



Maisons-Alfort, le 08 février 2008

Appui Scientifique et Technique

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif au risque phycotoxinique dans les coquillages autres que les mollusques bivalves vivants (gastéropodes, échinodermes et tuniciers)

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 04 janvier 2007 par la Direction Générale de l'Alimentation (DGAI) d'une demande d'avis relatif à l'évaluation du risque phycotoxinique dans les coquillages autres que les mollusques bivalves vivants (gastéropodes, échinodermes et tuniciers). En accord avec la DGAI, cette saisine a été requalifiée en demande d'appui scientifique et technique, en tant qu'étape préliminaire à la mise en place d'un suivi de ces contaminations.

1. Contexte

Le règlement CE n°853/2004 du 29 avril 2004 fixant les règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale précise en annexe III, section VII, les exigences spécifiques applicables aux mollusques bivalves vivants. Ces dispositions, à l'exception de celles concernant la purification microbiologique, s'appliquent également aux échinodermes, aux tuniciers et aux gastéropodes marins vivants (visés par la dénomination de « coquillages autres que les mollusques bivalves vivants »).

Parmi ces dispositions, figure l'obligation pour l'autorité compétente de surveiller le niveau de contamination par les phycotoxines marines dans l'ensemble des coquillages commercialisés, afin de s'assurer qu'ils respectent les normes sanitaires précisées en annexe III, section VII, chapitre V du règlement précité (annexe 1).

Dans ce contexte, il est demandé à l'Agence de déterminer si les gastéropodes, les échinodermes et les tuniciers ont la capacité d'accumuler les familles de phycotoxines marines réglementées en quantité susceptible de représenter un risque pour la santé humaine.

2. Glossaire/Terminologie

Echinodermes : animaux marins invertébrés épineux, par exemple les oursins (*Paracentrotus lividus*), les holothuries et les étoiles de mer.

Gastéropodes marins : animaux marins invertébrés avec une coquille, par exemple les bulots (aussi appelés buccins, *Buccinum undatum*), les bigorneaux (*Littorina littorea*), les ormeaux (*Haliotis tuberculata tuberculata*) et les patelles (*Patella vulgata*).

Phycotoxines : toxines produites par le phytoplancton marin, aussi dénommées toxines algales ou biotoxines marines.

Saxitoxine (STX) : toxine de la famille des phycotoxines paralysantes, de type hydrophile, comprenant également la néo-saxitoxine (Néo-STX), la décarbamoyle-saxitoxine (dcSTX), les gonyautoxines (GTXs) et les toxines de type C (toxines C). La quantité des différentes toxines de cette famille est exprimée en équivalent-saxitoxine (eqSTX).

Tuniciers : animaux marins invertébrés, par exemple les violets (*Botrylloïdes violaceus*).

3. Introduction

L'accumulation de phycotoxines dans les coquillages marins est un phénomène saisonnier sous les latitudes tempérées et concerne, dans la majorité des épisodes toxiques, les bivalves filtreurs (huîtres, moules, coquilles Saint-Jacques,...). Du fait de leur mode d'alimentation basé sur la filtration de l'eau avec ingestion des microorganismes en suspension, les bivalves peuvent être rapidement contaminés par les phycotoxines, qui se concentrent essentiellement dans la glande digestive (aussi appelée hépatopancréas). Une documentation importante est disponible tant sur les niveaux de contamination que sur les processus d'accumulation et d'élimination des phycotoxines par les bivalves d'intérêt commercial.

Les mollusques bivalves sont les coquillages les plus consommés, mais les données de l'étude CALIPSO, l'Etude des consommations alimentaires de produits de la mer et imprégnation aux éléments traces, polluants et oméga 3 (2006), montrent que d'autres « coquillages » sont également consommés en France, plus ou moins régulièrement, selon les coutumes locales et la pêche récréative (tableau 1).

Tableau 1 : Détail des consommations de coquillages par les forts consommateurs de produits de la mer (g/sem exprimé en chair fraîche), bivalves en italique (source : CALIPSO, 2006).

	Moyenne (g/sem)	P5	P50	P95
Bigorneau	4,2	0	0	25,0
Bulot, buccin	15,4	0	0	75,0
<i>Clam</i>	<i>0,2</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>0</i>
<i>Coque</i>	<i>3,1</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>15,0</i>
<i>Coquille Saint-Jacques</i>	<i>39,3</i>	<i>0</i>	<i>25,0</i>	<i>156,3</i>
<i>Couteau</i>	<i>0,4</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>0</i>
<i>Huitre</i>	<i>34,4</i>	<i>0</i>	<i>18,0</i>	<i>144,0</i>
<i>Moule</i>	<i>22,5</i>	<i>0</i>	<i>17,5</i>	<i>70,0</i>
Ormeau, oreille de mer, ormier	0,6	0	0	0
Oursin	11,6	0	0	52,5
<i>Palourde, clovisse</i>	<i>2,8</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>12,3</i>
Patelle	1,0	0	0	0
<i>Pétoncle</i>	<i>14,7</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>56,3</i>
<i>Praire</i>	<i>1,5</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>7,5</i>
<i>Telline, olive</i>	<i>0,3</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>0</i>
<i>Vanneau</i>	<i>0,5</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>0</i>
Violet	1,0	0	0	0
<i>Total Mollusques bivalves</i>	<i>119,7</i>	<i>7,5</i>	<i>79,8</i>	<i>350,3</i>
Total Gastéropodes	21,2	0	3,8	87,5
Total Echinodermes	11,6	0	0	52,5
Total Tuniciers	1,0	0	0	0

La bibliographie concernant ces « autres coquillages » est bien plus restreinte et porte surtout sur les toxines paralysantes, la saxitoxine (STX) et ses composés-parents.

