



BE Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Octobre 2011 trimestriel/numéro 45

Page 2

Bilan et évolution du dispositif de surveillance et de lutte contre la peste porcine classique du sanglier en France (2004-2010)

Page 9 - Brèves

- Vigilance accrue des éleveurs et des vétérinaires vis-à-vis de la peste porcine africaine
- Séminaire des LNR pour le diagnostic de la maladie d'Aujeszky
- Une enquête épidémiologique médicale et vétérinaire conjointe sur un cas de rage importé
- Zoonoses : connaissances des étudiants en médecine humaine et vétérinaire

Page 14

La surveillance sanitaire des coquillages vivants mis sur le marché en France

Page 19

La surveillance des phycotoxines dans les coquillages du milieu marin. Le réseau REPHY : objectifs, stratégies, et principaux résultats

Page 24

Bilan de la première année de surveillance par analyse chimique des phycotoxines lipophiles réglementées dans les coquillages mis sur le marché

Page 27

Surveillance des contaminations en polychlorobiphényles (PCB) des poissons de d'eau douce : méthodologie, résultats et perspectives

Page 31

Bilan des résultats des plans de contrôle des résidus chimiques dans les denrées alimentaires d'origine animale en 2009

Le *Bulletin épidémiologique* est une publication conjointe de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail et de la Direction générale de l'alimentation du ministère de l'agriculture, de l'alimentation, de la pêche, de la ruralité et de l'aménagement du territoire.

ÉDITORIAL

Dans ce numéro 45, nous continuons la série d'articles sur les porcs et sangliers. Le premier, qui présente le bilan de la lutte contre la peste porcine classique chez le sanglier sauvage dans l'Est de la France depuis 2004, rappelle les difficultés de gestion d'un foyer dans la faune sauvage. Si l'approche vaccinale de la faune sauvage peut se révéler efficace (on se rappelle du succès de la lutte vaccinale contre la rage du renard), elle n'en est pas moins délicate en termes d'atteinte d'un niveau de protection suffisant et de suivi de l'efficacité du programme au vu des tests diagnostiques disponibles. Deux brèves consacrées à la peste porcine africaine et à la maladie d'Aujeszky complètent cette thématique ; à noter que ces deux brèves étaient accessibles en avant-première depuis plusieurs semaines sur le site internet du *BE*.

La surveillance sanitaire des coquillages est largement abordée avec trois articles : un article sur le dispositif global de surveillance sanitaire microbiologique, toxinique et des contaminants, suivi d'un article détaillé consacré au réseau de surveillance des phycotoxines et d'un article sur la nouvelle méthode d'analyse officielle remplaçant le bio-essai sur souris pour la recherche de phycotoxines.

Pour mémoire, vous avez la possibilité de vous abonner en ligne à la version électronique du bulletin sur la page web du *BE*. Cette page web contient par ailleurs l'ensemble des articles parus depuis le numéro 1 du *Bulletin épidémiologique* en 2001 ! Un moteur de recherche par mot-clé vous permet de retrouver très rapidement chaque article et de le télécharger séparément. Ce site constitue ainsi un fonds documentaire de référence, libre d'accès, sur la surveillance épidémiologique en santé animale et sécurité sanitaire des aliments dans notre pays.

Le comité de rédaction

Bilan et évolution du dispositif de surveillance et de lutte contre la peste porcine classique du sanglier en France (2004-2010)

Sophie Rossi (1) (sophie.rossi@oncfs.gouv.fr), Anne Bronner (2), Françoise Pol (3), Régine Martin-Schaller (4), Béatrice Kadour (5), Clara Marcé (2), Marie-Frédérique Le Potier (3)

(1) Office national de la chasse et de la faune sauvage, Unité sanitaire de la faune sauvage, Paris

(2) Direction générale de l'alimentation, Bureau de la santé animale, Paris

(3) Anses, Laboratoire de Ploufragan - Plouzané, Laboratoire national de référence pour les pestes porcines, Ploufragan

(4) Direction départementale de la cohésion sociale et de la protection des populations du Bas-Rhin, Strasbourg

(5) Direction départementale de la cohésion sociale et de la protection des populations de la Moselle, Metz

Résumé

La peste porcine classique (PPC) est une maladie virale réglementée majeure pour l'élevage porcin en Europe car elle est associée à d'importantes pertes économiques. À ce titre, les populations de sangliers sauvages infectées par la PPC (dits « foyers sauvages ») constituent une menace pour la santé des élevages. Depuis les années 1990, la France est confrontée à des foyers sauvages persistants de PPC qui évoluent à très faible prévalence dans deux zones forestières distinctes comprenant les départements du Bas-Rhin et de la Moselle. La vaccination orale (VO) des sangliers a été mise en œuvre depuis 2004 dans le but de contrôler cette maladie. Cette mesure a conduit à une meilleure couverture immunitaire de la population et à une baisse de la prévalence de l'infection, mais elle a aussi considérablement compliqué la surveillance des foyers sauvages, car elle induit des réactions croisées entre le virus sauvage et le vaccin. Les LNR français et allemand ont donc collaboré pour mettre au point de nouveaux outils diagnostiques permettant de distinguer les animaux infectés des animaux vaccinés, et la procédure de surveillance a évolué après 2007. Par ailleurs, des études menées par l'ONCFS sur l'efficacité de la VO ont permis de mettre en évidence certaines lacunes dans le dispositif de lutte. Le protocole vaccinal a de ce fait été adapté à la réalité biologique rencontrée chez les sangliers sauvages des Vosges du Nord. Cet article expose les difficultés rencontrées dans la surveillance et la gestion de ce foyer ainsi que les adaptations apportées depuis 2007 au dispositif de surveillance et de lutte.

Mots clés

Maladies du sanglier, foyer sauvage, contrôle, vaccination, surveillance, diagnostic différentiel

Abstract

Review and changes to the plan for the surveillance and control of classical swine fever in wild boar in France (2004-2010)

Classical Swine Fever (CSF) is a major regulated viral disease of swine in Europe because it has been linked to significant economic losses. As such, populations of wild boar infected with CSF (so-called "wild outbreaks") are a threat to the health of domestic pigs. There has been a very low prevalence of persistent wild CSF outbreaks in France since the 1990s, in two distinct forest zones including the Bas-Rhin and Moselle départements. Oral Vaccination (OV) of boar has been used since 2004 with the goal of controlling this disease. This measure has improved immunisation coverage in the population and decreased the prevalence of infection, but it has also considerably complicated the surveillance of wild outbreaks, as it has resulted in cross reactions between the wild virus and the vaccine. The French and German NRLs have therefore collaborated to develop new diagnostic tools to distinguish infected animals from vaccinated animals, and the surveillance procedure has been modified since 2007. Moreover, studies undertaken by the National Office for Hunting and Wildlife (ONCFS) on the efficacy of OV have highlighted shortcomings in the control plan. The vaccination protocol has thus been adapted to the biological reality of wild boar in the Northern Vosges. This article presents the difficulties that have been encountered in the surveillance and management of this disease and the changes that have been made to the surveillance and control plan since 2007.

Keywords

Wild boar diseases, wild outbreak, control, vaccination, surveillance, differential diagnosis

Introduction

La peste porcine classique (PPC) est une maladie réputée contagieuse d'origine virale qui menace la santé et l'économie des élevages de porcs dans de nombreux pays d'Europe [1]. La PPC est causée par un virus à ARN de la famille des *Flaviviridae*, genre *Pestivirus* qui affecte uniquement les suidés, c'est-à-dire en France les porcs domestiques et sangliers. L'infection peut engendrer une large gamme de signes cliniques allant d'une expression fruste de la maladie avec une faible morbidité à un syndrome hémorragique associé à un fort taux de mortalité [2]. En raison de signes cliniques souvent frustes et de l'absence de signes pathognomoniques, l'infection peut passer inaperçue, que ce soit chez des sangliers sauvages ou des porcs domestiques, et être détectée avec plusieurs semaines de retard, rendant difficile la surveillance et le contrôle de cette maladie. Les symptômes varient selon l'âge et la race de l'hôte mais aussi selon la virulence de la souche impliquée. Même s'il n'existe qu'un type antigénique, les séquences moléculaires du génome du virus de la PPC permettent de distinguer trois génogroupes principaux, eux-mêmes subdivisés en trois à quatre sous-groupes. La plupart des souches isolées en Europe depuis la fin des années 1990 appartiennent au génogroupe 2.3, rassemblant des

souches moyennement virulentes. En Europe, la PPC est observée sous forme enzootique chez les sangliers et/ou les porcs de nombreux pays incluant la France, l'Allemagne, la République tchèque, la Bulgarie, la Roumanie, la Slovénie et la Croatie [1]. Des cas sporadiques ont également été rapportés en Serbie en 2010 et en Lituanie en 2011 (OIE).

En France, cette maladie a ré-émergé en 2003 [3,4] et concerne les sangliers sauvages de certains massifs forestiers du Bas-Rhin et de la Moselle [3,5]. Les unités de populations de sangliers sauvages infectées par la PPC sont désignées ci-après par le terme de « foyers sauvages » (Figure 1). Deux souches différentes du génogroupe 2.3 sont impliquées : l'une apparentée à la souche Rostock (foyer de Thionville-Luxembourg-Eifel) qui n'a été isolée que quelques mois en France en 2002 après s'être propagée le long des continuums forestiers depuis l'Allemagne et le Luxembourg et l'autre, apparentée à la souche Uelzen, qui circule dans le massif franco-allemand Vosges du Nord-Palatinat depuis le début des années 1990 (correspondant au « foyer des Vosges du Nord » mentionné par la suite). La persistance du virus dans le grand massif des Vosges-Palatinat a amené les autorités allemandes (2003-2010) puis françaises (2004-2010) à mettre en œuvre une vaccination

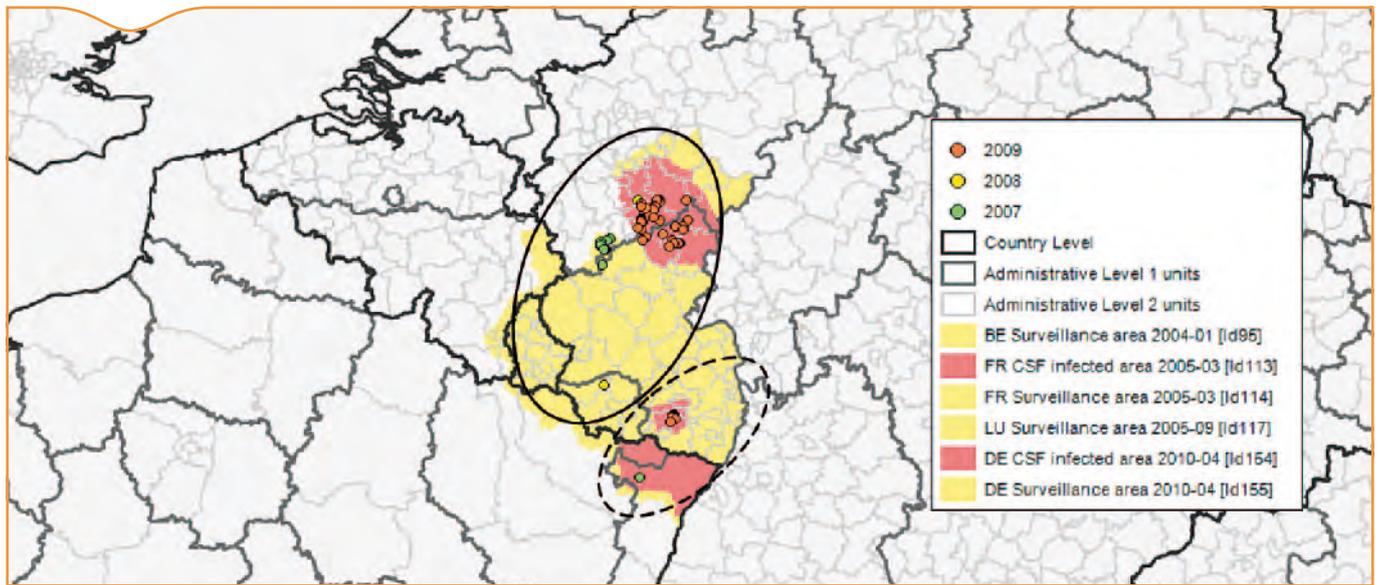


Figure 1. Localisation des zones infectées (en rouge) et de surveillance (en jaune) et des cas confirmés de PPC en France et en Allemagne entre 2007 et 2009. Les ellipses distinguent les foyers historiques des Vosges-Palatinat (ligne en pointillés) et de Rhénanie du Nord Westphalie (ligne continue). Carte établie d'après la base européenne du Friedrich Loeffler Institute du Wusterhausen (mise à jour du 10 juin 2011)

orale (VO) des sangliers avec l'appui des chasseurs [5]. La France a également adopté des restrictions cynégétiques visant à limiter les mouvements de sangliers potentiellement infectés en dehors de la zone infectée (ZI)⁽¹⁾ [5]. Adapter le dispositif de surveillance et de lutte à la situation épidémiologique s'est avéré difficile; l'usage de la VO a en effet considérablement compliqué la surveillance de ce foyer sauvage dans la mesure où le virus vaccinal (souche vivante atténuée) et les virus sauvages engendrent la même réponse immunitaire [1,6]. De ce fait, les données sérologiques, habituellement très pertinentes pour suivre l'évolution de foyers sauvages, n'étaient plus un indicateur fiable de la circulation virale. Dans ce contexte, alors que seul l'outil de diagnostic direct permet de distinguer les animaux infectés des animaux vaccinés, la surveillance basée sur la PCR doit être à même de détecter des niveaux de prévalence très faibles compte tenu du contexte vaccinal, inférieurs à 1 pour 1 000 [7,8].

Cet article fait le bilan des dispositifs de surveillance et de lutte mis en place entre 2004 et 2010 dans le foyer sauvage de PPC des Vosges du Nord - Palatinat. Les difficultés d'interprétation des données de surveillance dans un contexte de vaccination et de faible circulation virale sont plus particulièrement abordées, de même que la nécessité d'évolution des mesures de lutte engagées.

Description des dispositifs de surveillance et de lutte (2004-2007)⁽²⁾

Zonage

Trois zones ont été définies en fonction de leur niveau de risque:

- une zone infectée (ZI) dans laquelle le virus circule depuis 2003. Elle s'étend sur 3 000 km², dont 1 250 km² de territoires boisés habités par les sangliers, et a été mise en place conformément à la directive 2001/89/CE. Un plan de lutte y est instauré depuis août 2004, associant une vaccination orale des sangliers et des mesures cynégétiques [4,5]. Par ailleurs, des restrictions sont imposées sur les mouvements de porcs domestiques et de venaisons;
- une zone d'observation (ZO), dont l'objectif est d'assurer une surveillance en bordure de la zone infectée;

- une zone de surveillance (ZS) frontalière du Luxembourg et de la Sarre, dont l'objectif est de maintenir une surveillance dans l'ancien foyer de Thionville (2002) [3,5].

Mesures de surveillance

Les deux modalités de surveillance

L'ensemble des ZI, ZO, ZS constitue le périmètre de surveillance, dans lequel tout sanglier chassé ou trouvé mort fait l'objet d'un dépistage sérologique et virologique de la PPC. Cette surveillance est principalement active, c'est-à-dire basée sur les animaux tirés à la chasse, représentant un échantillon annuel de plus de 10 000 sangliers [3,4]. Parallèlement, la surveillance par analyse virologique des sangliers trouvés morts ou malades (reposant sur le réseau SAGIR) est en outre aussi essentielle pour dépister une potentielle réémergence de la PPC sous un mode épizootique [1,9].

Méthodes diagnostiques

Le diagnostic sérologique s'appuie sur deux méthodes: la méthode ELISA utilisée en première intention et la séroneutralisation virale différentielle pour confirmer la présence du virus de la PPC par opposition à d'autres Pestivirus (uniquement en ZO et ZS).

Afin de pouvoir dépister les animaux infectés avec une plus grande sensibilité et une plus grande rapidité que l'isolement viral, le LNR a développé, dès 2002, une stratégie de détection du génome viral par RT-PCR à partir des échantillons de rate des sangliers chassés ou trouvés morts. En 2004, deux kits commerciaux ont été validés par le LNR. Ils permettent la détection du virus quelle que soit la souche impliquée [10]. L'utilisation de ces kits a permis de délocaliser le diagnostic de première intention dans deux laboratoires départementaux proches du périmètre de surveillance, rendant possible la réalisation d'une analyse libératoire des carcasses et donc leur commercialisation en dehors de la ZI. Tout échantillon de rate ayant donné un résultat RT-PCR positif était ensuite transmis au LNR pour confirmation de la présence de virus par isolement sur culture cellulaire.

Mesures de lutte

Gestion des carcasses de sanglier

En principe, les carcasses des animaux tués à la chasse sont détruites indépendamment du résultat des analyses PPC avec indemnisation de

(1) Passage à gibier condamné et interdiction de chasse en battue avec chiens dans les abords de l'autoroute A4 et du canal des Houillères et de la Sarre délimitant la ZI.

(2) Les dispositifs de surveillance et de lutte mis en place en 2004-2005 ont été détaillés dans un précédent numéro du *Bulletin épidémiologique* par Louguet et al. (2005) [5].

