacune des deux parties de son décorticage, individuellement, afin d'évaluer d'une part la distribution des toxines entre les deux parties et d'autre part la variabilité inter-individus intra-lot.

La contamination sur chair totale sera extrapolée des résultats obtenus sur la noix et la chair restante.

- Les différentes parties à analyser seront congelées et envoyées sous froid négatif par les services de l'État au Laboratoire National de Référence pour les Biotoxines Marines (Anses, Laboratoire de sécurité des aliments, site de Maisons-Alfort) :

Anses - Laboratoire de sécurité des aliments site de Maisons-Alfort
Département Contaminants Chimiques des Aliments
Unité Pesticides et Biotoxines Marines
Marina Nicolas, responsable du LNR biotoxines marines
22 rue Pierre et Marie CURIE
94701 Maisons-Alfort cedex

Le LNR Biotoxines Marines (Anses) assurera les analyses et remettra à la DGAI-BPMED un rapport circonstancié qui mettra en évidence, avec l'appui statistique de l'Anses-DER, la répartition des toxines entre les deux parties « noix » et « chair restante » dans les pétoncles.

Le laboratoire peut rendre, au mieux, les résultats sous 7 mois.

Il importe que toutes les garanties puissent être apportées en matière de prélèvements, de décorticage et de traçabilité des parties analysés de sorte que les résultats de cette étude puissent être exploitables et constituer, le cas échéant, un fondement suffisant pour engager des discussions au niveau européen.