4. Gastéropodes et toxines paralysantes

Le tableau en annexe 2 présente un inventaire des niveaux de contamination en phycotoxines paralysantes les plus élevés, reportés dans la bibliographie pour les gastéropodes, sur la base de la synthèse réalisée par Shumway en 1995 et complétée avec des données publiées depuis.

La présence de phycotoxines paralysantes dans les gastéropodes est détectée dès les années soixante, par le bio-essai souris, dans différentes espèces en Amérique du Nord et plus tard dans différents pays des zones tempérées et tropicales. La concentration maximum de 5629 µg eqSTX/100g de chair est rapportée chez *Argobuccinum sp* au Chili suivi de 3337 µg eqSTX/100g chez un autre buccin *Buccinum undatum* dans le Golfe du Maine (USA). La gamme des niveaux de contamination chez les gastéropodes est très vaste et il n'est pas possible de distinguer une différence entre les espèces, du fait d'une grande variabilité individuelle.

Des décès suite à la consommation des gastéropodes contaminés par les phycotoxines paralysantes ont été rapportés dans la littérature (Shumway, 1995). Certains auteurs concluent que ces coquillages peuvent présenter un risque pour la santé publique et recommandent qu'ils soient inclus dans un réseau de surveillance (Shumway, 1995 ; Pitcher *et al.*, 2001).

Par ailleurs, en octobre 2007, l'Espagne a signalé, par le système d'alerte rapide sur les denrées alimentaires et les aliments pour animaux (RASFF) géré par la Commission Européenne, une alerte sanitaire suite au coma d'un individu ayant consommé des gastéropodes (*Murex spp.*) en provenance du Portugal, contaminés par des phycotoxines paralysantes (151 µg STX/100g de chair, alerte 2007.0752).

Concernant les autres phycotoxines (amnésiastes, diarrhéiques, yessotoxines et azaspiracides), l'absence de données n'implique pas que les gastéropodes ne soient pas contaminés mais seulement que ces toxines n'ont pas été recherchées dans leur tissu.

Peu de publications sont parues récemment sur ce sujet spécifique mais quelques unes d'entre elles ont tenté d'approfondir la répartition géographique locale, la répartition tissulaire et le processus de contamination.

4.1. Répartition géographique et voie de contamination

La contamination des gastéropodes carnivores et/ou nécrophages s'explique naturellement par la voie alimentaire : ils accumulent les toxines quand leur nourriture est contaminée.

Ce transfert a été démontré par une étude expérimentale réalisée à Taiwan (Chen et Chou, 1998) dans laquelle un gastéropode prédateur (*Babylonia areolata* Link) était nourri avec un bivalve (*Hiatula diplos*) contaminé expérimentalement par *Alexandrium minutum*. Deux études sur le terrain confirment ces résultats.

1) Au Chili, la contamination expérimentale de deux gastéropodes (*Concholepas concholepas* et *Argobuccinum ranelliformes*) prédateurs d'un même bivalve (*Aulacomya ater*) a été effectuée au cours d'une année sur un site particulier (Compagnon *et al.*, 1998). Durant le suivi, une efflorescence d'*Alexandrium catenella* a eu lieu de février à mars. Les deux gastéropodes ont atteint un niveau maximum de contamination 4-5 mois après le pic de l'efflorescence toxique aux niveaux suivants :

- *Concholepas concholepas* : 9 164 µg eqSTX/100g dans la glandes digestive et 737 µg eqSTX/100g dans le muscle du pied ;
- *Argobuccinum ranelliformes* : 14 057 µg eqSTX/100g dans la glande digestive et 31 µg eqSTX/100g dans le muscle du pied.

Il est cependant à noter que la contamination de l'un des gastéropodes (*C. concholepas*) a été observée bien avant l'apparition de l'efflorescence algale.

2) Au Japon, un suivi du gastéropode carnivore *Rapana venosa*, sur presque deux ans, a montré qu'il était contaminé au printemps, juste après le maximum de contamination des bivalves dont il se nourrit (short-necked clam : *Tapes japonica*). Seuls les viscères se sont

révélés contaminés à hauteur de 3,3-4,2 US¹/g en mai 2001 et 0,2 -11,4 US/g en avril-juin 2002 (Ito *et al.*, 2004). A noter que ce gastéropode tropical *Rapana venosa* serait présent en baie de Quiberon (Morbihan, France) (La Vigie, N°26, 3-9, avril 2001).

Si la contamination par voie alimentaire semble démontrée pour certains gastéropodes carnivores, elle ne l'est pas pour d'autres gastéropodes dont le régime alimentaire est différent, comme les ormeaux.

Une description spatiale de la contamination de *Haliotis midae* réalisée en Afrique du Sud (Pitcher *et al.*, 2001), à l'aide d'échantillons prélevés dans 5 fermes aquacoles réparties le long de la côte du nord-ouest jusqu'au sud-est, révèle que la contamination de l'ormeau ne coïncide pas avec les efflorescences du dinoflagellé producteur de toxines paralysantes (*Alexandrium catenella*).