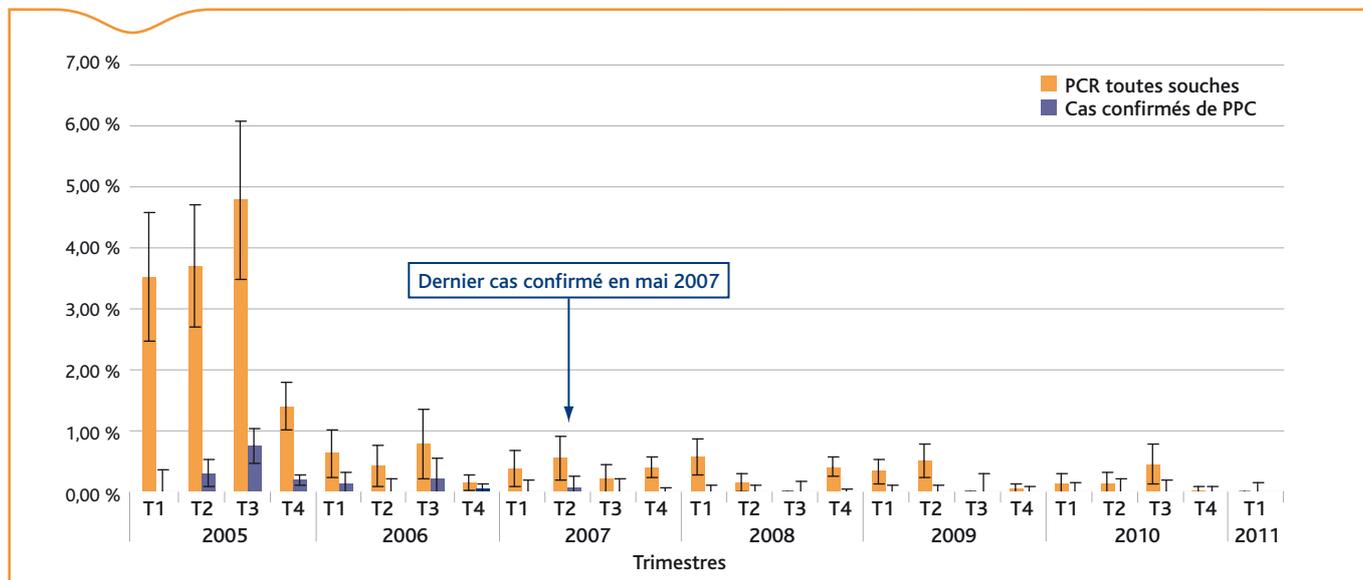


Figure 2. Évolution dans la zone infectée (ZI) de la proportion d'animaux positifs en RT-PCR PPC « toutes souches » (kits commerciaux utilisés en Laboratoire vétérinaire départemental) et de cas confirmés d'infection par le virus sauvage de la PPC (à l'aide d'isolement viraux)

l'État (filière dite « de destruction »⁽³⁾). Par dérogation à la destruction et compte tenu de la forte sensibilité de la PCR, une carcasse négative en PCR PPC⁽⁴⁾ peut être consommée par le chasseur ou mise sur le marché pour la consommation sur le territoire national. La collecte de l'ensemble des prélèvements et la diffusion de leurs résultats sont gérées par les directions départementales en charge de la protection des populations.

Vaccination orale

La VO s'est progressivement mise en place au vu de la situation épidémiologique. Pratiquée sur la moitié de la ZI en août-septembre 2004, elle a été étendue à toute la ZI à partir de février-mars 2005 [4,5]. La VO consiste à déposer sur des places de vaccination (généralement agrainées au maïs) des appâts contenant une capsule vaccinale (souche C Riems en phase liquide). Les chasseurs de la ZI ont été chargés de mettre en œuvre cette VO depuis août 2004. Le protocole décrit par Kaden *et al.* [11] comprenait trois doubles distributions d'appâts espacées d'un mois: au printemps, en été et à l'automne. Plus de 600 000 appâts-vaccins ont ainsi été distribués à la main chaque année dans les parties forestières de la ZI, à raison de 40 appâts pour 1,7 places de vaccination par km² de forêt en moyenne lors de chaque distribution. Une suspension de la chasse deux jours avant et cinq jours après la distribution d'appâts a été instaurée afin de limiter le dérangement des animaux mais aussi le nombre de PCR positives liées à la prise de vaccin⁽⁵⁾.

Mesures cynégétiques

Alors que la gestion de la PPC en élevage s'appuie sur l'abattage préventif des porcs, l'intensification de la chasse n'est pas une mesure suffisante pour lutter contre cette maladie chez le sanglier sauvage [1]. À l'inverse, des restrictions cynégétiques ont parfois été préconisées pour éviter la dispersion des animaux et prévenir ainsi le risque d'extension de certains foyers [1]. Dans les Vosges du Nord, l'interdiction d'utiliser les chiens dans les battues a été instaurée en bordure de la ZI en novembre 2003, afin de prévenir l'extension du foyer au-delà des barrières physiques que constituent les canaux et l'autoroute A4.

Évolution et résultats du dispositif de surveillance (2007-2010)

Évolutions des outils de diagnostic direct

Difficultés d'interprétation des résultats PCR

Des difficultés d'interprétation des résultats PCR sont apparues dans le courant de la saison 2006-2007, alors que la proportion de résultats PCR positifs avait fortement diminué (< 3%) (Figure 2). Le profil des animaux PCR positifs a radicalement évolué une fois passée la phase épidémiologique du foyer: 1) la quantité de génome viral est devenue très faible, proche de la limite de détection et l'isolement viral réalisé au LNR s'est révélé systématiquement négatif, 2) les individus PCR positifs étaient le plus souvent séronégatifs et de tous âges [8]. Ce profil ne correspondait pas aux observations faites chez les animaux lors d'infections expérimentales en laboratoire [1] (Le Potier, communication personnelle). Tout au plus pouvait-il correspondre à des animaux infectés ou vaccinés depuis quelques jours et n'ayant pas encore séroconverti⁽⁶⁾. Ainsi, à partir de 2007, dans un contexte vaccinal et de faible prévalence virologique, la valeur prédictive positive de la PCR « toutes souches » a diminué, et la méthodologie utilisée jusque-là ne permettait plus d'avoir une connaissance précise de la circulation du virus sauvage.

Différentiation génétique entre individus vaccinés et infectés

Dans ce contexte est apparu le besoin de disposer d'un outil de diagnostic permettant de distinguer la présence d'ARN d'origine vaccinale ou sauvage. Le LNR allemand a développé et validé en 2008, en lien avec le LNR français de Ploufragan, une RT-PCR temps réel spécifique de la souche vaccinale (souche C Riems) [12]. La reprise au LNR des échantillons RT-PCR positifs en première intention (et présentant un isolement viral négatif) en 2007 et 2008 par cette RT-PCR « souche C Riems » a révélé la présence de génome viral vaccinal sur l'ensemble de ces échantillons. Dès l'automne 2008, un nouveau protocole de confirmation a donc été mis en place afin de différencier les animaux vaccinés des animaux infectés (Figure 3). Mais la RT-PCR spécifique de la « souche C Riems » a révélé un défaut de sensibilité. Ainsi, pour quatre échantillons pour lesquels la RT-PCR « toutes souches » était positive

(3) Cette pratique de destruction contre indemnisation a été mise en place en 2002-2003 lorsque l'analyse PCR n'était pas encore décentralisée. Toutes les analyses étaient réalisées au LNR et de ce fait le délai de résultat ne permettait pas d'analyse libératoire. Cette pratique a été maintenue dans la ZI pour encourager les chasseurs à chasser les animaux et augmenter la taille de l'échantillon de surveillance.

(4) Le dépistage de la trichinellose (sur langue) est également obligatoire pour les carcasses destinées à la consommation qui sont mises en consigne en atelier de traitement de gibier sauvage agréé ou en centre de collecte autorisé à cet effet jusqu'à l'obtention des résultats négatifs.

(5) La présence de résultat PCR positifs est observée dans une période de quelques jours chez les porcs vaccinés expérimentalement à l'aide de la souche vaccinale chinoise (souche C).

(6) La séroconversion a lieu dans les 15 jours suivant l'infection ou la vaccination et elle est durable.

et la RT-PCR « souche C Riems » était négative, le séquençage a permis de confirmer la présence de la souche vaccinale. Ce défaut de sensibilité était principalement dû à la présence de variants mutants dans les lots de vaccins qui échappaient à la détection par cette méthode très spécifique. Une nouvelle version de la RT-PCR a donc été développée sur la base du génogroupe auquel appartient la « souche C Riems », le génogroupe 1.1. Cette nouvelle version permet de détecter une plus grande variété de souches de ce groupe dont les variants du vaccin et d'autres souches C que celle de Riems [13]. Une fois ces modifications introduites, le niveau de sensibilité s'est avéré équivalent entre les RT-PCR « toutes souches » et « génogroupe 1 », ce qui a permis de confirmer sans ambiguïté la présence du virus vaccinal pour l'ensemble des PCR « toutes souches » trouvées positives [14].

Résultats de la surveillance

Après la diffusion du virus dans la totalité de la ZI des Vosges du Nord, entre 2003 et 2005, la prévalence virologique a continuellement diminué (Figure 2) [4]. Le dernier isolement viral a été confirmé par le LNR en mai 2007 (Figure 3). Néanmoins, des cas de PPC ont été observés en Allemagne au 1^{er} trimestre 2009 dans la province de Pirmasens à quelques kilomètres au nord de la ZI française, alors que le virus n'était plus isolé dans cette partie du massif depuis 2003 [8]. Ce rebondissement a conduit au maintien du dispositif vaccinal en 2009 et 2010 en France afin de prévenir un retour d'infection depuis la partie allemande du massif (vaccinée par secteurs depuis 2006). Alors qu'elle s'était maintenue à un niveau élevé pendant les premières années du foyer, la prévalence sérologique a baissé dans la ZI entre 2009 et 2010 (Figure 4), probablement en raison d'une moindre prise des appâts vaccinaux, associée à une diminution de la circulation virale. En ZO, la séroprévalence est demeurée très faible (< 5 %) mais non nulle, sans doute liée à des traversées sporadiques de sangliers vaccinés entre ZI et ZO. Dans la ZS frontalière (ancienne ZI de Thionville) [3], des animaux séropositifs de moins d'un an ont été sporadiquement observés entre 2005 et 2010 (Tableau 1). Ces résultats ont été confirmés par le LNR comme étant associés à la PPC (test différentiel vis-à-vis d'autres Pestivirus). L'origine de la séroconversion chez ces jeunes sangliers pourrait être liée aussi bien à une persistance des anticorps maternels qu'à une très faible circulation du virus sauvage ne permettant pas la mise en évidence du virus lui-même⁽⁷⁾. Cette

difficulté d'interprétation a justifié le maintien de la surveillance depuis 2005 et démontre la difficulté d'attester de l'absence de circulation virale dans une population sauvage anciennement infectée, même en l'absence de vaccination orale et en se basant sur la sérologie des jeunes comme recommandé par Kaden *et al.* [6] et l'EFSA [1].

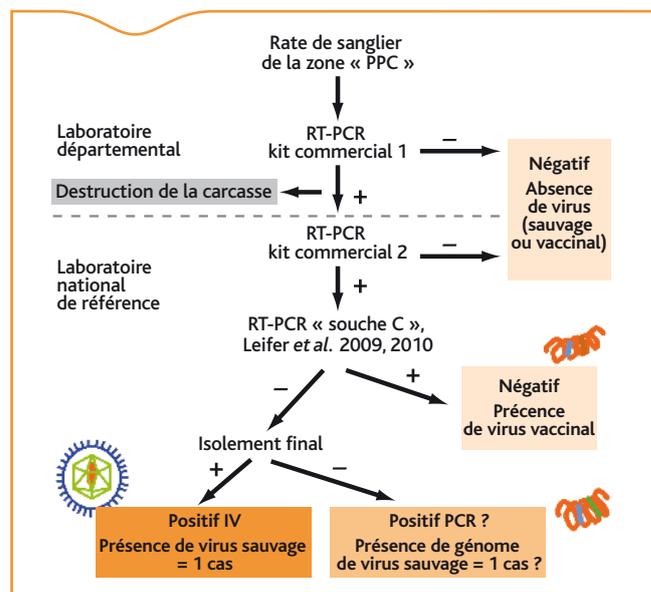


Figure 3. Schéma de décision utilisé depuis 2008 pour la détermination de cas officiels depuis la mise en place de la détection du génome de la souche C par le LNR de l'Anses. IV est l'abréviation d'isolement viral

Tableau 1. Résultats sérologiques observés chez les sangliers de 6 à 12 mois dans la zone de surveillance entre 2005 et 2010

	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Négatifs	257	391	549	707	657	655
Positifs	6	6	2	6	6	1
Proportion (%)	2,28	1,51	0,36	0,84	0,90	0,15

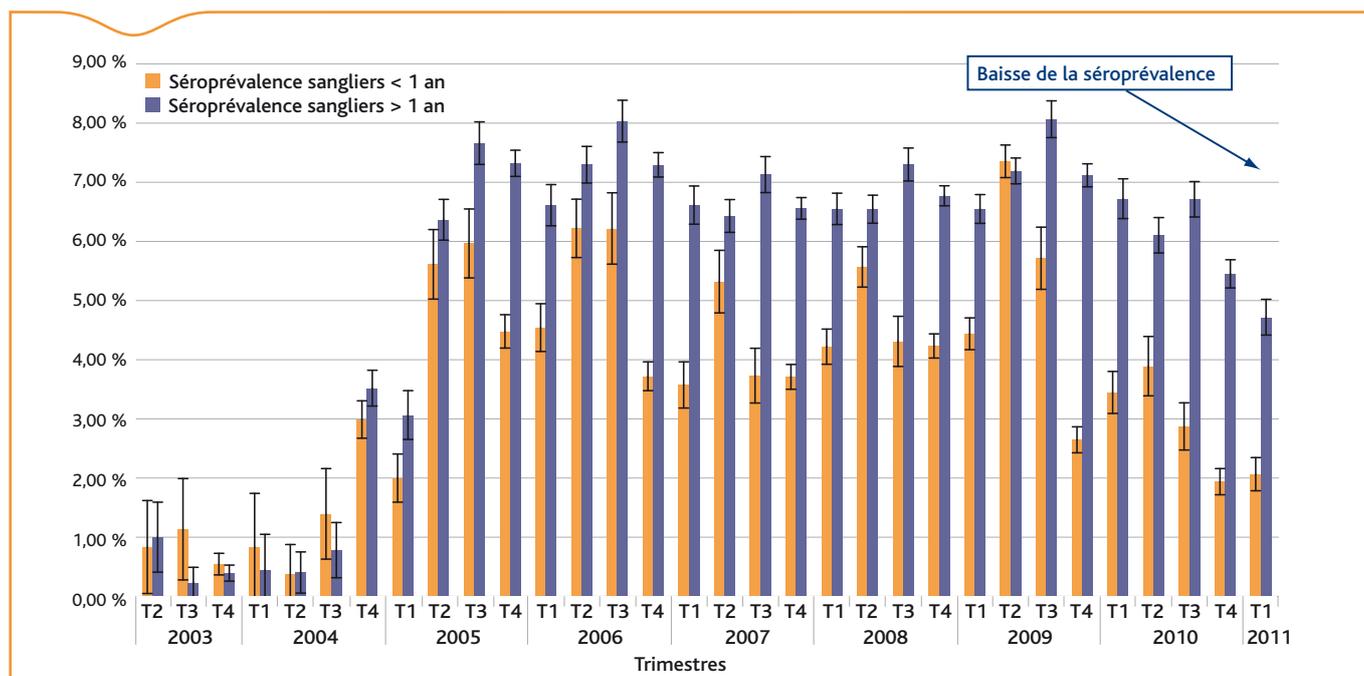


Figure 4. Évolution de la séroprévalence dans la zone infectée des Vosges du nord entre 2004 et 2010 chez les sangliers de plus et de moins d'un an

(7) Dans cette situation deux événements *a priori* peu probables peuvent être envisagés : 1/ quelques rares animaux sont peut-être infectés et en capacité de maintenir l'infection, mais on a du mal à comprendre pourquoi l'infection ne redémarre pas sur un mode épiépidémique en l'absence de protection immunitaire de la population de Thionville, 2/ bien que l'espérance de vie d'une laie en territoire chassé soit généralement inférieure à huit ans, il n'est pas impossible qu'une laie infectée en 2002 ait survécu et transmis des anticorps maternels à un marcassin chassé en 2010.

Évaluation et optimisation du dispositif de lutte (2007-2010)

Évaluation et optimisation de l'efficacité de la vaccination orale

Analyse des données de surveillance

Le suivi de la VO repose sur plusieurs outils dont en premier lieu l'analyse des données de surveillance. Une analyse menée sur les données de la période 2003-2007 (période avec isolement viral) a permis de mettre en évidence outre un effet marqué de la continuité forestière sur la persistance du virus un effet protecteur de la VO lorsqu'elle a été pratiquée de façon préventive (par opposition à une VO postérieure ou simultanée à l'observation du virus), c'est-à-dire au moins trois campagnes et environ 24 km en avant du front de la maladie (Figure 5) [4]. Ces travaux suggèrent donc que le dispositif de VO dans un continuum tel que celui des Vosges du Nord doit être étendu à toute la population à risque (continuum forestiers) et non pas seulement se limiter aux périmètres de quelques communes autour des cas observés. Cette hypothèse a depuis été confirmée et généralisée grâce à des travaux de modélisation théorique [24]. L'étude de Rossi *et al.* [4] suggère également qu'une augmentation du nombre de places de vaccination par km² de forêt ne conduit pas nécessairement à une meilleure couverture immunitaire (liée à un plafonnement de la séroprévalence) et ne modifie pas l'évolution du foyer, sans doute en raison du comportement dominant de certains groupes de sangliers sur les places de vaccination, ces derniers consommant majoritairement les appâts.

Suivi de la prise des appâts-vaccins

L'analyse des questionnaires renseignés par les chasseurs vis-à-vis de la prise des appâts-vaccins observée sur le terrain dans la semaine suivant chaque distribution a montré une moindre consommation des appâts en fin d'été et début d'automne en présence de champs de céréales non moissonnés ou de fruits forestiers [8,15]. Cette baisse de la consommation est vraisemblablement liée à la forte disponibilité alimentaire de l'habitat à cette période, qui vient concurrencer le maïs des places d'agrainage [16] et perturbe de ce fait la consommation des appâts-vaccins qui y sont déposés. D'autres études plus ciblées ont été menées sur le terrain chez des marcassins capturés et suivis par piège photographique sur des territoires de référence situés dans la ZI (réserve nationale de chasse et de faune sauvage de la Petite Pierre, camp militaire de Bitche) (Figure 6). Ces travaux ont révélé une consommation d'appâts et une séroconversion nulle à faible chez les sangliers de moins de six mois, potentiellement liée à leur faible masse corporelle et leur incapacité à mâcher les appâts [17]), mais aussi à la faible attractivité des appâts en regard d'autres items alimentaires présents dans la nature en été et début d'automne [8,18].