Le même phénomène a été observé en Espagne (Galice), où la contamination de *Haliotis tuberculata* a été mise en évidence la première fois en 1991 (78 µg eqSTX/100g chair). Depuis, l'étendue de la contamination a fait l'objet d'études qui montrent l'absence de relation entre la présence de phycotoxines paralysantes dans les ormeaux et les efflorescences toxiques (Bravo *et al.*, 1996, 1999).

Il convient de noter que la présence de phycotoxines paralysantes dans les gastéropodes ne serait pas seulement le résultat passif d'une alimentation contaminée. Ces toxines pourraient en effet jouer un rôle écologique dans les systèmes de défense, une étude ayant montré le pouvoir d'attraction de la nourriture contaminée par des phycotoxines paralysantes sur des gastéropodes (Hwang *et al.*, 2007).

4.2. Répartition, profil, et variabilité du contenu toxinique

a) Répartition tissulaire

Comme pour les bivalves, la concentration en phycotoxines paralysantes dans la glande digestive des gastéropodes est généralement bien plus élevée que celle mesurée dans le reste de la chair, mais avec une grande variabilité.

Dès 1977, Yasumoto *et al.* signalaient une contamination élevée dans les viscères du gastéropode herbivore *Turbo marmorata*. De même, à Taiwan, le gastéropode carnivore *Babylonia areolata* nourri expérimentalement avec un bivalve contaminé par des phycotoxines paralysantes a concentré les toxines dans la glande digestive (Chen et Chou, 1998).

Au Chili, les deux espèces de gastéropodes qui ont fait l'objet du suivi de plus d'un an, présentaient de grandes différences dans les niveaux et la répartition des phycotoxines (Compagnon *et al.*, 1998). Chez *Argobuccinum ranelliformis*, seules les viscères étaient contaminées. Le niveau de contamination le plus élevé atteint à la fin de l'été était de 14 057 µg eqSTX/100g dans la glande digestive alors que dans le muscle du pied, le niveau n'avait pas dépassé 31 µg eqSTX/100g. Chez *Choncholepas concholepas*, la concentration maximale des glandes digestives mesurée en juin était de 9 164 µg eqSTX/100g alors que celle du muscle était de 737 µg eqSTX /100g.

En Afrique du sud, Pitcher *et al.* (2001) ont réalisé une étude sur la distribution anatomique des phycotoxines chez l'ormeau *Haliotis midae*. Elle confirme d'une part, que les viscères contiennent une grande proportion de phycotoxine (bien que d'une manière très variable) et d'autre part, elle révèle que la contamination du muscle du pied n'est pas homogène selon que l'on considère le tissu musculaire ou l'épithélium. La frange péri-podale présentait une concentration de 900 µg eqSTX/100g (écart-type de 400 µg eqSTX/100g pour 12 individus) alors que celles du muscle du pied et des viscères étaient inférieures à 200 µg eqSTX/100g. Par ailleurs, un autre échantillon de

¹ Unité souris (US) : correspond à la quantité de phycotoxines paralysantes injectée par voie intrapéritonéale et entraînant la mort d'une souris en 15 minutes (AOAC, 1990).

10 individus montrait que les branchies peuvent aussi être très contaminées ($1250 \pm 400 \mu\text{g eqSTX}/100\text{g}$).

En Espagne, Bravo *et al.* (1999) ont également analysé la répartition des phycotoxines dans les différents compartiments tissulaires de l'ormeau :

- épithélium du pied : $10\,500 \pm 1500 \mu\text{g eqSTX}/100\text{g}$ (9500 dcSTX et 1000 STX) ;
- tube digestif : $28 \pm 5 \mu\text{g eqSTX}/100\text{g}$ (12 dcSTX et 16 STX) ;
- muscle du pied : $27 \pm 6 \mu\text{g eqSTX}/100\text{g}$ (2 dcSTX et 25 STX).

Compte tenu de sa masse par rapport au reste du corps, l'épithélium contribuerait à 64% de la contamination totale de l'individu. Comme le rapport du poids de l'épithélium sur le poids du muscle diminue avec la longueur de l'animal, cela expliquerait une contamination plus élevée des ormeaux dont la taille est inférieure à 65 mm.

b) Profil toxinique

Les analyses physico-chimiques ont mis en évidence chez les gastéropodes un profil toxinique différent de celui des algues contaminant les bivalves.

Dans l'étude conduite au Chili, la comparaison des profils a porté sur la chair totale du bivalve-proie et sur la glande digestive et le muscle des deux gastéropodes prédateurs. Ces données sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 2 : Composition toxinique (% molaire) des trois mollusques au moment de leur contamination maximale (d'après Compagnon *et al.*, 1998).

		Contamination totale maximale en $\mu\text{g eqSTX}/100\text{g}$	STX	dcSTX	Néo-STX	GTXs 1-5
Bivalve <i>A. ater</i>	Chair	13 259	3	2	10	85
Gastéropode <i>C. concholepas</i>	Glande digestive	6 183	12	3	1	84
	Muscle	1 068	65	5	30	0
Gastéropode <i>A. ranelliformes</i>	Glande digestive	4 732	38	2	0	60
	Muscle	12	65	22	0	12

Il convient de noter que la somme STX et Néo-STX (les deux molécules les plus toxiques) représentent respectivement 95% et 87% du contenu toxique dans le muscle des deux gastéropodes. Le profil qualitatif des glandes digestives des deux prédateurs apparaît similaire à celui du bivalve mais les auteurs signalent que ce profil évolue au cours du suivi. En effet, d'octobre 1995 à novembre 1995, le profil phycotoxinique de la glande digestive de *C. concholepas* montre un profil très simple avant et après l'efflorescence algale, représenté par de la STX essentiellement (un peu de Néo-STX et de GTX 5 après). Ensuite, de janvier 1996 à mars 1996, le profil est complexe car il montre des GTXs en proportion différente selon le moment.

Dans l'étude de Pitcher *et al.* (2001), en Afrique du Sud, la contamination phycotoxinique de *Haliotis midae* n'est composée que de STX alors que les moules du même site contiennent 56-57% de Néo-STX, 41% de STX, le reste se répartissant entre toxines C1 et C2, pour une contamination totale comprise entre 1610 et 60 940 $\mu\text{g eqSTX}/100\text{g}$. Le dinoflagellé récolté au même endroit possédait un profil assez complexe mais de faible contamination à raison de 1,75 $\mu\text{g eqSTX}/\text{cellule}$ réparti comme suit :

- C1 et C2 N-sulfocarbamoyl : 60% (moins toxique) ;
- carbamate STX Néo-STX et GTX 3,4 : 30-32 %;
- decarbamoyl GTX 3 : 8%.

Une observation similaire est rapportée par l'équipe japonaise à propos du gastéropode carnivore *Rapana venosa* dont la composition phycotoxinique est plus simple que celle du dinoflagellé *A. tamarensis* mais qualitativement proche du bivalve dont il se nourrit (Ito *et al.*, 2004). Les composants majeurs (94% en ratio molaire) sont constitués de GTX 2-4 (76%), de Néo-STX et STX (18%).

En Galice, 80% de la contamination du muscle de *Haliotis tuberculata* repose sur de la dcSTX, le reste étant de la STX alors que la glande digestive contient les deux toxines en quantité grossièrement égale (Bravo *et al.*, 1999).

Il convient de noter que les ormeaux d'Afrique du Sud et de Galice ne présentent pas le même profil toxinique.

En conclusion, ces résultats montrent une tendance à la rétention des phycotoxines les plus actives chez les gastéropodes : STX, Néo-STX et dcSTX.

c) Variabilité et rétention

L'ensemble des travaux précédemment cités font part d'une grande variabilité individuelle de la contamination phycotoxinique.

Bravo *et al.* (1999) n'observent pas de différence entre 7 sites de la côte galicienne à partir de prélèvements constitués de 3 ou 4 individus de même taille après éviscération des animaux.

En Afrique du Sud, la variabilité individuelle a été étudiée sur la chair totale d'animaux de même taille élevés sur le même site (Pitcher *et al.*, 2001). Les résultats sont présentés dans le tableau 3.

Tableau 3 : Variabilité individuelle des ormeaux en Afrique du Sud (Pitcher *et al.*, 2001)

Lieu	Nbre individus	Taille en mm	Contamination maximale $\mu\text{gSTXeq}/100\text{g}$	Facteur multiplicateur
Ferme A	10	30	77 -383	X 5
Ferme A	?	?	63-1609	
Ferme B	10	55-60	57-307	X 5
Zone Nord du Cap	52	115-170	29-314	X 10

L'ensemble des essais de décontamination qui ont été mis en place concluent à l'élimination extrêmement lente des toxines, surtout celles contenues dans le muscle.

Au Chili, le muscle de l'un des deux prédateurs (*C. concholepas*) montrait une contamination bien avant l'apparition de l'efflorescence algale. Les auteurs suggèrent la possibilité d'une contamination résiduelle due à une efflorescence algale antérieure.

En Espagne, une expérience de décontamination a été conduite sur 3 mois avec 3 groupes d'ormeaux contaminés, gardés en eau vive et nourris avec 3 espèces de macrophytes. Aucune décontamination n'a été observée sur la durée de l'expérience, quelle que soit la nourriture donnée. Le muscle était plus contaminé que les viscères : 220 ± 92 et 104 ± 68 eq STX/100g respectivement. Aucune relation n'a pu être mise en évidence entre la contamination et la composition en macro-algues des stations d'échantillonnage et il n'a pas été trouvé de phycotoxines paralysantes dans les macro-algues ou le substrat.

Pitcher *et al.* (2001) observent la rétention prolongée des phycotoxines sur une durée de 7 mois et en concluent à une caractéristique de l'ormeau. Les variations observées ne reflèteraient que la variation individuelle.

5. Autres organismes et autres toxines

a) Autres organismes

Chez les échinodermes, seules deux publications (Ito *et al.*, 2003 et Asakawa *et al.*, 1997) font mention de la présence de phycotoxines paralysantes dans les étoiles de mer (*Asterina pectinifera* et *Asterias amurensis*). Les valeurs varient de « non détectable » à environ 12 US dans la chair totale.

La recherche bibliographique axée sur *Paracentrotus lividus* pour ces 20 dernières années n'a pas conduit à identifier de publication impliquant un risque phycotoxinique chez l'oursin, bien que

celui-ci puisse être porteur sain. Sa sensibilité à divers pesticides neurotoxiques est rapportée (Pesando *et al.*, 2003) ainsi qu'à des toxines de *Caulerpa* (Pedrotti et Lemée, 1999).

Concernant les tuniciers, les travaux de Freitas *et al.*, (1996) ayant montré que *Phallusia nigra* contenaient de la saxitoxine et des gonyautoxines (30 US/100g de chair).