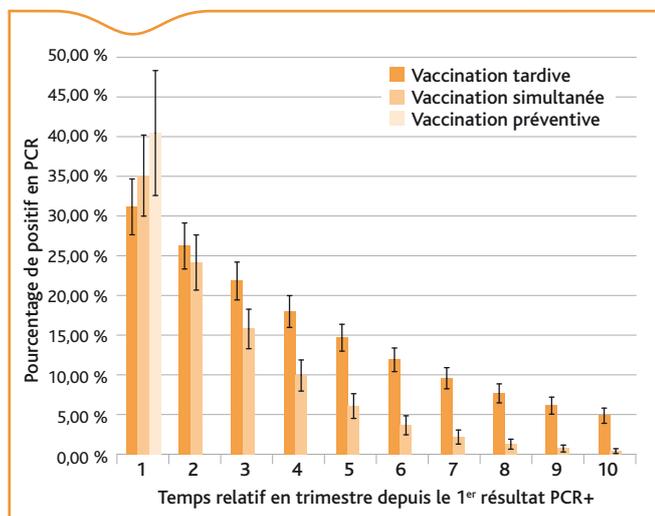


Figure 5. Intensité et durée d'infection dans le foyer des Vosges du nord (2003-2007) varient selon que la vaccination a été effectuée de façon préventive, contemporaine (simultanée) ou post-active (tardive) vis-à-vis du front de la maladie [4]

Optimisation du dispositif vaccinal

Plusieurs modifications ont été apportées au protocole de vaccination recommandé par Kaden *et al.* [11]. Sur la base des travaux menés par l'ONCFS précédemment décrits, le calendrier vaccinal a tout d'abord été modifié depuis l'automne 2007: la campagne d'automne a été reportée d'août-septembre à octobre-novembre voire décembre afin de limiter la compétition alimentaire et cibler des sangliers de plus de six mois en capacité de manger les appâts [8,17]. Bien qu'on ne puisse prouver l'efficacité de cette mesure, une augmentation de la proportion d'animaux immunisés chez les sangliers de moins d'un an entre 2007 et 2009 a été observée [8].

Par ailleurs, suite à une baisse de séroprévalence observée chez les adultes en 2007-2008 et à l'avis rendu par l'Afssa le 5 juin 2008 [19] vis-à-vis du dispositif de lutte, une augmentation de 20 % du nombre de places de vaccination a été mise en œuvre par les services vétérinaires et les chasseurs à partir de l'automne 2008. Malheureusement, il semble que cela ait peu influencé l'efficacité de la VO et l'évolution des foyers [4].

Évaluation et optimisation des mesures cynégétiques

Le comportement des animaux sauvages exposés à différentes techniques de chasse (chasse individuelle, chasse collective avec ou sans chien) a été étudié par piège photographique entre octobre 2009 et mars 2010 au niveau de huit infrastructures (passages haut ou bas) situées de part et d'autre de l'autoroute A4 entre Metz (57) et Selestat (67) [8,20]. Cette étude a permis de mettre en évidence la rareté des traversées de sangliers de part et d'autre de ce tronçon d'autoroute, et n'a pas permis de mettre en évidence un effet de la technique de chasse [20]. Compte tenu des résultats de cette étude comportementale et de la situation épidémiologique favorable (absence de cas de PPC depuis mai 2007), les restrictions cynégétiques ont été levées en décembre 2009. Une analyse est néanmoins en cours sur les données de surveillance de la ZO pour confirmer que l'apparition d'animaux séropositifs ou PCR positifs dans la ZO était indépendante des techniques de chasse (avec ou sans chien) au niveau de l'ensemble de l'autoroute A4 et du canal des Houillères de la Sarre (autre barrière délimitant la ZI).

Discussion et perspectives

Surveillance des foyers sauvages de PPC

La surveillance des foyers sauvages de PPC est difficile dans des populations de sangliers vaccinés à l'aide de la souche « C Riems » et en l'absence de marqueur de vaccination (biomarqueur ou marqueur immunitaire). En se basant sur des données expérimentales, une détection fugace du génome de la souche vaccinale après consommation d'un appât était attendue. L'interdiction de chasse



Figure 6. Études menées sur la prise d'appât par capture et piège photographique: cliché (ONCFS/juillet 2009) illustrant le peu d'intérêt des marcassins pour les appâts-vaccins



dans les jours suivant la distribution devait donc permettre d'éviter l'obtention de résultats PCR positifs induits par la vaccination. Cependant, au fil des distributions d'appâts, nous avons constaté que certaines carcasses pouvaient avoir des résultats PCR positifs plusieurs semaines après les sessions vaccinales. Une telle charge de virus vaccinal était sans doute due à une consommation répétée d'appâts par certains individus. Étant donné la présence de ces PCR positives liées à la vaccination, le développement de nouveaux outils diagnostiques par les LNR allemand et français s'est avéré salutaire pour l'évaluation des foyers sauvages en période de faible circulation virale.

Mais en dépit des performances croissantes des outils diagnostiques, la difficulté majeure de la surveillance des foyers sauvages de PPC réside dans le fait que le virus peut persister de nombreuses années à un très faible niveau de prévalence, en particulier dans les grands continuums forestiers abritant d'importants effectifs de sangliers et plus encore dans les populations vaccinées [1,21,22]. Ainsi, même en analysant tous les animaux chassés et en utilisant des outils diagnostiques très performants, il est impossible de démontrer l'éradication d'un foyer sauvage à partir des données d'une enquête ponctuelle. Seul un arrêt de la VO combiné à une surveillance menée sur le long terme chez les animaux chassés et trouvés morts est en mesure de confirmer l'évolution favorable d'un foyer sauvage vacciné.

Dans la ZI des Vosges du Nord, en l'absence de cas de PPC depuis mai 2007, la VO a été suspendue en septembre 2010. Une demande de levée de cette zone devrait être proposée à la Commission européenne dans le courant de l'année 2011 par la France, sachant que le dispositif de surveillance serait maintenu jusqu'en 2013. L'arrêt de la VO devrait s'accompagner d'une baisse de la séroprévalence chez les sangliers nés au printemps 2010 (et tirés à partir d'octobre 2010) qui n'auront pas ou peu mangé les appâts vaccinaux; en l'absence de circulation virale et de vaccination, cette baisse de séroprévalence devrait s'accroître chez les jeunes sangliers au fil du temps, la proportion d'animaux porteurs d'anticorps maternels devant logiquement diminuer du fait du renouvellement de la population. En cas de découverte de nouveaux cas de PPC (confirmés par le LNR), il est prévu que la VO soit remise en place dans l'ensemble de la ZI actuelle. L'expérience montre que la gestion doit être coordonnée entre les États membres. De ce point de vue, le développement d'une base de données rassemblant les données épidémiologiques collectées au niveau communautaire est essentiel pour suivre l'évolution de ces foyers sauvages et améliorer leur gestion à l'échelle européenne.

Gestion des foyers sauvages de PPC

La modification du dispositif de lutte et sa levée sont également complexes à mettre en œuvre pour le gestionnaire sanitaire. En particulier parce qu'il n'existe pas aujourd'hui d'outils permettant d'apprécier l'évolution d'un foyer vacciné ni de proposer un dispositif vaccinal (intensité, durée) qui permettra à coup sûr l'éradication d'un foyer sauvage. L'évolution des foyers sauvages est en premier lieu influencée par la structure du paysage (continuums forestiers et barrières) et les effectifs de sangliers. Une attention particulière doit donc être apportée à la définition de la ZI et du périmètre de vaccination. Pour être efficace, la vaccination devrait concerner l'ensemble des continuums de population ou *a minima* un large périmètre autour des cas détectés. Or le maintien de la vaccination (qui induit le statut réglementaire de ZI) est souvent difficile lorsque les massifs sont grands et se situent à cheval sur plusieurs États membres. Le dispositif vaccinal doit également être optimisé en fonction de facteurs biologiques comme la distribution des naissances des sangliers ou la variation saisonnière de l'appétence des appâts.

Perspectives

Dans le cadre d'un programme scientifique financé par la DGAL et la Commission européenne (projet CSF-GODIVA, www.csfvaccine.org), des travaux de recherche sont menés pour développer et valider un vaccin marqueur qui devrait permettre, à moyen terme, une différenciation entre les animaux vaccinés et infectés par diagnostic sérologique. D'autres travaux de ce programme visent à optimiser l'intensité, le calendrier et le coût de la vaccination. Des expérimentations impliquant des appâts placebos et des biomarqueurs sont notamment envisagées pour comparer l'effet de différents traitements vaccinaux dans les conditions naturelles [23]. L'appétence de nouveaux appâts est également testée sur le terrain par le biais d'études comportementales. Enfin, des modèles théoriques sont développés pour évaluer l'efficacité de la VO sur la persistance des foyers sauvages en fonction de différents paramètres, comme la dimension de la population à risque ou celle du périmètre vacciné.

Remerciements

Les auteurs de cet article tiennent à remercier les chasseurs des Vosges du Nord (Bas-Rhin et Moselle) ainsi que les laboratoires départementaux (Bas-Rhin et Meuse) impliqués dans la surveillance et la gestion de la PPC du sanglier. Nos remerciements s'adressent également à Mireille Le Dimna pour sa contribution essentielle à la validation des outils de diagnostic ainsi qu'à Matthieu Nouvel et ses prédécesseurs pour la gestion informatique de la base de données permettant de renseigner les données de surveillance depuis 2005.

Références bibliographiques

- [1] EFSA (2008) Scientific report. Control and eradication of Classical Swine Fever in wild boar. Annex to The EFSA Journal, 932, 1-18.
- [2] Le Potier MF, Mesplède A, Vannier P (2006) Classical swine fever and other pestivirus. In: diseases of swine 9th edition. Edited by Straw, B.E., Zimmerman, J.J., D'Allaire S. & Taylor, D.J., Blackwell Publishing. Ames Iowa, 309-322.
- [3] Pol F, Rossi S, Mesplède A, Kuntz-Simon G, Le Potier MF (2008) Two outbreaks of classical swine fever in wild boar in France. The Veterinary Record, 162: 811-816.
- [4] Rossi S, Pol F, Forot B, Masse-Provin N, Rigaux S *et al.* (2010a) Preventive vaccination contributes to control classical swine fever in wild boar (*Sus scrofa* sp.). Vet. Microbiol., 142, 99-107.
- [5] Louguet Y, Masse-Provin N, Le Potier MF, Rossi S (2005) Mesures de gestion de la peste porcine classique sur la faune sauvage: stratégie vaccinale. *Bulletin épidémiologique Afssa-DGAL*, 19: 3-5.
- [6] Kaden V, Kramer M, Kern B, *et al.* Diagnostic procedures after completion of oral immunisation against classical swine fever in wild boar (2006). *Revue scientifique et technique - Office international des Epizooties*. 25(3): 989-998. http://www.oie.int/boutique/extrait/10kaden989998_0.pdf

- [7] Afssa (2010) Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'évaluation des risques concernant un allègement des mesures de surveillance et de lutte au regard de la peste porcine classique chez les sangliers sauvages. Saisine n°2009 – SA – 0293, 24p.
- [8] Rossi S., Siat V., Forot B., Saint-Andrieux C (2010b). programme de surveillance de la transmission des maladies de la faune sauvage aux animaux domestiques et suivi de la vaccination orale du sanglier sauvage contre la peste porcine classique (2007-2009). Rapport final, ONCFS, St-Benoist, 30pp.
- [9] Decors A, Mastain O. (2010) Epidémiologie de la faune sauvage, Bilan des analyses effectuées de 2006 à 2008 dans le cadre du réseau SAGIR, réseau ONCFS/FNC/FDC, Office national de la chasse et de la faune sauvage (ed.), Paris, 48p.
- [10] Le Dimna M, Vrancken R, Koenen F, Bougeard S, Mesplede A, Hutet E *et al.* (2008) Validation of two commercial real-time RT-PCR kits for rapid and specific diagnosis of classical swine fever virus. *J Virol Methods*, 147, 136–42.
- [11] Kaden, V, Lange, E, Fischer, U, Strebelow, G. (2000). Oral immunisation of wild boar against classical swine fever: evaluation of the first field study in Germany. *Vet. Microbiol.* 73, 239–252.
- [12] Leifer I, Depner K, Blome S, Le Potier MF, Le Dimna M, Beer M, and Hoffmann B. (2009) Differentiation of C-strain "Riems" or CP7_E2alf vaccinated animals from animals infected by classical swine fever virus field strains using real-time RT-PCR. *J. Virol. Methods* 158: 114–122.
- [13] Leifer I, Everett H, Hoffmann B., Sosan O, Crooke H, Beer M and Blome S. (2010) Escape of classical swine fever C-strain vaccine virus from detection by C-strain specific real-time RT-PCR caused by a point mutation in the primer-binding site. *J. Virol. Methods* 166: 98–100.
- [14] Blome S, Gabriel C, Staubach C, Leifer I, Strebelow G and Beer M. (2011). Genetic differentiation of infected from vaccinated animals after implementation of an emergency vaccination strategy against classical swine fever in wild boar. *Vet Microbiol.* doi:10.1016/j.vetmic.2011.05.039.
- [15] Sage M., Calenge C., Bronner A., Rossi S. (2010). Oral vaccination of wild boar against Classical Swine Fever: a large scale study of baits survival in north-eastern France habitats. *Proceedings of the 8th international wild boar symposium, York, September 2010.*
- [16] Klein F, Baubert E, Toigo C, Leduc D, Saint-Andrieux C *et al.* (2004) La gestion du sanglier: des pistes et des outils pour réduire les populations. ONCFS, St-Benoist.
- [17] Brauer A, Lange E, Kaden V (2006) Oral immunisation of wild boar against classical swine fever: uptake studies of new baits and investigations on the stability of lyophilised C-strain vaccine. *European Journal of Wildlife Research*, 52, 271-276.
- [18] Rossi S, Hars J, Le Potier MF, Masse-Provin N, Bronner A (2008) Oral vaccination of wild boar against classical swine fever: efficacy of the baiting process. *Proceedings of the EWDA symposium, Rovinj, 5-9 oct 2008.*
- [19] Afssa (2008) Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur l'évaluation du programme de lutte contre la peste porcine classique actuellement mis en place dans le Nord Est de la France chez les sangliers sauvages. Saisine n°2008-SA-0004 , 28p.
- [20] Siat V., Rossi S., Saint-Andrieux C. (2010). Monitoring Wild Boar crossing over fenced motorways using camera-trapping: what effect of hunting with hounds on the risk of disease spreading? *Proceedings of the 8th international wild boar symposium, York, September 2010.*
- [21] Rossi S, Artois M, Pontier D, Cruciere C, Hars J, Barrat J, Pacholek X, Fromont E (2005) Long-term monitoring of classical swine fever in wild boar (*Sus scrofa* sp.) using serological data. *Veterinary Research*, 36: 27–42.
- [22] Kramer-Schadt S, Fernandez N, Eisinger D, Grimm V, Thulke HH (2009) Individual variation in infectiousness explains long-term disease persistence in wildlife populations. *OIKOS*, 118: 199-208.
- [23] Ballesteros, C, Gortazar, C, Canales, M, Vicente, J, Lasagna, A, Gamarra, J, Carrasco-Garcia, R, Fuente, J. (2009). Évaluation of baits for 21 oral vaccination of European wild boar piglets. *Res. Vet. Sci.* 86: 388–393
- [24] Lange *et al.* in prep.

Le Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation est désormais consultable sur Internet.

Retrouvez tous les numéros du Bulletin épidémiologique sur :

www.anses.fr

www.agriculture.gouv.fr



Brève. Vigilance accrue des éleveurs et des vétérinaires vis-à-vis de la peste porcine africaine

Short item. Increasing awareness of both pig farmers and veterinarians concerning the risk of African Swine Fever

Marie-Frédérique Le Potier (marie-frederique.lepotier@anses) (1), Françoise Pol (1), Clara Marcé (2)

(1) Anses Laboratoire de Ploufragan - Plouzané, Laboratoire national de référence pour la peste porcine africaine

(2) Direction générale de l'alimentation, Bureau de la santé animale, Paris

Mots clés : peste porcine africaine, Russie, vigilance

Keywords: African swine fever, Russia, alertness

La peste porcine africaine (PPA), en provenance de l'Afrique australe fin 2006, a pénétré en Géorgie par le port de Poti en mer Noire suite à la consommation par des porcs de déchets déchargés d'un navire. Depuis cette introduction, l'épizootie de PPA s'est répandue très vite dans les populations porcines de cette région, gagnant rapidement l'Arménie et l'Azerbaïdjan. Malgré la chaîne de hautes montagnes du Caucase, l'infection s'est propagée jusque sur le versant russe où elle a continué à progresser en touchant aussi les sangliers sauvages. Actuellement, la maladie se propage vers le nord à une vitesse moyenne de 350 km par an.

L'épidémie en Russie affecte principalement les petits élevages dits de basse-cour, en raison de l'utilisation de déchets de cuisine insuffisamment cuits ou par échange commercial. Le virus se propage essentiellement en suivant l'activité humaine plutôt que par contact avec la faune sauvage. En effet, même si la population de sangliers est touchée, elle semble l'être de manière secondaire suite à des contacts avec des porcs infectés et ne semble pas jouer un vrai rôle de réservoir. La souche impliquée est effectivement très virulente et tue les sangliers infectés comme les porcs. Des mesures de contrôle n'ayant pas été prises suffisamment tôt, l'infection a tendance à s'installer dans le Caucase. Le risque d'une endémisation est important si la souche très virulente qui circule depuis 2007 (génogroupe II) évoluait vers une forme moins virulente comme en Afrique ou en Sardaigne (dernier foyer confirmé le 16 juin 2011). Une telle évolution de la virulence du virus rendrait d'autant plus difficile son éradication, les signes cliniques étant moins prononcés et pouvant être confondus avec d'autres maladies « rouges ». Il faut rappeler ici que le seul moyen de lutte est l'abattage des animaux, aucun vaccin ou médicament antiviral n'étant disponible.