Robertson *et al.* (2004) ont mis en évidence des phycotoxines paralysantes chez un poulpe (*Octopus sp.*). La contamination maximale était composée uniquement de saxitoxine à hauteur de 246 µg STX/100g de tissu et n'était pas reliée à la présence de phytoplancton toxique.

Chez les crustacés, des contaminations dues à la présence des phycotoxines paralysantes et amnésiantes ont été rapportées, notamment chez les crabes *Carcinus maenas* (green crab) et *Cancer pagurus* (brown crab) qui contenaient des phycotoxines diarrhéiques et des azaspiracides (Torgersen *et al.*, 2008).

b) Autres toxines

La tetrodotoxine (TTX) a été décrite pour la première fois dans un gastéropode *Charonia saulia* (Trumpet shell) en 1981 (par Narita *et al.*, cité par Yu *et al.*, 2004) Elle est plus connue comme toxine des Fugu, c'est-à-dire des Pufferfishes appelés poissons Tétrodons du genre Takifugu. Sa présence a aussi été décrite dans des crabes (*Atergatus floridus*, xanthid crab), des gastéropodes marins du genre *Zeuxis*, *Oliva* et *Nassarius* en Chine (Huang *et al.*, 2008), des oursins de la mer des caraïbes (*Meoma ventricosa*) (Ritchie *et al.*, 2000) et des tuniciers (Freitas *et al.*, 1996). La présence de tetrodotoxine dans ces genres en France n'est pas connue, mais cette toxine peut être produite par des *Alexandrium* et des bactéries contaminantes appelées *Microbacterium arabinogalactanolyticum*, *Serratia marcescens* et *Vibrio alginolyticus* (Yu *et al.*, 2004).

La palytoxine (PLT) est l'une des toxines non protéiques connues à ce jour les plus actives chez les mammifères. De plus, la PLT donne chez la souris des temps de survie très courts au bio-essai souris pour les phycotoxines lipophiles, sans autre plancton associé que des *Ostreopsis*. Chez l'homme, des effets toxiques et des décès ont été constatés après consommation de divers crabes ou poissons de l'Océan Indien et Pacifique (Molgo *et al.*, 1999 ; Onuma *et al.*, 1999). Récemment, les dinoflagellés du genre *Ostreopsis* ont aussi été mis en cause comme source de contamination, en particulier *O. siamensis*, en Grèce Les coquillages bivalves étudiés dans lesquels la PLT a été retrouvée sont les suivants : *Mytilus galloprovincialis*, *Venus verrucosa* et *Modiolus barbatus*, en quantités inférieures à la limite provisoire fixée en 2005 par la réglementation européenne à 250 µg/kg (Aligizi *et al.*, 2008).

Concernant les microcystines, qui sont surtout des toxines d'eau douce mais qui peuvent être retrouvées dans le Netpen liver disease des saumons, l'élevage d'oursin en même temps que celui des saumons pourrait être sujet à une contamination croisée, mais il n'y a pas de données à ce sujet (Cook et Kelly 2007). Les gastéropodes d'eau douce sont connus pour accumuler les microcystines (White *et al.*, 2006; Xie *et al.*, 2007).

Les phycotoxines lipophiles de type diarrhéique ont fait l'objet de deux études sur des gastéropodes. L'une d'elle mentionne des traces d'acide okadaïque (AO) chez *Neverita didyma* à raison de 3,2 µg d'AO/100g de chair (Zhen et Wang, 2005), l'autre ne décèle pas de toxine (Ito *et al.*, 2004).

Les crabes sont également capables d'accumuler ces toxines surtout dans la glande digestive, comme l'ont montré les travaux de Jorgensen *et al.* (2008) qui ont nourri expérimentalement des crabes (*Carcinus maenas*) avec des moules contaminées et ont observé un contenu phycotoxinique allant jusqu'à 503 µg d'AO/kg de glande digestive contre seulement 12 µg/kg dans la chair, quantité bien inférieure du seuil sanitaire pour cette dernière valeur.

6. Conclusion

L'analyse bibliographique réalisée permet donc de conclure que les gastéropodes ont la capacité d'accumuler les phycotoxines paralysantes ; aucune donnée n'est cependant disponible concernant :

- les espèces de gastéropodes les plus consommées en France comme le bulot *Buccinum undatum* et le bigorneau *Littorina littorea* ;
- les autres familles de phycotoxines réglementées (amnésiannes, lipophiles, yessotoxines et azaspiracides).

Bien que les résultats ne portent pas sur un grand nombre d'espèces, il semblerait que les gastéropodes carnivores aient tendance à stocker (voire accumuler) les phycotoxines dans les viscères tandis que les herbivores auraient tendance à les accumuler dans le muscle du pied.

Les études ayant porté simultanément sur les bivalves (proie) et les gastéropodes carnivores (prédateur) permettent de conclure que les bivalves sont bien plus contaminés que les gastéropodes (d'un facteur 10 environ).

Mais les gastéropodes présentent quelques caractéristiques qu'il est nécessaire de prendre en compte :

1. le temps de rétention des phycotoxines paralysantes est très long, certaines études concluant même à l'absence de décontamination ;
2. la contamination semble parfois aléatoire, la contamination ne coïncidant pas avec les efflorescences du dinoflagellé producteur de toxines paralysantes (cas de l'ormeau) ;
3. chez les gastéropodes herbivores, la contamination phycotoxinique est plus élevée dans la partie la plus consommée de l'animal (muscle du pied) ;
4. la présence de phycotoxines paralysantes pourrait participer à un système de défense, dans lequel les gastéropodes consommeraient préférentiellement de la nourriture contaminée ;

En outre, un cas d'intoxication par les phycotoxines paralysantes suite à la consommation de gastéropodes a été signalé en Espagne.

En conséquence, une étude visant à déterminer le niveau de contamination phycotoxinique des gastéropodes présents sur les côtes françaises et les plus consommés pourrait être recommandée, en tenant compte de la possibilité de variations saisonnières.

Concernant les tuniciers, les données de la littérature montrent qu'ils peuvent accumuler les phycotoxines paralysantes, du fait de leur activité de filtration. Une étude ponctuelle en cas d'efflorescence toxique pourrait être envisagée.

Enfin, concernant les échinodermes, la seule espèce d'intérêt est l'oursin. Bien que la sensibilité aux toxines des oeufs d'oursin soit bien connue, aucune donnée n'est aujourd'hui disponible pour déterminer leur capacité d'accumulation des phycotoxines.

7. Références bibliographiques

- Aligizaki K., Katikou P., Nikolaidis G., Panou A., 2008. First episode of shellfish contamination by palytoxin-like compounds from *Ostreopsis* species (Aegean Sea, Greece). *Toxicon*, in press.
- Andersen R.J., Luu H.A., Chen D.Z.X., Holmes C.F.B., Kent M.L., Le Blanc M., Taylor F.J.R., Williams D.E., 1993. Chemical and biological evidence links microcystins to salmon « Netpen liver disease ». *Toxicon* 31: 1315-1323.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists - 1990. Paralytic shellfish poison. Biological method. Final action. *In: Official methods of analysis*, 15th Edition, Hellrich K. (ed), Arlington, sect. 959.08, 881-882.
- Asakawa M., Nishimura F., Miyazawa K., Noguchi T., 1997. Occurrence of paralytic shellfish poison in the starfish *Asterias amurensis* in Kure Bay, Hiroshima Prefecture, Japan. *Toxicon* 35(7): 1081-1087.
- Bravo I., Cacho E., Franco J.M., Miguez A., Reyero M.I., Martinze A., 1996. Study of PSP toxicity in *Haliotis tuberculata* from the Galician coast. In: *Harmful and Toxic Algal Blooms*. Yasumoto T., Oshima Y. and Fukuyo Y. (Eds) ICO of UNESCO, Senday, pp 421-424.