La PPA est due à un virus très résistant puisqu'il peut survivre sans problème plus de 140 jours dans du jambon séché par exemple et qu'une cuisson à température élevée à cœur est indispensable à son inactivation. Si le virus infecte des tiques molles, il peut alors survivre plus de sept années et le seul moyen de s'en débarrasser est de désinsectiser efficacement un élevage qui en serait infesté, voire de brûler certains bâtiments de moindre valeur comme cela avait été fait au Portugal pour réussir l'éradication. Pour le moment, les études menées sur place en Russie ne montrent pas d'implication d'hôte intermédiaire comme la tique molle.

En 2011, la PPA est restée contenue dans la région caucasienne à l'exception de foyers sporadiques déclarés dans des régions très éloignées comme Saint-Petersbourg ou Mourmansk. Ils sont localisés à des distances telles de la région d'origine que l'hypothèse la plus probable de contamination est la distribution de déchets de cuisine de bases militaires (Figure 1). Ces foyers ont été très vite détectés en raison du fort taux de mortalité associé à l'infection et ont pu être circonscrits, les autorités russes ayant pris conscience de la nécessité absolue de réagir vite. Cependant ces foyers étaient proches de ports de commerce très actifs comme celui de Saint-Petersbourg, port par lequel un quart des cargos qui transitent sont étrangers. Trois nouveaux foyers ont été rapportés à l'OIE par les autorités russes en avril dont un à Mourmansk (situé respectivement à environ 220 km et 120 km des frontières finlandaises et norvégiennes) sur des porcs domestiques. Tous ces cas portent sur des porcs de basse-cour. Ce secteur de l'élevage porcin de la Fédération de Russie utilise encore des déchets alimentaires. En juin, trois autres nouveaux foyers ont été découverts (points rouges sur la carte) dessinant un nouveau secteur infecté et surtout confirmant la non-maîtrise de la dissémination du virus. Tous ces élevages pourraient être en lien épidémiologique, mais aucune indication n'a été fournie dans les rapports. Les autorités vétérinaires de la Fédération de Russie ont annoncé que la propagation de la PPA dans la moitié sud du pays était hors de contrôle (FAO : http://www.fao.org/ag/againfo/programmes/en/empres/news_160211.html). La fréquence de ces « bonds » sur de longues distances augmente à mesure que le territoire où l'infection s'endémise s'étend. La PPA est désormais considérée comme établie en Géorgie, en Arménie et dans le sud de la Fédération de Russie.

Cette situation et la proximité des frontières de l'Union européenne (UE) ont conduit la Commission européenne à requérir de chacun une vigilance accrue vis-à-vis de tous les moyens de transport notamment des camions de transport de porcs, mais aussi de toute autre marchandise [1]. Ces camions doivent absolument être désinfectés avant de rentrer dans l'UE. En effet même si le commerce de porcs en provenance de Russie est interdit, des transactions sont possibles pour d'autres denrées agricoles et l'un des foyers a été détecté dans un élevage en lien avec une entreprise productrice de volailles. Cet élevage fait partie d'un consortium agricole très important produisant aussi des céréales, de l'huile ou de l'aliment du bétail, avec un risque accru d'expédition de viande infectée lors d'envoi d'autres marchandises agricoles.

De même en raison de la résistance du virus dans les viandes, l'attention des chasseurs doit être attirée sur l'interdiction de ramener en France des venaisons.

Référence bibliographique

[1] 2011/78/UE : décision de la Commission du 3 février 2011 concernant certaines mesures destinées à prévenir l'introduction, depuis la Russie, du virus de la peste porcine africaine sur le territoire de l'Union européenne.



Figure 1. Carte OIE 2011. Cercle violet = zone en voie d'endémisation: région du Caucase.

Brève. Séminaire des LNR pour le diagnostic de la maladie d'Aujeszky Short item. National Reference Laboratory conference workshop on Aujeszky's disease diagnosis

Françoise Pol (1) (francoise.pol@anses.fr), Marie-Frédérique Le Potier (1), Clara Marcé (2)

(1) Anses, Laboratoire de Ploufragan, Ploufragan

(2) Direction générale de l'alimentation, Bureau de la santé animale, Paris

Mots clés : porcs, maladie d'Aujeszky, diagnostic

Keywords: swine, Aujeszky disease, diagnostic



Les 23 et 24 juin 2011 a eu lieu à Ploufragan le premier séminaire des laboratoires de référence pour la maladie d'Aujeszky (MA). Ce séminaire, organisé à l'initiative du Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, unité de virologie et immunologie porcines qui est Laboratoire national de référence (LNR) et laboratoire OIE de référence pour cette maladie, a rassemblé une soixantaine de personnes de dix-huit États membres (EM) ou pays tiers. Les participants étaient majoritairement des membres de LNR des pays de l'UE et quelques représentants des laboratoires du réseau français de diagnostic pour la MA. Certains représentants des producteurs de kits de diagnostics, ELISA ou PCR, ainsi que l'association européenne des fabricants de réactifs vétérinaires (*European Manufacturers of Veterinary Diagnosis*) étaient également présents. Quinze orateurs ont présenté successivement des communications sur l'épidémiologie de la maladie, sur certains sujets de recherche scientifique et enfin sur le diagnostic et la validation des outils de diagnostic au sein de l'Union européenne (UE).

Sur le plan épidémiologique, il en ressort que la situation a évolué au cours des deux dernières décennies. En effet, en 1993, date de publication des premières décisions européennes spécifiquement dédiées à la MA, seuls deux EM, le Danemark et le Royaume-Uni, à l'exception de l'Irlande du Nord, étaient reconnus indemnes de la maladie chez les porcs domestiques. Depuis, onze EM et deux pays tiers situés en Europe se sont rajoutés à cette liste: Autriche, Chypre, République tchèque, Allemagne, Finlande, France continentale, Luxembourg, Pays-Bas, Slovaquie, Suède, Suisse et Norvège. Six autres EM ont un programme d'éradication approuvé par l'UE: Belgique, Espagne, Hongrie, Irlande, province de Bolzano en Italie, Pologne et Irlande du Nord. Cependant, le virus reste présent sur le terrain dans les populations de sangliers sauvages et de porcs semi-sauvages, comme en Corse par exemple.

Plusieurs EM (Allemagne, Autriche, Pologne, Slovaquie) ont exposé les plans de surveillance de la faune sauvage mis en œuvre dans leur pays. Il en ressort que les prévalences sont variables selon les pays et selon les régions dans chaque pays, en lien avec les densités de population de sangliers. En effet, plus les densités sont élevées, plus les contacts entre animaux sont fréquents et plus le virus circule. Les résultats positifs obtenus sur les isolements viraux réalisés à partir de cerveaux de chiens de chasse contaminés lors de contacts étroits avec des sangliers témoignent également de la présence du virus sur le terrain. Le séquençage des souches isolées montre l'existence de différents clades [1]. Le risque de contamination entre les populations sauvages et domestiques reste néanmoins faible, comme en témoigne l'absence de cas déclarés en Allemagne chez les porcs domestiques. En France cependant, le passage d'une population à l'autre est fortement suspecté dans le cas apparu en 2010 dans les Pyrénées-Atlantiques [2].

La vaccination orale des sangliers, possible sur le plan théorique sous réserve de mises au point, n'est pas une option retenue. Effectivement, des problèmes de sécurité se posent pour les autres espèces de mammifères non-cibles qui partagent le même habitat que les sangliers et qui succomberaient en consommant du vaccin. Par ailleurs, le rapport coût-efficacité n'est pas favorable (large étendue de territoire à vacciner). Enfin, une étude américaine a montré une absence d'augmentation de la séroprévalence en anticorps consécutivement à la vaccination. Pour la France, le LNR a exposé les résultats positifs obtenus depuis 2006 sur des analyses de sérums de sangliers appartenant à des enclos de chasse et des isolements viraux réalisés à partir de chiens de chasse contaminés (Figure 1).

La DGAL a présenté l'évolution de la réglementation (notamment en matière de surveillance et dépistage des élevages de porcs domestique) suite à la modification du contexte épidémiologique [3]. Lors de la session consacrée à la recherche et à l'appui scientifique et technique, le LNR a présenté la validation de nouveaux outils de diagnostic effectuée courant 2010. En effet, deux kits de PCR en temps réel ont été validés puis transférés aux laboratoires départementaux du réseau de diagnostic pour la MA, pour permettre un diagnostic rapide de l'infection chez les porcs, mais également chez les carnivores domestiques [4]. D'autres sujets ont concerné l'influence de l'ordre de naissance dans l'acquisition de l'immunité vis-à-vis de la MA et la détection du virus par la technologie de « Surface plasmon resonance ».

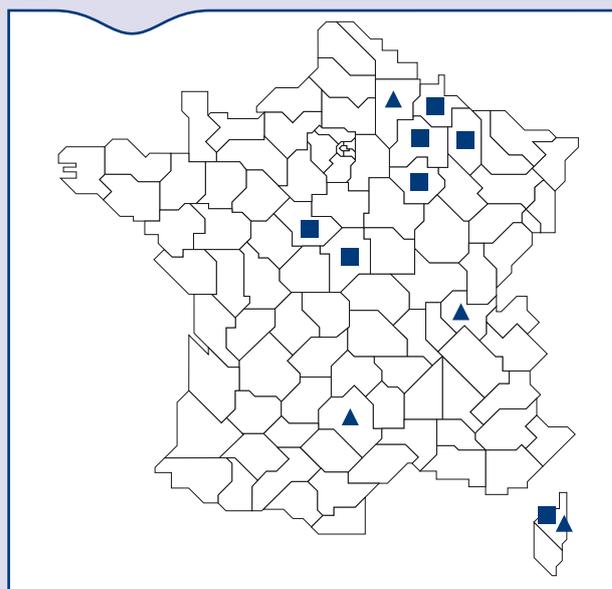


Figure 1. Localisation des sérologies positives chez les sangliers (▲)

Concernant également les outils de diagnostic et leur validation, sept EM (France, Espagne, Belgique, Pays-Bas, Autriche, Italie, Allemagne) ont exposé les méthodes de contrôle des kits de diagnostic et de libération de lots, notamment pour les kits sérologiques ELISA. En effet la décision impose un seuil de détectabilité et un panel de sérums de référence à tester pour les sensibilité et spécificité des lots, d'une part pour la validation initiale et d'autre part pour le contrôle lot par lot, mais les procédures ne sont pas finement détaillées et certains sérums de référence sont épuisés [5]. Ainsi, malgré des procédures assez similaires, le contrôle des lots est plus ou moins strict selon les EM et les panels de sérums testés différents et plus ou moins fournis. Il en ressort que les sensibilités effectives des kits sont différentes suivant les pays, comme en ont témoigné les résultats de l'essai inter-laboratoires réalisé en 2007 par le LNR français. De plus aucune reconnaissance mutuelle entre EM n'existe, obligeant les fabricants de kits à faire valider leurs produits dans chacun des pays, avec les lourdeurs administratives et les coûts que cela implique. Tous les participants, fabricants et LNR, ont reconnu la nécessité de faire évoluer les critères de sélection/validation des kits sérologiques décrits dans la législation communautaire, critères élaborés dans les années 1990 à une période où la maladie était encore largement endémique dans les élevages de porcs domestiques, et d'harmoniser les procédures de libération de lots, éventuellement avec des procédures de reconnaissance mutuelle. Il a cependant été noté que l'harmonisation ne devait pas faire oublier que les situations entre les EM n'étaient pas toutes identiques et que les kits devaient répondre à des objectifs qui pouvaient être variables d'un pays à l'autre. L'ensemble des participants a été favorable à la mise en place d'une collaboration pour entreprendre ce travail. En l'absence de laboratoire de l'Union européenne, le laboratoire de référence OIE, Anses Laboratoire de Ploufragan - Plouzané, a été choisi pour piloter cette action. Un rendez-vous pour une prochaine rencontre a d'ores et déjà été pris.

Références bibliographiques

- [1] Müller T, Klupp BG, Freuling C, Hoffmann B, Mojczic M, Capua I, Palfi V, Toma B, Lutz W, Ruiz-Fon F, Gortázar C, Hlinak A, Schaarschmidt U, Zimmer K, Conraths FJ, Hahn EC, Mettenleiter TC (2010). Characterization of pseudorabies virus of wild boar origin from Europe, *Epidemiol. Infect.*, 138(11):1590-600. Epub 2010 Mar 12.
- [2] Rose N, Bronner A, Pol F, Le Potier MF (2010). Point sur la situation épidémiologique de la maladie d'Aujeszky en Aquitaine en 2010: premières investigations suite à la découverte d'un foyer. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*, Anses-DGAL n° 41, 16-17.
- [3] Bronner A., Rose N., Pol F, Le Potier MF (2010). Bilan de la surveillance de la maladie d'Aujeszky en 2009: renforcement de la surveillance événementielle et allègement de la surveillance sérologique, *Bulletin épidémiologique Anses / DGAL*, n° 40, 38-41.
- [4] Note de service DGAL/SDPPST/N2010-8248 du 26 août 2010. Liste des laboratoires agréés pour la réalisation d'analyses officielles pour le diagnostic de la maladie d'Aujeszky par PCR et techniques sérologiques.
- [5] 2008/185/CE: décision de la Commission du 21 février 2008 établissant des garanties supplémentaires concernant la maladie d'Aujeszky pour les porcs destinés aux échanges intracommunautaires et fixant les critères relatifs aux renseignements à fournir sur cette maladie.

Le *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation* est désormais consultable sur Internet.

Recherchez un article
du *Bulletin épidémiologique* sur:
www.anses.fr/bulletin-epidemiologique/index.htm

Titre de l'article	R. Rédacteur	N. Date	L. Auteur	A. Sujet / Mots-clés
Bilan sanitaire de conjoints à vie de la peste porcine africaine d'Aujeszky, de la brucellose de l'épave E et des virus influenza porcins en France	BE44-Article 1	1.07.11	Assia Payne, Sophie Rossi, Sandrine A. Lacroix, Isabelle Valade, Bruno Garm Escabi, Gaëlle Simon, Sylvaine Harne, Nicole Penla, Céline Bédarides, Chafika Dunoyer, Anne Briener, Jean-Hans	Sanglier, Trichinella, maladie d'Aujeszky, brucellose, virus influenza, peste porcine africaine
Bébé - Deux cas humains brutaux de trichinellose liés à la consommation de saumon de chassa	BE44-Bébé 1	1.07.11	Isabelle Valade, Sandrine Lacroix, Pascal Bouteau	Trichinella, sanglier, zoonose
Bébé - Seconde exposition humaine à des virus de peste porcine africaine (PPA) en France	BE44-Bébé 2	1.07.11	Isabelle Valade, Sandrine Lacroix, Pascal Bouteau	Avare sp., sanglier, zoonose
Bébé - Tapasinfectorio alimentario colectiva à Salmonella Enteritidis suite à la consommation de viande de sanglier	BE44-Bébé 3	1.07.11	Francisco Nogareda, Pierre Bessault, Simon Le Helle, Anne-Lise Thon, Gérard Ros, Massimo Robert, Emmanuel Thyl, Frédéric Houry, François-Xavier Weil, Nathalie Jourdan	Salmonella, viande animale collective (TAC), Enteritidis, sanglier
Encadré - Rapport de l'Union européenne sur les maladies et les zoonoses des porcs et des cochons domestiques en 2009	BE44-Article 1	1.07.11		Zoonoses, Union européenne, trichinellose alimentaire

Brève. Une enquête épidémiologique médicale et vétérinaire conjointe sur un cas de rage importé

Short item. A joint investigation between human and veterinarian services about an imported case of rabies

Didier Boisseleau (1) (didier.boisseleau@vendee.gouv.fr), Hélène Callon (2)

(1) Direction départementale de la protection des populations de Vendée, La Roche-sur-Yon

(2) Direction générale de l'alimentation, Mission des urgences sanitaires, Paris

Mots clés : rage, cas importé, gestion / **Keywords:** rabies, imported case, management



Le cas d'un chiot qui se mordille la queue, a changé de comportement et a tendance à mordre est signalé le jeudi 4 août 2011 au soir à une clientèle vétérinaire du nord-est de la Vendée. Le chiot est déposé dans une cage le lendemain matin sans examen par le vétérinaire. Une contention difficile est réalisée avec des gants pour réaliser les soins de la queue. Le chiot essaie de mordre à plusieurs reprises, il n'a pas de signe méningé mais c'est un chien qui a un comportement hyper agressif, mis au crédit d'un problème d'éducation. Le soir, le propriétaire vient chercher son chien, le vétérinaire sensibilise le détenteur au comportement très dangereux de ce chien. Celui-ci dit alors sous forme de confiance que le chien a été importé du Maroc. Le vétérinaire questionne le propriétaire qui lui apprend que le chiot a mordu deux jeunes filles.

Le vétérinaire garde l'animal pour une surveillance de chien mordeur de 15 jours et demande d'informer les jeunes filles qu'elles doivent aller chez le médecin. Le chiot est hospitalisé et isolé. Il boit et il mange encore.

Le samedi 6 août, il est toujours très agressif et se jette sur les barreaux en cas de stimulation. Il présente des signes d'encéphalite, se cogne contre les murs, tourne

en rond et présente un regard fixe et absent attestant d'une atteinte centrale. La Direction départementale de la protection des populations est informée le samedi six au matin et confirme la nécessité d'isolement et de mise sous surveillance. Le chien meurt à 23 heures le dimanche sept août. Le lundi huit, la suspicion de rage est validée par la DDPP et pris en charge par l'Agence régionale de santé. Une enquête épidémiologique et vétérinaire conjointe d'un Inspecteur de la santé publique vétérinaire de la DDPP de Vendée et du médecin de la cellule de veille et de gestion des alertes sanitaires de l'ARS de Nantes est réalisée.

Le chiot bâtard de 2,5 à 3 mois pesait environ trois kg. Il a été recueilli le 11 juillet 2011 au Maroc (dans un village proche de Rabat à côté d'une piscine). Il est resté au sein de la famille pendant son séjour au Maroc et a été ramené en France le 1^{er} août 2011 par un voyage en voiture direct à travers l'Espagne. Le changement de comportement est estimé entre le 1^{er} et le 2 août. De mordilleur, le chiot est devenu petit à petit agressif. Il a été emmené chez le vétérinaire par un ami de la famille, lequel l'a manipulé avec des gants de jardin le 6 août. Pendant le voyage en Espagne, le chiot a été en contact avec des membres de la famille. Pendant la semaine du 1^{er} au 5 août, le chiot est emmené en scooter et présenté aux amis des adolescents. L'enquête « contacts humains » initiale fait état de six personnes au Maroc et de 24 personnes en France. L'enquête « animaux contact » fait état d'un chien, d'une chatte et de ses deux chatons, tous considérés comme « contaminés » au regard de la réglementation.