- Bravo I., Reyero M.I., Cacho E., Franco J.M., 1999. Paralytic shellfish poisoning in *Haliotis tuberculata* from the Galician coast: geographical distribution, toxicity by lengths and parts of the mollusc. *Aquatic toxicology* (Amst) **46**: 79-85.
- Bravo I., Franco J.M., Alonso A., Dietrich R., Molist P., 2001. Cytological study and immunohistochemical location of PSP toxins in foot skin of the ormer, *Haliotis tuberculata*, from Galicia coast (NW Spain). *Marine Biology* **138**: 709-715.
- Chen C. and Chou H., 1998. Transmission of the paralytic shellfish poisoning toxins from dinoflagellate to gastropod. *Toxicon* **36**(3): 515-522.
- Compagnon D., Lembeye G., Marcos N., Ruiz-Tagle N., Lagos N., 1998. Accumulation of paralytic shellfish poisoning toxins in the bivalve *Aulacomya ater* and two carnivorous gastropods *Concholepas concholepas* and *Argobuccinum ranelliformes* during an *Alexandrium catenella* bloom in Southern Chile. *Journal of Shellfish Research* **17**(1): 67-73.
- Cook E.J and Kelly M.S., 2007. Enhanced production of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in integrated open-water cultivation with atlantic salmon *Salmo salar*. *Aquaculture* **273**, 573-585
- Freitas J.C., Ogata T., Veit C.H., Kodama M., 1996 Occurrence of tetrodotoxin and paralytic shellfish toxins in *Phallusia nigra* (Tunicata, ascidiacea) from the Brazilian coast. *J. Venom. Anim. Toxins* **2**(1) : 1-7.
- Hwang P., Noguchi T., Hwang D., 2007. Paralytic shellfish poison as attractant for toxic snails. *Fisheries Science* **73**(1): 202-207.
- Huang H.N., Lin J., Lin H.L., 2008. Identification and quantification of tetrodotoxin in the marine gastropod *Nassarius* by LC-MS. *Toxicon*, in press.
- Ito K., Asakawa M., Beppu R., Takayama H., Miyazawa K. 2004. PSP-toxicification of the carnivorous gastropod *Rapana venosa* inhabiting the estuary of Nikoh River, Hiroshima bay, Hiroshima Prefecture, Japan. *Marine Pollution Bulletin* **48**: 116-1121.
- Jorgensen K., Cold U., Fisher K., 2008. Accumulation and depuration of okadaic acid esters in the European green crab (*Carcinus maenas*) during a feeding study. *Toxicon*, in press.
- Leblanc J. Ch., coordinateur. Août 2006. CALIPSO – Etude des consommations alimentaires de produits de la mer et imprégnation aux éléments traces, polluants et oméga 3.
- Lin S., Tsai Y., Lin H., Hwang P., 1998. Paralytic toxins in Taiwanese starfish *Astropecten scoparius*. *Toxicon* **36**(5): 799-803.
- Llewellyn L., Negri A., Robertson A., 2006. Paralytic shellfish toxins in tropical oceans. *Toxin Reviews* **25**:159-196.
- Moore R.E. and Scheuer P.J., 1971. Palytoxin: a new marine toxin from a coelenterate. *Science* **172**: 495-498.
- Molgo J., Benoit E., Legrand A.M., Kreger A.S., 1999. Bioactive agent involved in fish poisoning : an overview. In : Proc. 5th Indo-Pacific Fish Conf., Nouméa, New Caledonia, Soc. Fr. Ichtyol., Paris, 721-728.
- Narita H, Noguchi T., Maruyama J., Ueda Y., HAashimoto K., Watanabe Y., Hida K. 1981. Occurrence of tetrodotoxin on a trumpet shellfish "boshubora" *Charonia saulñae*. *Nippon Suisan Gakkaishi* **47**: 934-941.
- Onuma Y., Satake M., Ukena T., Roux J., Chanteau S., Rasolofonirina N., Ratsimaloto M., Naoki H., Yasumoto T., 1999. Identification of putative palytoxin as the cause of clupeotoxism. *Toxicon* **37**(1):55-65.
- Pesando D., Huitorel P., Dolcini V., Anagelini C., Guidetti P., Falugi C., 2003. Biological targets of neurotoxic pesticides analysed by alteration of developmental events in the Mediterranean sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Marine environmental Research* **55**, 39-57.
- Pedrotti M.L. and Lemee R., 1999. Effect of microalgae treated with natural toxins on the nutrition and development of filter-feeding sea-urchin larvae. *Marine environmental Research* **48**: 177-192.
- Pitcher G.C., Franco J.M., Doucette G.J., Powell C.L., Mouton A., 2001. Paralytic shellfish poisoning in the abalone *Haliotis midae* on the west coast of South Africa. *Journal of shellfish research* **20**(2): 895-904.
- Ritchie K.B., Nagelkerken I., James S., Smith G.W., 2000. Environmental microbiology: a tetrodotoxin-producing marine pathogen. *Nature* **404**(6676): 354.
- Robertson A., Stirling D., Robillot C., Llewellyn L., Negri A., 2004. First report of saxitoxin in octopi. *Toxicon* **44**: 765-771.
- Sekiguchi K., Sato S., Kaga S., Ogata T., Kodama M., 2001. Accumulation of paralytic shellfish poisoning toxins in bivalves and an ascidian fed on *Alexandrium tamarense* cells. *Fisheries science* **67**: 301-305.
- Shumway S.E. 1995. Phycotoxin-Related Shellfish Poisoning: Bivalve molluscs are not the only vectors. *Reviews in Fisheries Science* **3**:1-31.
- Togersen T., Bremnes N.B., Rundberget T., Aune T., 2008. Structural confirmation and occurrence of azaspiracids in Scandinavian brown crabs (*Cancer pagurus*). *Toxicon* **51**: 93-101.
- White S.H., Duivenvoorden L.J., Fabbro L.D., Eaglesham G.K., 2006. Influence of intracellular toxin concentrations on cylindrospermopsin bioaccumulation in a freshwater gastropod (*Melanooides tuberculata*). *Toxicon* **47**(5):497-509.
- Wiles J.S., Vick J.A., Christensen M.K., 1974. Toxicological evaluation of palytoxin in several animal species. *Toxicon* **12**: 427-433.

- Wu J.Y., Zhen L., Wang J.H., 2005. Contamination of shellfish from Shanghai seafood markets with paralytic shellfish poisoning and diarrhetic shellfish poisoning toxins determined by mouse bioassay and HPLC. *Food Additives and Contaminants* **22**(7): 647-651.
- Xie L., Yokoyama A., Nakamura K., Park H., 2007. Accumulation of microcystins in various organs of the freshwater snail *Sinotaila histrica* and three fishes in a temperate lake, the eutrophic Lake Suwa, Japan. *Toxicon* **49**: 646-652.
- Yasumoto T. and Kotaki Y., 1977. Occurrence of Saxitoxin in a Green Turban Shell. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* **43**(2): 207-211.
- Yotsu-Yamashita M., Mebs D., Kwet A., Schneider M., 2007. Tetrodotoxin and its analogue 6-*epi*tetrodotoxin in newts (*Triturus* spp; Urodela, Salamandridae) from Southern Germany. *Toxicon* **50**: 306-309.
- Yu C-F., Yu P.H-F., Chan P-L., Yan Q., Wong P-K., 2004. Two novel species of tetrodotoxin-producing bacteria isolated from toxic marine puffer fishes. *Toxicon* **44**: 641-647.

8. Mots clés

Phycotoxines, biotoxines marines, gastéropodes, échinodermes, tuniciers.

La Directrice générale de l'Agence française
de sécurité sanitaire des aliments

Pascale Briand

Annexe 1
Limites de salubrité fixées par le règlement (CE) n°853/2004,
Annexe III, section VII, chapitre V

Famille de phycotoxines soumise à contrôle	Limites
Phycotoxines paralysantes (ou PSP : Paralytic Shellfish Poison)	800 µg équivalent saxitoxine/kg de chair
Phycotoxines amnésiantes (ou ASP : Amnesic Shellfish Poison)	20 mg d'acide domoïque/kg de chair
Acide okadaïque + Dinophysistoxines + Pecténotoxines	160 µg d'équivalent acide okadaïque/kg de chair
Yessotoxines	1 mg d'équivalent yessotoxine/kg de chair
Azaspiracides	160 µg d'équivalent azaspiracides/kg

Annexe 2 :
Concentrations maximales en toxines paralysantes publiées chez, les échinodermes, les gastéropodes et les tuniciés

Nom Espèce /genre	Lieu	Source	Niveau de contamination	Références
Echinodermes				
<i>Asterina pectinifera</i>	Taiwan	?	225 µg eqSTX/100g	Lin <i>et al.</i> , 1998
	Japon	<i>A. tamarensis</i> ?	12,5 US/g de chair totale (11 ds le tégument et 3,9 ds viscères)	Ito <i>et al.</i> , 2003
<i>Astropecten scoparius</i>	Taiwan	?	640 µg STX/100g	Lin <i>et al.</i> , 1998
<i>Asterias amurensis</i>	Japon	?	8 US.g de chair totale (28,7 US/g ds viscères)	Asakawa <i>et al.</i> , 1997
Gastéropodes				
<i>Babylonia areolata carnivore</i>	Taiwan	?	246 µg STX/100g chair comestible (Conta .expérimentale)	Chen et Chou , 1998
<i>Oliva vidua fulminans</i>	Malaisie	<i>Pyrodinium bahamense</i>	454 µg eqSTX/100g	Shumway, 1995
<i>Rapana venosa</i>	Japon	<i>A. tamarensis</i>	Max 4,2 US/g viscères – 224 US /specimen suivi annuel)	Ito <i>at al.</i> , 2004
<i>Neverita didyma</i>	Chine (Shangai)	?	0.2 µg eqSTX/100g	Wu <i>et al.</i> , 2005
<i>Concholepas concholepas</i>	Chili	?	Moy : 568 = 143 µg eqSTX/100g ds muscle du pied	Compagnon <i>et al.</i> , 1998
<i>Argobuccinum ranelliformi</i>	Chili		Max : 31 µg eqSTX/100g ds le muscle du pied	Compagnon <i>et al.</i> , 1998
<i>Argobuccinum sp</i>	Chili	<i>A. catenella</i>	5629 µg eqSTX/100g viscères – 92 µg eqSTX/10g muscle	Shumway, 1995
<i>Neptunea sp</i>	USA (Alaska)	<i>A. catenella</i>	200-250 µg eqSTX/100g	Shumway, 1995
<i>Thais/Nucella lima</i>	USA (Washington)	<i>A. catenella</i>	180 µg eqSTX/100g	Shumway, 1995
<i>Buccinum undatum</i>	USA (Maine)	<i>A. tamarensis</i>	3337 µg eqSTX/100g	Shumway, 1995
<i>Euspira heros</i>	USA (Maine)	?	2922 µg eqSTX/100g	Shumway, 1995
<i>Euspira/polinices lewisii</i>	Canada Colombie britan	<i>A. carenella</i>	176-600 µg eqSTX/100g	Shumway, 1995
	USA (Massachusetts)	<i>A tamarensis</i> ?	1450 µg eqSTX/100g	Shumway, 1995
<i>Lambis lambis</i>	Malaisie	<i>Pyrodinium bahamense</i>	31 µg eqSTX/100g	Shumway, 1995
<i>Crepidula fornicata</i>	?	?	46-58 µg eqSTX/100g	Shumway, 1995
<i>Littorina littorea</i>	USA (Massachusetts)	<i>A. tamarensis</i>	72 µg eqSTX/100g	Shumway, 1995
<i>Tectus nilotica maxima</i>	Japon	Macro-algue	342 µg eqSTX/100g	Shumway, 1995
<i>Tectus pyramis</i>	Japon	<i>Jania sp</i>	90 µg eqSTX/100g	Shumway, 1995
<i>Turbo marmotata</i>	Japon	Macro-algue	75 µg eqSTX/100g	Shumway, 1995
<i>Turbo argyrostoma</i>	Japon	<i>Jania sp</i>	360 µg eqSTX/100g	Shumway, 1995
<i>Haliotis tuberculata</i>	Espagne	?	Max 443 µg STXeq/100 chair	Bravo <i>et al.</i> , 1996
<i>Haliotis midae</i>	Afrique du sud	<i>A. catenella</i>	Max 1609 µg eqSTX/100g	Pitcher <i>et al.</i> , 2001

			Var ind. (55-60mm): 57-307 µg eqSTX/100g Var ind. (115-170mm): 29-314 µg eqSTX/100g	
<i>Haliotis tuberculata</i>	Espagne	?	252 ± 25 µg eqSTX/100g chair par le test souris 454 ± 86 µg eqSTX/100g de chair par CLHP Epithélium : 10 500 ± 1500 µg eqSTX/100g (9500 dcSTX et 1000 STX) Tube digestif : 28 ± 5 µg eqSTX/100g (12 dcSTX et 16 STX) Muscle : 27 ± 6 µg eqSTX/100g (2 cdSTX et 25 STX)	Bravo <i>et al.</i> , 1999
Tuniciers				
<i>Phallusia nigra</i>	Brésil	?	269 US/100g (STX et/ou TTX)	Freitas <i>et al.</i> , 1996
<i>Halocynthia roretzi</i>	Japon	<i>A. tamarense</i>	Environ 700nmol PST/specimen (contamination expérimentale)	Sekiguchi <i>et al.</i> , 2001