Mesures de gestion

Le diagnostic clinique est confirmé par le Centre national de référence pour la rage (Institut Pasteur de Paris) le 11 août 2011. Un arrêté de mise sous surveillance est signé pour le chien ayant été en contact, vacciné le 24 novembre 2010 et ayant reçu un rappel le 11 août 2011.

La chatte et les deux chatons n'étaient pas vaccinés. Un arrêté prescrivant leur capture par la fourrière locale est signé. La capture avec des cages avec trappe a été engagée dès le résultat intermédiaire du dix août; elle a buté pendant trois jours sur des échecs de piégeage, probablement favorisés par les enfants de la famille trop jeunes pour admettre la capture de leurs animaux. Des explications médicales, menaces de suites et promesses d'aide au remplacement des animaux ont été faites par la DDPP, la mairie et la gendarmerie pour obtenir la collaboration de la famille.

Un suivi de proximité par un technicien de l'abattoir local a été engagé pendant le week-end prolongé du 15 août. Conformément à la réglementation, ces chats considérés comme contaminés et qui n'étaient pas vaccinés ont été euthanasiés avant le délai d'excrétion potentiel pour garantir la sécurité des personnes et éteindre tout risque de diffusion de ce cas de rage importé dans une zone indemne.

La gestion sanitaire de ce cas est donc achevée, il n'existe ni zone réglementée, ni restriction de circulation des chiens en Vendée. Le Procureur a été saisi et une enquête sur les causes de l'entrée illégale de cet animal et les suites à donner est en cours.

Discussion

Ce cas illustre parfaitement l'efficacité du réseau des vétérinaires sanitaires; la suspicion a été posée sur un chien se mordant l'extrémité de la queue. Il était possible de confondre dans les premiers jours l'agressivité du chien avec un comportement lié à l'éducation. Ce cas illustre également la difficulté de capture de chats en semi-liberté surtout lorsque la perception des dangers n'est pas complète. L'évolution a été progressive et très évocatrice les deux derniers jours avec des symptômes d'encéphalite (regard absent, l'animal se bute aux murs et tourne en rond, se jette sur les barreaux et les mord lors des sollicitations). L'hospitalisation et l'isolement du chien ont été des mesures conservatoires importantes pour minimiser les contacts contaminants. Les mesures de police sanitaire ont été prises en charge financièrement par la DDPP.

L'origine géographique du chien a d'abord été cachée. Cette collecte d'information constitue un temps important de l'examen, la déclaration des morsures n'a été faite que suite à une question précise en fin de consultation. L'animal aurait pu mourir avant d'être présenté à un vétérinaire dans ce cas pour raison financière et/ou pour éviter de mettre en lumière une introduction illégale.

Ce cas démontre le rôle essentiel du vétérinaire sanitaire pour assurer la détection précoce des cas et de l'exposition de l'Homme à des morsures contaminantes. Les vétérinaires peuvent être exposés à des animaux atteints de symptômes cliniques de rage de façon non exceptionnelle dans un pays indemne, leur protection vaccinale et la prise en charge des morsures et griffures s'appliquent prioritairement à eux et leur personnel.

Communication

Les relations entre la DDPP et l'ARS ont été quotidiennes au cours de cet épisode. La DGAL a soutenu cette action par la Mission des urgences sanitaires et le Bureau de la santé animale. Une conférence téléphonique avec les acteurs nationaux et locaux a permis de faire le bilan de l'information et de cadrer les mesures de gestion et la communication le mardi après-midi. Un communiqué de presse a été émis par la Préfecture de Vendée le mardi soir pour la suspicion et le jeudi pour la confirmation.

D'autres actions de communication ont été réalisées par la DGAL. Au niveau national, la publication d'un communiqué de presse interministériel le vendredi a permis de sensibiliser une nouvelle fois les voyageurs concernant les conditions réglementaires d'importation des carnivores domestiques (<http://agriculture.gouv.fr/importation>). Par ailleurs, une information des organisations professionnelles nationales (vétérinaires et animaleries) a été réalisée le même jour. Enfin, à l'échelle européenne et internationale, la DGAL a informé les autorités marocaines et espagnoles,

la Commission européenne ainsi que l'Office mondial pour la santé animale.

La période de capture des chats a été inconfortable car elle a duré près d'une semaine, ce délai n'ayant pas de conséquence sur le plan sanitaire (la probabilité d'excrétion dans la salive au bout d'une semaine étant considérée comme négligeable) mais étant difficile à expliquer à un public convaincu que tout est possible tout de suite, même avec des animaux semi-sauvages.

Ce cas rappelle le risque que peut constituer le recueil d'animaux d'origine inconnue en provenance de pays exposés à des maladies animales transmissibles à l'Homme. Il apparaît une nouvelle fois nécessaire de rappeler qu'il est indispensable de se renseigner sur les réglementations sanitaires et les respecter avant de recueillir tout animal.

La communication en période de suspicion et pendant la mise en œuvre de mesures est sensible, le nom de la commune n'est pas précisé pour éviter une pression des médias sur le cabinet vétérinaire ou sur les particuliers concernés qui sont déjà soumis à des mesures médicales et vétérinaires contraignantes.

Cette réserve n'a néanmoins pas été comprise par les vétérinaires des clientèles voisines qui l'ont ressenti comme un manque de confiance.

Référence bibliographique

<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19946>

Brève. Zoonoses : Connaissances des étudiants en médecine humaine et vétérinaire Short item. Zoonoses: knowledge of physician and veterinarian students

Laetitia Canini (1,2) (laetitia.canini@gmail.com), Stéphane Bertagnoli (3,4)

(1) Université Pierre et Marie Curie – Paris 6, UMR-S 707, Paris

(2) Inserm, UMR-S 707, Paris

(3) Université de Toulouse, INP, ENVT, UMR 1225, IHAP, Toulouse

(4) Inra, UMR 1225, IHAP, Toulouse

Mots clés : zoonoses, santé publique, professions médicales

Keywords: zoonoses, public health, physicians, veterinarians

La gestion des zoonoses représente un défi avec des enjeux sanitaires et économiques [1, 2]. Les vétérinaires et médecins étant les premiers acteurs de la surveillance de ces maladies, une étude visant à évaluer leurs connaissances générales sur les zoonoses a été réalisée [3]. Dans le cadre d'une enquête transversale, un questionnaire de type fermé reposant sur la définition des zoonoses, la rage et l'épidémiologie des zoonoses a été soumis à deux groupes comparables de 33 étudiants en médecine et de 22 étudiants vétérinaires toulousains en fin de cursus.

Les scores obtenus par les étudiants vétérinaires (Tableau 1) étaient globalement supérieurs à ceux obtenus par les étudiants en médecine ($p < 0,001$), soulignant une sensibilisation différente entre les deux groupes. L'impact de la connaissance des zoonoses sur la qualité de leur future pratique professionnelle reste toutefois à démontrer.

Tableau 1. Détails des résultats de l'étude sur la connaissance des zoonoses par les vétérinaires et les médecins (les réponses significativement différentes sont indiquées en gras)

Question	Bonnes réponses	Proportion de réponses correctes (en %)		p
		Médecins	Vétérinaires	
Un animal sain peut-il transmettre un agent zoonotique ?	oui	84,8	77,3	0,50
Un agent zoonotique peut-il être transmis de l'Homme aux animaux ?	oui	36,4	95,4	<0,0001
Un agent zoonotique peut-il être transmis d'Homme à Homme ?	oui	48,5	81,8	0,022
Un agent zoonotique peut-il être transmis d'animal à animal ?	oui	97,6	100	1,0
Faut-il un contact direct avec un animal pour être contaminé par un agent zoonotique ?	non	72,7	86,4	0,32
La France est-elle officiellement indemne de rage ?	oui	21,2	81,8	<0,0001
Quelles sont, par ordre d'importance, les modalités de transmission de la rage ?	Morsure, griffade, léchage	84,8	63,6	0,10
La brucellose est-elle une zoonose prioritaire en France ?	oui	27,3	77,3	<0,0001
Quelle est la prévalence de la toxoplasmose chez l'Homme en France ?	Supérieure à 70 %	42,4	59,1	0,28
Quelle proportion des agents infectieux pathogènes pour l'Homme est d'origine animale ?	De 50 % à 70 %	0,0	27,3	0,003
Parmi les infections émergentes ou ré-émergentes, quelle est la proportion d'agents pathogènes zoonotiques ?	Environ 70 %	45,4	54,5	0,32

Références bibliographiques

[1] Murphy FA. (1998) Emerging zoonoses. *Emerging Infectious Diseases*. 4(3):429-35.[online] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2640289/?tool=pubmed>

[2] Murrell KD. (1991) Economic losses resulting from food-borne parasitic zoonoses. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*. 22 Suppl:377-81.

[3] Canini L. (2010) Les zoonoses en France: évaluation des connaissances des médecins et vétérinaires [Thèse d'exercice]. Toulouse: ENVT; [online] http://oatao.univ-toulouse.fr/4577/1/canini_4577.pdf

La surveillance sanitaire des coquillages vivants mis sur le marché en France

Jacques Marchal (jacques.marchal@agriculture.gouv.fr), Pauline Favre, Myriam Carpentier
Direction générale de l'alimentation, Bureau des produits de la mer et d'eau douce, Paris.

Résumé

La surveillance sanitaire nationale des coquillages dans le milieu marin repose sur trois réseaux, REMI (surveillance microbiologique), REPHY (surveillance phycotoxinique) et ROCCH (surveillance chimique) gérés par l'Ifremer. Cette surveillance régulière est basée sur un échantillonnage régulier défini annuellement, pour chaque réseau et pour chaque zone de production de coquillages. Parallèlement à cette surveillance régulière, une stratégie d'alerte permet d'ajuster la fréquence des contrôles dans les coquillages; elle est définie pour le REMI et le REPHY en fonction des connaissances historiques des zones et des périodes de l'année. Dès que les résultats de la surveillance démontrent une contamination des coquillages supérieure au seuil sanitaire fixé par la réglementation européenne, la zone de production est fermée. La réouverture de la zone est possible après l'obtention de deux résultats successifs favorables.

Concernant la surveillance phycotoxinique, l'évolution la plus significative a été le remplacement du bio-essai souris par l'analyse chimique au 1^{er} janvier 2010 pour l'analyse des toxines lipophiles, accompagnée de la mise en place d'un dispositif de vigilance vis-à-vis de toxines non détectées par l'analyse chimique ou de toxines émergentes (voir l'article de C. Belin dans ce même BE).

Par ailleurs, pour faire face à l'émergence d'une nouvelle espèce, comme l'apparition d'une nouvelle algue toxique en Méditerranée, une surveillance spécifique peut être mise en place.

En complément à la surveillance des coquillages dans leur milieu, les coquillages mis sur le marché sont contrôlés via les plans de surveillance annuels mis en place par la DGAL. Ceux-ci montrent un taux de conformité des coquillages mis sur le marché, supérieur à 97 % pour tout type de contaminant confondu.

Cependant, indépendamment de ces mesures, la première cause de TIAC liée à la consommation de coquillages en France est virale. C'est pourquoi une surveillance spécifique de la contamination virale est mise en place sur une zone ayant été définie comme étant à risque vis-à-vis de l'hépatite A (VHA), et des travaux sont en cours pour mieux évaluer et gérer le risque viral.

Mots clés

Coquillages, zones de production, mise sur le marché, surveillance, vigilance, contaminants, microbiologique, phycotoxinique, chimique, viral

Abstract

Health surveillance of live shellfish marketed in France

French national health surveillance of marine shellfish relies on three networks, REMI (microbiological surveillance), REPHY (phycotoxin surveillance), and ROCCH (chemical surveillance), which are all managed by Ifremer. This regular surveillance is based on a sampling plan that is defined annually, for each network and for each shellfish production zone. In tandem with this regular surveillance, an alert strategy is implemented to adjust the frequency of controls in shellfish; for REMI and REPHY it is defined as a function of historical knowledge of zones and periods of the year. Whenever surveillance results show that shellfish contamination is greater than the threshold set by the European regulations, the production zone is closed. The zone can be reopened after two successive favourable results have been obtained.

Regarding phycotoxin surveillance, the most significant development has been the use of chemical analysis to replace the mouse bioassay method from 1 January 2010 for the analysis of lipophilic toxins, accompanied by the implementation of a vigilance plan for toxins not detected by chemical analysis and emerging toxins (see article by C. Belin in this issue).

Moreover, to deal with the emergence of a new species, such as the appearance of a new toxic alga in the Mediterranean, a specific surveillance plan can be developed.

In addition to the surveillance of shellfish in their environment, shellfish on the market are monitored through the annual surveillance plans developed by the General Directorate for Food (DGAL). These show that the level of conformity of shellfish on the market is greater than 97% for all types of contaminants combined.

However, independently of these measures, the leading cause of food poisoning outbreaks related to the consumption of shellfish in France is viral. That is why specific surveillance of viral contamination is being implemented in a zone that has been defined as at-risk for hepatitis A (HAV) and work is underway to better assess and manage the viral risk.

Keywords

Shellfish, production zones, marketing, surveillance, vigilance, contaminants, microbiological, phycotoxin, chemical, viral

Les coquillages possèdent des propriétés de filtration et d'accumulation responsables de la transmission à l'Homme de maladies d'étiologies bactérienne, virale, parasitaire, phycotoxinique ou chimique. La surveillance régulière des coquillages mis sur le marché s'avère donc nécessaire.

Le dispositif de surveillance des coquillages issus de la conchyliculture et de la pêche professionnelle repose en France sur deux niveaux:

- avant la récolte, dans le milieu de vie (surveillance des zones de production);
- à la remise au consommateur final (surveillance des produits mis sur le marché).

L'objectif de cet article est de présenter le système de surveillance actuel, ses dernières évolutions et ses perspectives.

La surveillance des zones de pêche à pied de loisir, dont les coquillages récoltés sont destinés à la consommation familiale, est assurée par les Agences régionales de santé, et n'est pas traitée dans cet article.

Pour mémoire, la production annuelle de coquillages est de l'ordre de 186 000 tonnes par an, dont notamment, 95 520 tonnes d'huîtres creuses et 83 044 tonnes de moules (source Enquête Aquaculture 2009 DPMA/BSPA). La consommation de coquillages provient pour 28 % de la pêche professionnelle dans des gisements naturels, et pour 72 % de la conchyliculture.

En 2010, 451 zones de production (conchylicoles et gisements naturels) étaient classées, et 317 d'entre elles faisaient l'objet d'une surveillance régulière (Figure 1).

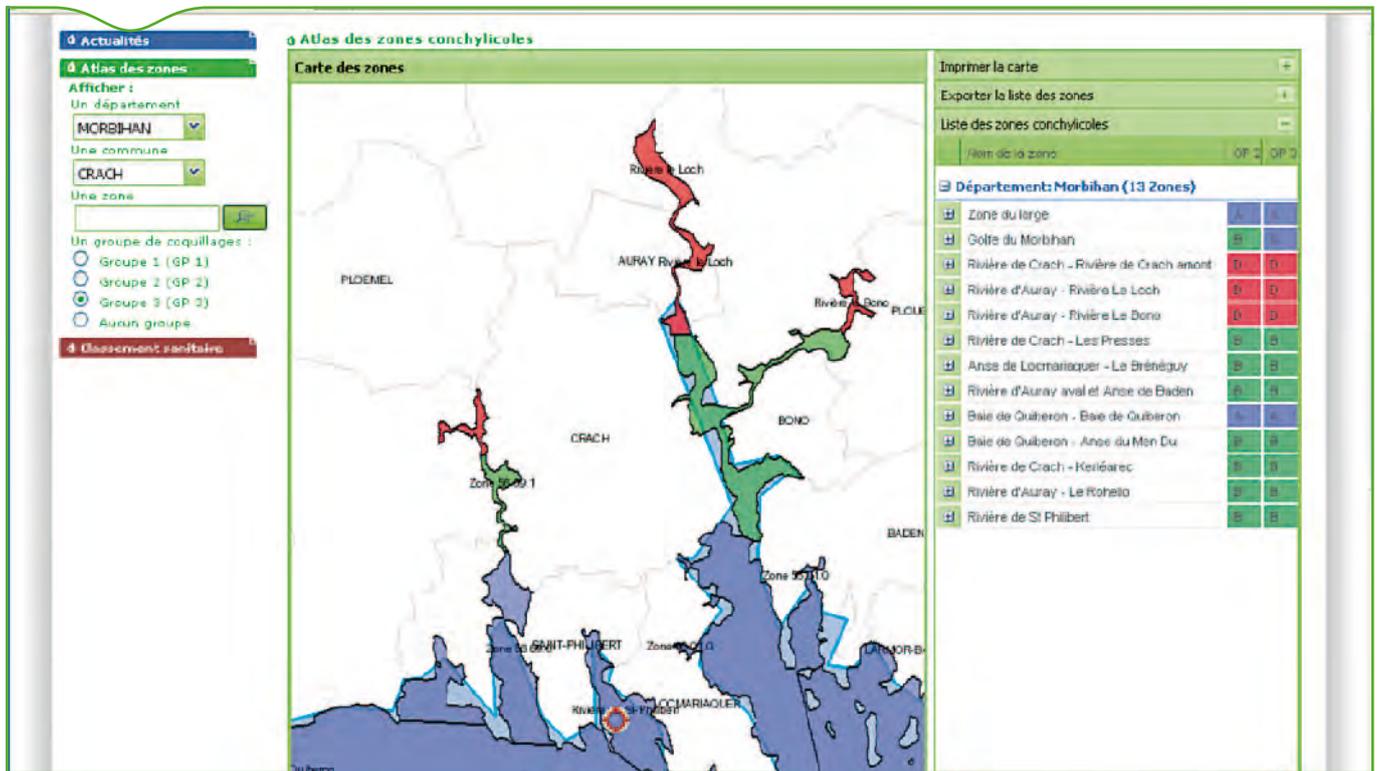


Figure 1. Atlas national des zones conchylicoles. Site Internet permettant de connaître le classement sanitaire des zones de production conchylicole. Le statut des zones (ouvert vs fermé) en temps réel sera bientôt disponible

Le coquillage, denrée alimentaire

Pour être reconnu comme une denrée alimentaire, le coquillage doit posséder des qualités organoleptiques propres, et être vivant au moment de la vente. De plus, il ne doit pas contenir de contaminants au-delà des seuils fixés par la réglementation européenne [2,4,5] et nationale [6]. Ainsi :

- a) les teneurs microbiologiques maximales admissibles pour tous les coquillages, exceptés les gastéropodes non filtreurs, sont fixées par le R(CE)2073/2005 [4]:
 - absence de salmonelle dans 25 g de chair,
 - moins de 230 *E. coli* par 100 grammes de chair et liquide intervalvaire (CLI);
- b) les teneurs maximales en phycotoxines sont présentées dans l'article de C. Belin dans ce même numéro du *Bulletin épidémiologique*;
- c) les teneurs maximales en contaminants chimiques admissibles sont fixées par le R(CE)1881/2006 [5] et l'arrêté ministériel du 21 mai 1999 [6]:

Métal	Seuil (mg/kg, poids humide)	
	R(CE)1881/2006 : groupes 2* et 3*	AM 21/05/99 : groupe 1*
Plomb	1,5	2,0
Cadmium	1,0	2,0
Mercur	0,5	0,5

Dioxines, PCB, HAP	Seuil (pg/kg, poids humide)
R(CE)1881/2006 : groupes 1, 2 et 3	
Dioxines	4.0
PCB dioxine like	1.0
R(CE)1881/2006 : groupes 2* et 3*	
HAP	10.0

* Voir la Figure 3 pour la définition des groupes de coquillages.

La surveillance des zones de production et des coquillages mis sur le marché vise à s'assurer que ces seuils réglementaires sont respectés, garantissant ainsi la santé du consommateur.

La surveillance des zones de production

L'Ifremer⁽¹⁾, par délégation de l'État, est chargé de l'organisation et du suivi d'un dispositif national de surveillance de la qualité du milieu marin littoral, qui inclut la surveillance de la conformité sanitaire des zones conchylicoles aux exigences réglementaires des coquillages destinés à la consommation humaine. Il existe ainsi trois réseaux de surveillance des zones de production de coquillages qui sont adaptés aux contaminations suivies :

- le réseau de contrôle microbiologique (REMI);
- le réseau de surveillance du phytoplancton et des phycotoxines (REPHY);
- le réseau d'observation de la contamination chimique du milieu marin (ROCCH).

Pour chaque réseau, un cahier de prescriptions est édité et mis à jour annuellement; ces cahiers sont mis à disposition sur le site web/ Environnement Littoral de l'Ifremer (<http://envlit.ifremer.fr/>).

Classement et surveillance microbiologiques (REMI)

Le REMI a été mis en place par l'Ifremer en 1989.

Il a pour objectifs :

- d'estimer la qualité microbiologique des coquillages, de suivre l'évolution des niveaux de contamination, et donc de permettre le classement des zones;
- de détecter et suivre les épisodes inhabituels de contamination.

Les contrôles microbiologiques sont basés sur le dénombrement des *Escherichia coli* dans les coquillages vivants, cette bactérie ayant été retenue comme indicateur de contamination fécale et donc du

(1) Ifremer: Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer.

risque de présence d'autres micro-organismes pathogènes intestinaux (bactéries, virus, protozoaires, parasites).

La réglementation européenne [2,3] et nationale [6] définissent un classement des zones de production conchylicole en quatre catégories (A, B, C et D) selon les niveaux de contamination en *E. coli*. Elles prévoient en outre un suivi régulier des zones classées afin de vérifier le respect des limites réglementaires.

La surveillance régulière prévoit un programme d'échantillonnage des coquillages sur des points pérennes, représentatifs des zones classées. Le nombre et la fréquence des prélèvements pour la surveillance sanitaire sont adaptés au classement sanitaire et aux particularités des variations spatio-temporelles de qualité des coquillages filtreurs prélevés dans cette zone.

De plus, un dispositif d'alerte peut être déclenché par le laboratoire en charge du contrôle de la zone :

- face à une augmentation du risque de contamination fécale : événements météorologiques (pluies abondantes), rejets de by-pass de station d'épuration...;
- lorsqu'une contamination fécale anormale est détectée, soit dans le cadre des contrôles officiels (surveillance des zones), soit dans celui des autocontrôles;
- lors de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) dont l'origine coquillière est suspectée.

Chaque alerte donne lieu à au moins une analyse complémentaire pour confirmer ou infirmer la contamination.

Malgré ce dispositif de surveillance microbiologique, des coquillages peuvent être impliqués dans des TIAC d'origine virale (gastro-entérites), car l'abondance de la bactérie *E. coli* est très peu corrélée à la présence de virus.

La contamination du milieu marin par des virus provient de pollutions fécales d'origine terrestre (dysfonctionnements de station d'épuration, rejets d'eaux usées directement dans le milieu...).

Bien qu'il n'existe pas actuellement de critère réglementaire pour les virus, les autorités françaises mettent en place des mesures spécifiques de gestion de zones lorsque c'est nécessaire, par exemple :

- à la suite de deux épidémies de virus de l'hépatite A (VHA) qui se sont produites autour de la baie de Paimpol (33 cas en 1999, et 111 cas en 2007), pour lesquelles il a été démontré que les coquillages étaient à l'origine de ces TIAC, des prélèvements de coquillages ont été réalisés dans cette zone, de 2008 à 2010. Plusieurs résultats d'analyses se sont révélés défavorables : aussi, la baie de Paimpol a été placée sous surveillance renforcée, pour le risque VHA, depuis le 1^{er} janvier 2011 pour une durée de 3 ans;
- d'autre part, lorsque plusieurs TIAC dues à des norovirus sont reliées à une même zone de production, celle-ci est fermée, et une surveillance virale spécifique hebdomadaire est déclenchée. La réouverture de la zone est possible sur la base d'une seule analyse révélant l'absence de risque viral dans les coquillages.

Cette procédure de réouverture de zone découle de la méthode de recherche des virus dans les coquillages.

En effet, la recherche de l'acide nucléique viral est réalisée par la méthode RT-PCR. Bien qu'il s'agisse d'une méthode permettant de détecter les particules virales et de les quantifier, elle ne permet pas d'évaluer précisément le risque infectieux.

Et, bien que la seule détection de matériel génétique puisse estimer par excès le risque infectieux réel, le principe de précaution oblige à tenir compte de chaque résultat positif dans le cadre de la gestion sanitaire des coquillages destinés à la consommation humaine, et donc dans le processus de réouverture d'une zone contaminée.

Plusieurs groupes travaillent à l'heure actuelle sur la problématique de la contamination des zones de production de coquillages par des virus :

- au niveau international, des directives relatives à la maîtrise des risques de contamination par des virus dans les aliments sont en cours de rédaction;
- au niveau européen, le CEN (comité européen de normalisation) travaille sur la standardisation et l'harmonisation des méthodes d'analyse, et l'EFSA [11] a rendu avis scientifique en juillet 2011 sur les connaissances relatives aux virus d'origine alimentaire et à leur gestion;
- en France, la DGAL pilote un groupe de travail pour définir un dispositif de gestion de ce risque fécal spécifique.

Surveillance phytoplanctonique (REPHY)

Le fonctionnement et les résultats de ce réseau sont présentés dans l'article de C. Belin dans ce même numéro du *Bulletin épidémiologique*.

Surveillance chimique (ROCCH)

Depuis 2008, le Réseau d'observation de la contamination chimique du littoral (ROCCH) a pris la suite du RNO (Réseau national d'observation de la qualité du milieu marin), à vocation plus environnementale, qui existait depuis 1974.

Ce réseau suit la contamination chimique des coquillages en trois métaux lourds : plomb, mercure et cadmium. La surveillance porte sur 142 points représentant l'ensemble des zones conchylicoles réparties sur les 10 grandes zones françaises. Cette surveillance participe aussi au classement sanitaire des zones conchylicoles : si la concentration en un métal dépasse la norme, la zone est considérée comme contaminée et classée D ; la récolte des coquillages y est interdite. La [Figure 2](#) présente les résultats de la surveillance pour le plomb.

La surveillance est annuelle ; en raison de la saisonnalité de la concentration en métaux lourds dans les coquillages, les analyses ont lieu en période hivernale (janvier à mars).

Depuis 2011, la surveillance a été étendue à d'autres contaminants réglementés (HAP, PCB, dioxines). Cette surveillance est ciblée sur quatre zones connues historiquement pour présenter un risque ; 10 points y sont analysés régulièrement. De plus, une surveillance sur six points de référence répartis sur les six autres grandes zones est mise en place, afin de détecter toute évolution défavorable.

La gestion des zones de production de coquillages

Gestion des coquillages en fonction de leur zone de provenance (Figure 3)

Seuls les coquillages provenant de zone A peuvent être directement mis sur le marché.

Les coquillages provenant de zones C ne peuvent être destinés qu'à un traitement thermique, ou à un repackage de longue durée, inexistant en France.

Les coquillages provenant de zones B doivent être purifiés dans une eau de mer propre pendant un temps suffisant leur permettant d'éliminer la contamination microbiologique initiale, et ainsi de les rendre aptes à la consommation humaine. La purification d'une durée de 48 heures est en général suffisante pour abaisser la teneur en *E. coli* en dessous du seuil réglementaire.

L'eau de mer propre est définie par le R(CE) 852/2004 [1] et par la note de service DGAL 2003/8058 [7]

La purification est efficace pour le critère *E. coli*, mais ne l'est pas pour les autres contaminants, viral, phycotoxique ou chimique.

La purification des coquillages en bassin à terre est un procédé complexe qui requiert, de la part des conchyliculteurs, une bonne maîtrise de l'ensemble des paramètres de l'eau (température, oxygénation, turbidité, salinité...) qui permettent de préserver les capacités de filtration des coquillages, et donc l'élimination des contaminants.

2/ Gestion des zones contaminées

Fermeture des zones

Lorsqu'une zone est contaminée par des métaux lourds, la zone est classée D et donc interdite à la récolte.

Concernant la gestion des contaminations phycotoxiques, tout résultat défavorable, c'est-à-dire supérieur au seuil réglementaire, conduit le préfet à fermer la zone de production.

La gestion des contaminations microbiologiques fécales s'appuie sur les alertes envoyées par l'Ifremer. Lorsqu'une contamination est avérée sur une zone, la zone est fermée.

Outre les mesures de fermeture de zones, correspondant à une interdiction de récolte des coquillages, des mesures appropriées de gestion des coquillages récoltés (retrait ou retrait et rappel du marché) sont prises de manière à protéger la santé publique.

Réouverture des zones

Pour les contaminations phycotoxiques, la réglementation européenne [3] prévoit la nécessité d'obtention de deux résultats favorables successifs, à au moins 48 heures d'intervalle, pour permettre la réouverture de la zone. Les données de cinétique de décontamination tendent à montrer qu'il est préférable que les prélèvements soient réalisés à une périodicité hebdomadaire; c'est donc sur la base de deux résultats hebdomadaires favorables que la zone est réouverte.

Pour les contaminations microbiologiques, bien que la réglementation n'impose aucun délai ni nombre d'analyses, l'expérience, assortie d'avis scientifiques, a montré que deux analyses conformes à au moins une semaine d'intervalle sont nécessaires pour être le reflet d'un retour stable à la normale.

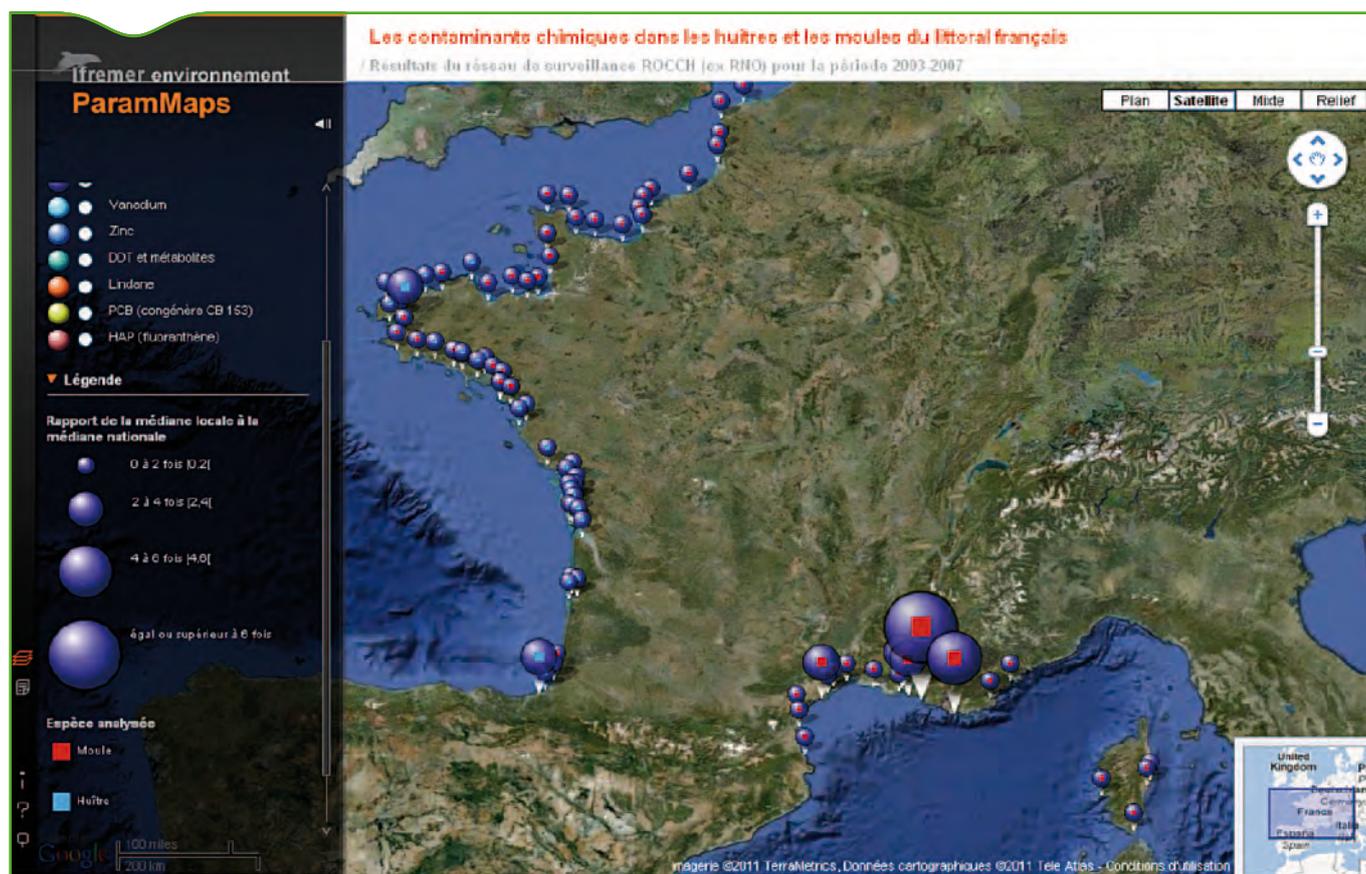


Figure 2. Extrait de la surveillance ROCCH pour le plomb, période 2003-2007 (Source : Ifremer)

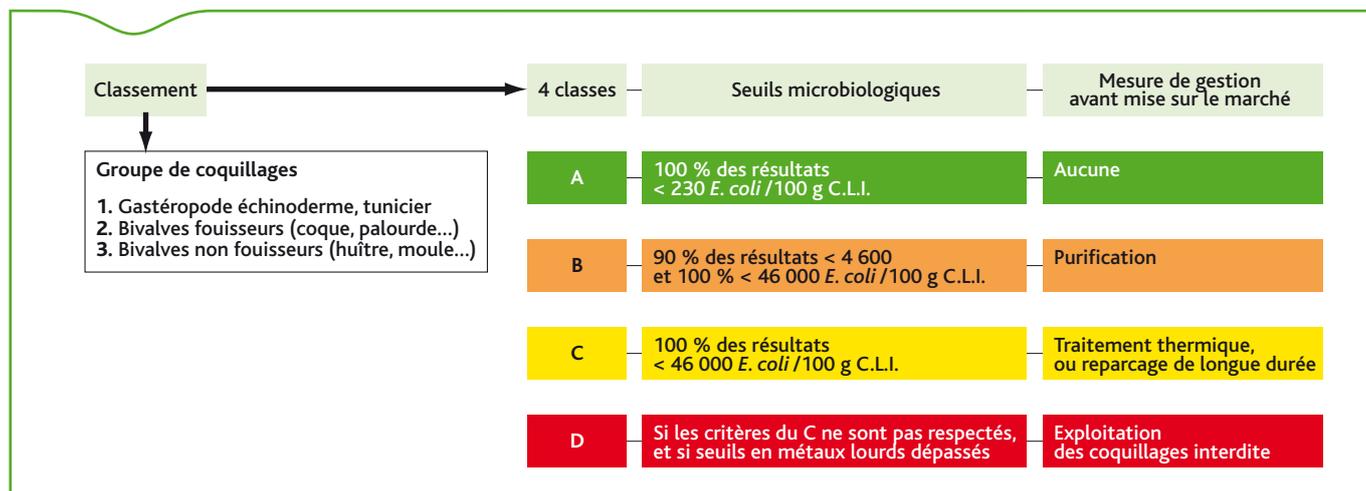


Figure 3. Exigences réglementaires microbiologiques du classement de zone

La surveillance des produits mis sur le marché

Depuis 1998, la DGAL met en place chaque année un plan de surveillance et de contrôle des contaminants dans les mollusques bivalves vivants mis sur le marché. Il contribue à évaluer le niveau d'exposition des consommateurs aux différents contaminants étudiés. Il permet également d'évaluer l'efficacité du dispositif global de surveillance des zones conchylicoles.

La répartition des analyses par espèce de coquillages tient compte de l'importance de la consommation de ceux-ci, et concerne donc des coquillages mis sur le marché de toute espèce et de toute provenance : production française, échanges européens ou importations de pays tiers. Ces échantillonnages ont lieu à toutes les étapes de la mise sur le marché, de la production au commerce de détail.

Les prélèvements des échantillons sont répartis uniformément sur l'année, pour tous les coquillages sauf les huîtres dont 50 % des prélèvements sont concentrés sur le mois de décembre, correspondant à la forte consommation des fêtes de fin d'année.

Ce plan porte sur tous les contaminants chimiques et les phycotoxines marines réglementés.

Sur les 1600 échantillons analysés en 2010, aucun échantillon n'a présenté de dépassement des seuils réglementaires en métaux lourds, HAP ou dioxines et PCB.

Concernant les phycotoxines, en 2010, seul un échantillon de moules a présenté un dépassement du seuil en toxines lipophiles à 531,4 µg OA⁽²⁾/kg. La zone de provenance des moules était contiguë à une zone fermée pour cause de contamination par ces toxines. En même temps, trois foyers de TIAC ont été identifiés avec des moules issues de cette même zone.

Depuis 2009, un plan de surveillance de la contamination fécale par *E. coli* a également été mis en place.

Sur les 483 échantillons prélevés en 2010, 43 échantillons ont présenté un dépassement du seuil réglementaire, soit un taux de conformité de 91,1 %. Les résultats mettent en évidence le nécessaire reclassement de certaines zones (entrepris depuis 2009), et ont permis de revoir et d'améliorer les procédés de purification mis en place dans certains établissements.

Par ailleurs, les alertes permettent d'informer le consommateur et d'éviter la consommation de produits non conformes ou susceptibles d'être dangereux. En 2010, 17 alertes (via le RASFF : Rapid alarm system for food and feed, réseau d'alertes européen) ont été lancées au niveau communautaire (vs 10 en 2009), et 82 alertes au niveau français (vs 54 en 2009). Ces alertes portaient sur des contaminations par des virus ou par des phycotoxines (ASP et toxines lipophiles) et ont donné lieu à des mesures immédiates de retrait du marché.

Les producteurs de coquillages ont la responsabilité de s'assurer de la conformité des coquillages qu'ils mettent sur le marché; ils doivent réaliser des auto-contrôles suivant une fréquence définie dans le plan de maîtrise sanitaire propre à leur atelier. Toute non-conformité doit faire l'objet d'une information des services départementaux en charge des contrôles, et d'un retrait des produits du marché.

Malgré toutes ces mesures de surveillance, 140 TIAC reliées à la consommation de coquillages ont été déclarées en 2010 (contre 85 en 2009), et, au total, 844 personnes ont été malades. 94 foyers de TIAC ont été causées par la présence de norovirus dans les coquillages, 33 provoquées par des toxines lipophiles présentes dans des moules provenant d'Espagne et les trois dernières évoquées ci-dessus pour lesquelles la présence de toxines lipophiles est suspectée, mais non avérée, car les coquillages consommés n'étaient plus disponibles pour analyse. Pour les autres TIAC, la cause n'est pas connue avec certitude.

Si on exclut les TIAC provoquées par des coquillages non récoltés en France, 95 % des TIAC ont été reliées à la présence de norovirus.

Conclusion

Si l'on se réfère au nombre de TIAC d'origine phycotoxinique ou bactérienne observées en 2010, ainsi qu'aux résultats des plans de surveillance qui mettent en évidence chaque année une conformité des produits d'environ 97 %, on peut considérer que la stratégie de double surveillance des zones de production et des coquillages mis sur le marché en France est cohérente et efficace, notamment pour les salmonelles, les phycotoxines et les contaminants chimiques.

Cependant, le taux de non-conformité en *E. coli* incite à se poser la question de la réalité du classement de certaines zones de production. Certaines zones devraient être déclassées de A en B, obligeant les conchyliculteurs à s'équiper en système de purification.

D'autre part, la première cause de TIAC liée à la consommation de coquillages en France est virale. La purification des coquillages dans une eau de mer propre ne permet pas de réduire la contamination de manière conséquente; aussi des actions doivent être engagées pour améliorer l'évaluation, la gestion et la prévention de cette problématique multifactorielle en concertation avec l'ensemble des acteurs impliqués et impactés. Les travaux entrepris au niveau international européen et français devraient permettre d'aboutir à la définition harmonisée d'une gestion des zones à risque viral.

Les difficultés de gestion liées à ces deux agents microbiologiques témoignent d'une pollution récurrente des zones de production par des effluents mal traités, qui entraîne depuis 10 ans une dégradation du milieu [12]. Cependant, sous l'impulsion de la réglementation européenne [8,9,10], des actions sont entreprises dans les régions côtières pour déterminer les sources de pollution afin de les réduire. Ce travail sera très long, et le retour à une bonne qualité micro-biologique des zones de production prendra plusieurs années.

Références bibliographiques

- [1] Règlement (CE) n° 852/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 relatif à l'hygiène des denrées alimentaires.
- [2] Règlement (CE) n° 853/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 fixant les règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale.
- [3] Règlement (CE) n° 854/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 fixant les règles spécifiques d'organisation des contrôles officiels concernant les produits d'origine animale.
- [4] Règlement (CE) n° 2073/2005 de la Commission du 15 novembre 2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires.
- [5] Règlement (CE) n° 1881/2006 de la Commission du 19 décembre 2006 portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires.
- [6] Arrêté du 21 mai 1999 relatif au classement de salubrité et à la surveillance des zones de production et des zones de reparcage des coquillages vivants.
- [7] Note de service DGAL n° 2003-8058 du 27 mars 2003 relative aux conditions pour la délivrance des agréments sanitaires aux centres conchylicoles – approvisionnement et utilisation de l'eau de mer pompée en zone B.
- [8] Directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau.
- [9] Directive 2006/7/CE du Parlement européen et du Conseil du 15 février 2006 concernant la gestion de la qualité des eaux de baignades.
- [10] Directive cadre stratégie pour le milieu marin 2008/56/CE du Parlement européen et du Conseil du 17 juin 2008 (DCSMM).
- [11] EFSA Journal 2011; 9(7):2/90 scientific opinion update on the present knowledge on the occurrence and control of foodborne viruses.
- [12] Isabelle Amouroux, 2009, Bilan national REMI 2008, Ifremer.

(2) AO : acide okadaïque.

La surveillance des **phycotoxines** dans les coquillages du milieu marin. **Le réseau REPHY** : objectifs, stratégies, et principaux résultats

Catherine Belin (catherine.belin@ifremer.fr)
Ifremer, Nantes

Résumé

Un des objectifs du REPHY (Réseau de surveillance du phytoplancton et des phycotoxines) est de suivre dans le milieu marin les espèces de micro-algues productrices de toxines susceptibles de s'accumuler dans les produits marins de consommation et de rechercher ces toxines dans les coquillages. Cette surveillance se fait dans le cadre de la réglementation européenne. Trois groupes de toxines sont ainsi suivis, associés à trois genres de phytoplancton toxique : (i) *Dinophysis*, producteur de toxines de la famille de l'acide okadaïque (à effets diarrhéiques) et de la famille des pectenotoxines; dans le même groupe de toxines dites « toxines lipophiles », deux autres familles de toxines réglementées sont recherchées directement dans les coquillages sans s'appuyer sur leur phytoplancton producteur : les azaspiracides (à effets diarrhéiques) et les yessotoxines; (ii) *Alexandrium*, producteur de toxines de la famille de la saxitoxine (ex-paralysantes, PSP); (iii) *Pseudo-nitzschia*, producteur de toxines de la famille de l'acide domoïque (ex-amnésiantes ASP). Enfin, une autre famille non réglementée à ce jour est également surveillée en Méditerranée : les palytoxines, produites par *Ostreopsis*. La mise en œuvre opérationnelle du REPHY repose sur huit laboratoires Ifremer répartis sur le littoral français, qui assurent en particulier les prélèvements d'eau et de coquillages, les analyses, le stockage et la diffusion des données. La détection et la quantification des toxines dans les coquillages sont réalisées par les méthodes officielles d'analyse. Les toxines lipophiles sont présentes tous les ans dans les coquillages de nombreuses régions de France, alors que les toxines de la famille de la saxitoxine ne sont pratiquement plus observées depuis 2005. Tant qu'aux toxines de la famille de l'acide domoïque, elles touchent le plus souvent les coquilles St-Jacques, mais aussi d'autres coquillages de diverses régions.

Mots clés

Santé, surveillance, phytoplancton, phycotoxines, coquillages, milieu marin

Abstract

The surveillance of phycotoxins in marine shellfish. The REPHY network: objectives, strategies and primary results

*One of the objectives of REPHY (network for phytoplankton and phycotoxin surveillance) is to monitor toxin-producing micro-algae species in the marine environment that are likely to accumulate in seafood products, and to screen for these toxins in shellfish. This surveillance is undertaken in the framework of the European regulations. Three groups of toxins are thus monitored and are associated with three genera of toxic phytoplankton: (i) *Dinophysis*, a producer of the okadaic acid (with diarrhoeic effects) and pectenotoxin families of toxins; in the same group of so-called "lipophilic toxins", two other families of regulated toxins are directly screened for in shellfish without referring to the phytoplankton that produces them: azaspiracids (with diarrhoeic effects) and yessotoxins; (ii) *Alexandrium*, a producer of toxins from the saxitoxin family (e.g. paralytic toxins, PSP); (iii) *Pseudo-nitzschia*, a producer of toxins from the domoic acid family (e.g. amnesic toxins, ASP). Lastly, another family that is not currently regulated is also monitored in the Mediterranean: palytoxins, produced by *Ostreopsis*. The operational implementation of REPHY relies on eight Ifremer laboratories spread out along the French coast, which among other things take water and shellfish samples and analyse, store and distribute results. Toxins in shellfish are detected and quantified by official analysis methods. Lipophilic toxins are found yearly in shellfish in several regions of France, while toxins from the saxitoxin family have rarely been observed since 2005. As for toxins from the domoic acid family, they primarily affect scallops as well as other shellfish in various regions.*

Keywords

Health, surveillance, phytoplankton, phycotoxins, shellfish, marine environment

La contamination des produits marins par des toxines produites par certaines espèces de micro-algues (ou phytoplancton) est devenue en quelques décennies un problème de santé publique à l'échelle mondiale. En France, la surveillance des risques phycotoxiniques pour les consommateurs de produits marins concerne actuellement exclusivement les coquillages qui se nourrissent de phytoplancton.

Le REPHY a été créé par Ifremer en 1984, suite à la survenue en 1983 de plusieurs milliers d'intoxications à effets diarrhéiques dans l'ouest de la France après consommation de coquillages. La surveillance des phycotoxines (ou toxines d'algues) s'est ensuite imposée par la réglementation européenne, prenant en compte l'évolution des connaissances sur ces toxines et leur présence dans les eaux européennes et dans les produits d'importation. Trois groupes de phycotoxines sont ainsi soumis actuellement à une surveillance obligatoire : (i) les toxines lipophiles incluant les toxines à effets diarrhéiques (des groupes de l'acide okadaïque et des azaspiracides), les familles des pectenotoxines et des yessotoxines, (ii) les toxines du groupe de la saxitoxine (PSP), (iii) les toxines du groupe

de l'acide domoïque (ASP). La surveillance exercée par le REPHY s'applique aux coquillages dans leur milieu naturel, c'est-à-dire dans les zones de production (parcs, filières, bouchots, etc.) ou dans les zones de pêche professionnelle. Elle est complémentaire du Plan de surveillance de la Direction générale de l'alimentation (DGAL), qui concerne les coquillages au stade de leur mise sur le marché et provenant aussi bien de la production nationale que non nationale (établissements d'expédition conchylicoles, marchés, distribution, exportation).

Objectifs

Le REPHY a un double aspect environnemental et sanitaire, avec les objectifs suivants :

- connaissance de la biomasse, de l'abondance et de la composition du phytoplancton marin, ainsi que le recensement des efflorescences exceptionnelles et des développements d'espèces toxiques ou nuisibles susceptibles d'affecter la faune marine;

- détection et suivi des espèces phytoplanctoniques productrices de toxines susceptibles de s'accumuler dans les produits marins consommés et recherche de ces toxines dans les coquillages.

Seul l'objectif sanitaire est développé dans cet article.

Fonctionnement

Les procédures de fonctionnement du REPHY sanitaire sont définies annuellement avec la DGAL dans le cadre de l'application de la réglementation européenne [1,2]. Les méthodes d'analyse utilisées sont les méthodes officielles prévues par la réglementation européenne [3-5], relayées au plan national par le Laboratoire national de référence (LNR) pour le contrôle des biotoxines marines de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses). Le fonctionnement du REPHY est décrit dans le *Cahier des procédures REPHY* [6].

La mise en œuvre opérationnelle du REPHY repose sur huit laboratoires Ifremer, implantés sur douze sites⁽¹⁾ répartis sur le littoral français, qui assurent les prélèvements, les observations, les analyses, la saisie des données, la valorisation et la diffusion des résultats au niveau régional (Figure 1). Les résultats sont transmis chaque semaine aux administrations nationales et régionales en charge de la gestion du risque: les décisions d'interdiction de commercialisation des coquillages contaminés font l'objet d'un arrêté préfectoral.

Les données du REPHY sont bancarisées dans la base de données nationale dédiée à la surveillance du littoral (Quadrige²). Elles sont mises à disposition et valorisées sur le site WEB/Environnement Littoral de l'Ifremer (<http://envlit.ifremer.fr/>).

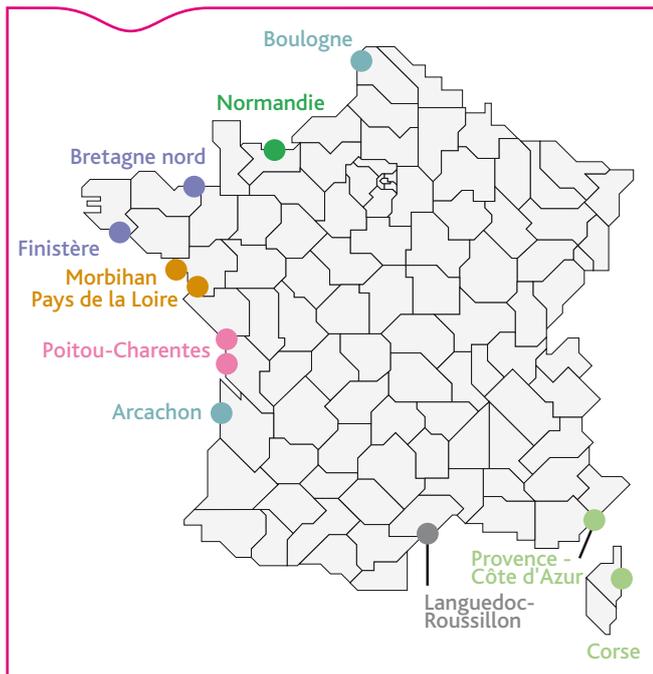


Figure 1. Atlas national des zones conchylicoles

Paramètres surveillés

Les trois groupes de toxines à surveiller d'un point de vue réglementaire sont associés à trois genres de phytoplancton toxique: (i) *Dinophysis*, producteur de toxines de la famille de l'acide okadaïque (à effets diarrhéiques) et de la famille des pecténotoxines; dans le même groupe de toxines appelées « toxines lipophiles », deux autres familles de toxines réglementées sont recherchées directement dans les coquillages sans s'appuyer sur leur phytoplancton producteur: les azaspiracides (à effets diarrhéiques) et les yessotoxines; (ii) *Alexandrium*, producteur de toxines de la famille de la saxitoxine (ex-paralysantes, PSP); (iii) *Pseudo-*

nitzschia, producteur de toxines de la famille de l'acide domoïque (ex-amnésiantes ASP). Les troubles occasionnés par la consommation de coquillages contaminés varient en fonction de la famille de toxines mais aussi en fonction de la sensibilité individuelle et de la dose ingérée. Le délai d'apparition des symptômes est rapide (les 1^{ers} symptômes apparaissant dès trente minutes à quelques heures après ingestion):

- les toxines à effets diarrhéiques (familles de l'acide okadaïque et azaspiracides) peuvent conduire à des intoxications dont les symptômes sont similaires à ceux d'une intoxication diarrhéique bactérienne ou virale: diarrhées, vomissements, douleurs abdominales, rarement accompagnés de fièvre; pour ce qui concerne les pecténotoxines et les yessotoxines, les effets sur l'Homme ne sont pas clairement élucidés;
- les toxines de la famille de la saxitoxine (PSP) peuvent provoquer des atteintes neurologiques pouvant être mortelles, avec des symptômes variés dont: fourmillements des extrémités et nausées en cas d'intoxication bénigne, engourdissement des membres, troubles de la parole et difficultés respiratoires en cas d'intoxication modérée; paralysie respiratoire pouvant conduire très rapidement au décès, en cas d'intoxication sévère;
- les toxines de la famille de l'acide domoïque (ASP) peuvent conduire à des intoxications dont les symptômes sont à la fois gastro-intestinaux et neurologiques: nausées, vomissements, diarrhées dans les premières 24 heures, puis maux de tête, troubles de la mémoire dans les 48 heures, éventuellement convulsions, et coma suivi de décès dans les cas les plus graves.

Une autre famille de toxines est également surveillée depuis 2006 en Méditerranée, mais elle n'est pas actuellement réglementée: il s'agit des palytoxines, produites par le phytoplancton *Ostreopsis*. Outre les difficultés respiratoires et les irritations de la peau et des yeux après contact avec des embruns contaminés par cette micro-algue, les palytoxines peuvent provoquer des intoxications après consommation d'animaux marins contaminés, avec des symptômes gastro-intestinaux, neurologiques et cardio-vasculaires.

Stratégies d'échantillonnage

Pour répondre à ses objectifs, le REPHY doit assurer une double surveillance du phytoplancton dans l'eau de mer et des toxines dans les coquillages. Des prélèvements d'eau et de coquillages sont effectués sur un réseau de points de prélèvement répartis sur l'ensemble du littoral français [7]. Près de 500 points sont potentiellement échantillonnables.

Les prélèvements d'eau de mer sont effectués régulièrement entre une et deux fois par mois sur environ 140 points, afin d'observer l'ensemble du phytoplancton présent. Si une espèce toxique est détectée, des points supplémentaires sont échantillonnés dans la région concernée et les espèces en cause sont alors suivies une fois par semaine. Les observations du phytoplancton sont effectuées au microscope optique, et les différentes espèces phytoplanctoniques sont identifiées et dénombrées.

Les prélèvements de coquillages sont effectués selon une stratégie de surveillance qui se décline en deux grandes catégories:

- la recherche des toxines des familles de la saxitoxine et de l'acide domoïque (PSP et ASP) dans les coquillages est déclenchée en fonction des observations disponibles sur le phytoplancton. En effet, les genres producteurs, *Alexandrium* et *Pseudo-nitzschia*, ne contaminent les coquillages que si elles sont présentes à des concentrations importantes. La stratégie retenue est donc basée, dans ce cas, sur la détection dans l'eau des espèces toxiques au-delà d'un seuil défini par genre phytoplanctonique, qui déclenche la recherche des toxines correspondantes dans les coquillages. Cette stratégie est appliquée pour tous les sites proches de la côte, sur lesquels il est possible de prélever des échantillons d'eau;

(1) Certains laboratoires ont une double implantation géographique.

- la recherche systématique des toxines est appliquée dans tous les cas où le phytoplancton ne peut pas être un indicateur fiable. C'est le cas pour les toxines lipophiles produites par *Dinophysis*, qui contamine les coquillages le plus souvent à faible concentration. La stratégie consiste dans ce cas à suivre les toxines lipophiles dans les coquillages des zones à risque et pendant les périodes à risque: celles-ci sont définies à partir des données historiques sur les trois années précédentes. C'est aussi le cas pour les gisements au large (tous coquillages de pêche, tels que coquilles St-Jacques, palourdes roses, amandes, etc.), pour lesquels la distance de la côte et la profondeur ne permettent pas un échantillonnage représentatif en phytoplancton. La stratégie est alors basée sur une surveillance systématique des trois groupes de toxines, avant et pendant la période de pêche.

Les moules se contaminent plus vite que les autres coquillages lors des épisodes à toxines lipophiles, elles sont donc utilisées comme espèces sentinelles pour ces toxines dans les gisements côtiers. Ce n'est pas le cas pour les toxines des familles de la saxitoxine et de l'acide domoïque (PSP et ASP), pour lesquelles tous les coquillages doivent être échantillonnés simultanément, faute d'espèce sentinelle. La fréquence d'échantillonnage est dans tous les cas d'une fois par semaine.

Méthodes

La détection et la quantification des toxines dans les coquillages sont réalisées par les méthodes officielles d'analyse recommandées au niveau européen et relayées par le LNR de l'Anses au niveau national. Les seuils réglementaires, à ne pas dépasser pour que les coquillages soient considérés comme consommables, sont définis dans les textes réglementaires communautaires pour les phycotoxines. Ces méthodes et seuils sont décrits ci-après:

- pour la famille des toxines lipophiles, la méthode utilisée est la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (CL-SM/SM), la méthode officielle étant celle validée dans le cadre d'une étude de validation inter-laboratoires menée par les États membres et coordonnée par le laboratoire de référence de l'Union européenne pour les biotoxines marines; trois groupes de toxines lipophiles sont actuellement réglementés au niveau européen: AO+DTXs+PTXs (acide okadaïque + *Dinophysistoxines* + pecténotoxines) dont le seuil est égal à 160 µg/kg de chair de coquillage; AZAs (azaspiracides) avec un seuil égal à 160 µg/kg; YTXs (yessotoxines) avec un seuil égal à 1000 µg/kg; les toxines incriminées en France dans la contamination des coquillages au-dessus du seuil réglementaire appartiennent toujours jusqu'à présent au premier groupe, et plus particulièrement à l'acide okadaïque et aux *Dinophysistoxines*, connues pour être des substances à effet diarrhéique;
- pour la famille des toxines de la famille de la saxitoxine (PSP), la méthode est un bio-essai sur souris, avec un seuil réglementaire égal à 800 µg/kg de chair;
- pour la famille des toxines de la famille de l'acide domoïque ASP, la méthode utilisée est la chromatographie liquide couplée à une détection UV (CL/UV), avec un seuil réglementaire égal à 20 mg/kg de chair.

Pour les toxines lipophiles, les analyses chimiques ont remplacé le bio-essai sur souris au 1^{er} janvier 2010, mais ces méthodes n'étant pas toujours comparables [8], des bio-essais sont toujours réalisés sur onze points de prélèvement, dans le cadre d'un dispositif de vigilance. Celui-ci permet de poursuivre l'acquisition de données sur les substances toxiques pour les souris, avec pour objectif principal de détecter l'apparition de nouveaux analogues de toxines connues, ainsi que de toxines émergentes qui ne sont pas actuellement recherchées par analyse chimique.

La recherche des palytoxines est réalisée par analyse chimique CL-SM/SM.

Résultats

Dinophysis et toxines de la famille de l'acide okadaïque et des pecténotoxines

Depuis que le REPHY existe (1984), le schéma de développement de *Dinophysis* dans les eaux côtières est assez stable [9]: il est observé tous les ans en baie de Seine, sur la côte du Cotentin, en Bretagne ouest et sud, et dans les lagunes méditerranéennes du Languedoc-Roussillon et de Corse. Il est par contre beaucoup moins présent sur le littoral du nord de la France, de l'ouest Cotentin et de Bretagne nord.

Les résultats de contamination des coquillages par les toxines de la famille de l'acide okadaïque et des pecténotoxines pour l'année 2010 (Figure 2) suivent ce schéma global, avec une configuration relativement similaire aux années précédentes [10-12]. Ainsi, on peut observer une toxicité des coquillages presque tous les ans en baie de Seine, en Bretagne ouest et sud, dans le bassin d'Arcachon, dans l'étang de Salses Leucate en Languedoc-Roussillon, et dans les étangs corses de Diana et Urbino. À noter que les concentrations en toxines ont été très fortes (jusqu'à 20 fois le seuil réglementaire pour la famille de l'AO) en 2010 sur plusieurs espèces de coquillages en Bretagne. Les périodes de toxicité sont différentes selon les régions, et elles sont liées aux périodes de développement de *Dinophysis*: généralement à partir de mars-avril en Bretagne ouest et sud, à partir de juillet-août en Normandie, toute l'année en Méditerranée.

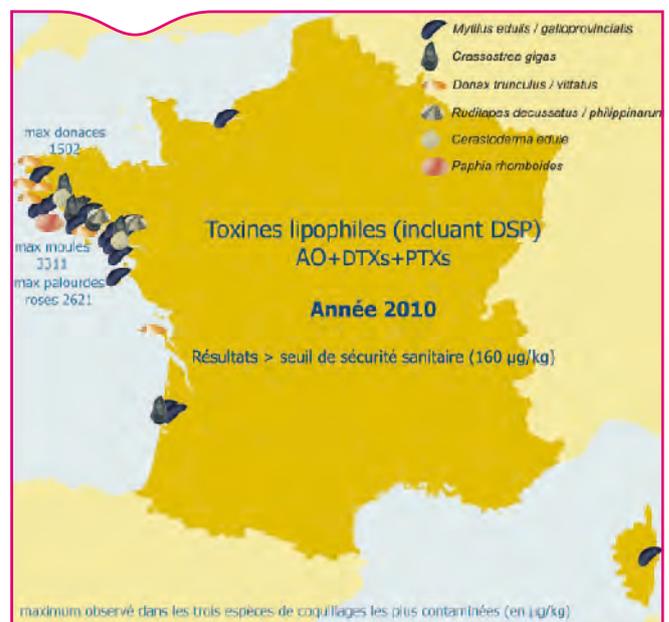


Figure 2. Zones et coquillages contaminés en 2010 par des toxines lipophiles appartenant au groupe AO+DTXs+PTXs (acide okadaïque + *Dinophysistoxines* + pecténotoxines). Résultats des analyses chimiques par CL-SM/SM (en µg d'équ. AO+PTX2/kg)

Alexandrium et toxines de la famille de la saxitoxine (ex-paralysantes, PSP)

Alexandrium peut être observé sur l'ensemble du littoral français, mais il ne prolifère que sur certaines zones, avec des configurations très variables d'une année à l'autre [9]. Ainsi, les deux principaux sites sur lesquels étaient recensées des concentrations élevées dans les années 1990 et au début des années 2000, c'est-à-dire l'estuaire de la Penzé en Bretagne nord-ouest, et l'étang de Thau en Languedoc, ne sont plus affectés par des proliférations importantes depuis quelques années.

Ces données sont cohérentes avec celles sur les toxines PSP qui ne sont pratiquement plus observées en France depuis 2005 [10-12]. Les résultats (Figure 3) montrent que deux zones seulement ont été touchées en 2010, avec des épisodes toxiques très courts et des concentrations en toxines de l'ordre de quatre fois le seuil réglementaire. Par comparaison, la décennie précédente avait connu des épisodes toxiques avec des niveaux de contaminations plus importants dans

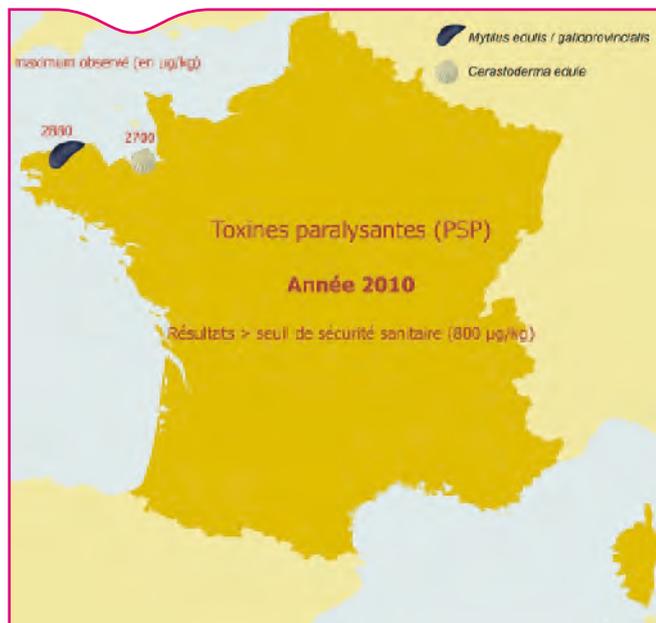


Figure 3. Zones et coquillages contaminés en 2010 par des toxines de la famille de la saxitoxine (PSP). Résultats des bio-essais sur souris (en µg d'équ. STX/kg)

les coquillages, par exemple: (i) en Bretagne nord-ouest (Abers et baie de Morlaix): 7000 µg/kg dans les huîtres en 2001, (ii) dans la Rance (Bretagne nord): 3300 µg/kg dans les coques en 1998, (iii) dans l'étang de Thau: de 3000 à 6000 µg/kg dans moules, huîtres, palourdes entre 2001 et 2004. À noter que les toxines de la famille de la saxitoxine ont été observées pour la première fois en France en 1988, et que depuis cette date, les épisodes toxiques ont toujours lieu en été en Bretagne, et en automne-hiver en Méditerranée.

Pseudo-nitzschia et toxines de la famille de l'acide domoïque (ex-amnésiantes, ASP)

Pseudo-nitzschia est observé tous les ans sur l'ensemble du littoral français, avec des concentrations maximales annuelles très importantes [9].

La première observation en France de toxines de la famille de l'acide domoïque date de 2000, et les épisodes toxiques ont affecté majoritairement les coquilles St-Jacques et les pétoncles jusqu'en 2009 [10-12] : tous les ans en Bretagne ouest et sud (rade de Brest et baie de Quiberon - Belle-île), et en baie de Seine en 2004-2005. Pendant cette période, certains autres coquillages furent occasionnellement affectés, par exemple en Bretagne ouest et sud (palourdes roses, donaces), ou sur la côte du Languedoc-Roussillon en 2006, avec des concentrations maximales comprises entre 20 et 80 mg/kg. Les résultats pour l'année 2010 (Figure 4), sont par contre tout à fait atypiques par rapport à ceux des années précédentes, avec une nouvelle région touchée (Pertuis charentais), une grande diversité de coquillages contaminés, et des records de concentrations en toxines (jusqu'à 213 mg/kg dans les coquilles St-Jacques). De façon générale, les périodes et durées de toxicité sont différentes selon les espèces de coquillages: période hivernale avec une durée potentiellement très longue (plusieurs mois) pour les coquilles St-Jacques, entre mars et mai et durée plus courte pour les autres coquillages.

Ostreopsis et palytoxines

Ostreopsis est observé essentiellement sur la côte est-Méditerranée et en Corse, majoritairement entre juin et septembre, avec des concentrations qui semblent augmenter sur la période 2006-2008. Outre les interdictions de baignade prises par précaution sur deux plages en 2008 (épisodes suivis par les organismes de santé), des palytoxines ont été détectées pour la première fois en France dans des organismes marins du littoral de Marseille et de Villefranche: oursins en 2008, puis oursins et moules en 2009.



Figure 4. Zones et coquillages contaminés en 2010 par des toxines de la famille de l'acide domoïque (ASP). Résultats des analyses chimiques par CL-UV (en mg d'équ. AD/kg)

Diffusion des résultats

Les résultats relatifs aux phytoplanctons toxiques et aux phycotoxines réglementées sont transmis chaque semaine aux administrations nationales (DGAL et DPMA) et régionales, ainsi qu'à l'Anses, l'InVS, et les organisations professionnelles (Comité national des pêches maritimes et des élevages marins, Comité national de la conchyliculture). La diffusion de ces résultats se fait actuellement par mail, mais elle se fera très prochainement sur un site WEB ouvert au public, avec une synthèse des épisodes en cours sur une carte de France, et un accès en temps réel aux bulletins de résultats.

Conclusion et perspectives

Le volet sanitaire du REPHY a beaucoup évolué depuis sa création en 1984. D'un réseau surveillant un seul groupe de toxines (les toxines diarrhéiques), dans des zones de production exclusivement côtières, avec des procédures et des méthodes non validées, on est passé à un réseau respectant les exigences réglementaires européennes, sous assurance qualité, surveillant quatre groupes de toxines, et s'étendant aux coquillages de pêche au large. Cette faculté d'adaptation aux nouvelles contraintes, aux nouvelles demandes et aux nouveaux événements, est certainement le meilleur atout du REPHY et le garant de sa pérennité.

Références bibliographiques

- [1] Règlement (CE) N°853/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 fixant les règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale.
- [2] Règlement (CE) N°854/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 fixant les règles spécifiques d'organisation des contrôles officiels concernant les produits d'origine animale.
- [3] Règlement (UE) N°15/2011 de la Commission du 10 janvier 2011 modifiant le règlement (CE) n° 2074/2005 (méthodes d'analyses pour les toxines lipophiles).
- [4] Règlement (CE) n° 1664/2006 de la Commission du 6 novembre 2006 modifiant le règlement (CE) n° 2074/2005 (méthodes d'analyses pour les toxines de la famille de la saxitoxine).
- [5] Règlement (CE) No 1244/2007 de la Commission du 24 octobre 2007 modifiant le règlement (CE) n° 2074/2005 (méthodes d'analyses pour les toxines de la famille de l'acide domoïque).
- [6] Belin C. (2011). Cahier de Procédures et de Programmation REPHY 2011. Document de prescription. Document Ifremer - RBE/EMP et ODE/DYNECO/VIGIES. <http://envlit.ifremer.fr/content/>

download/80835/552250/version/3/file/cahier_REPHY_2011.pdf

- [7] Léopold T. (2011). REPHY: inventaire cartographique des points de prélèvement. État des points dans la base de données Quadrigé² au 22 février 2011. Document Ifremer – ODE/DYNECO/VIGIES. http://envlit.ifremer.fr/content/download/80831/552200/version/2/file/inventaire_carto_REPHY_mars_2011.pdf
- [8] Belin C., Soudant D., Amzil Z. (2009). Surveillance des toxines lipophiles dans les coquillages. Analyses statistique et comparaison des résultats obtenus par deux méthodes d'analyse: les bio-essais sur souris et les analyses chimiques par CL-SM/SM. Rapport exécuté dans le cadre de la Convention Études DGAL/Ifremer, correspondant à la Subvention pour charges de service public, Programme 206, 97 p. <http://envlit.ifremer.fr/content/download/59904/428614/version/1/file/Rapport+toxines+lipophiles+V2+convention+DGAL+Ifremer+juillet+2009.pdf>
- [9] Le phytoplancton toxique sur le littoral français. Résultats du réseau de surveillance REPHY pour la période 2004-2008. Ifremer Environnement/ParamMaps. <http://envlit.ifremer.fr/var/envlit/>

storage/documents/parammaps/phytoplancton/index.html

- [10] Belin C., Amzil Z. (2010). Phycotoxin monitoring in France: risk-based strategy and main results (2006-2008). Proceedings of the seventh International Conference on Molluscan Shellfish Safety (ICMSS), Nantes, France, June 2009. Lassus P., Ed.: 149-156.
- [11] Marchand M., Amouroux I., Bédier E., Belin C., Claisse D., Durand G., Soudant D. (2009). Qualité du milieu marin littoral. Synthèse nationale de la surveillance. Édition 2009. 60 p. <http://envlit.ifremer.fr/content/download/63098/453099/version/1/file/SyntheseNationaleBullSurvED2009.pdf>
- [12] Marchand M., Amouroux I., Bédier E., Belin C., Claisse D., Daniel A., Denis J., Lampert L., Le Mao P., Maisonneuve C., Ropert M. (2010). Qualité du milieu marin littoral. Synthèse nationale de la surveillance. Édition 2010. Rapport RST.DYNECO/VIGIES/10.15. <http://envlit.ifremer.fr/content/download/80817/552085/version/3/file/SyntheseNationaleBullSurvED2010.pdf>

Erratum du Bulletin épidémiologique n° 43 – Spécial DOM-TOM

• Pages 31 et 35

Les auteurs des articles sur la brucellose porcine à Wallis et Futuna et sur la brucellose porcine en Polynésie française ont été malencontreusement inversés. La bonne correspondance entre articles et auteurs est la suivante.

Article page 31 – La brucellose porcine à Wallis et Futuna

Bruno Garin-Bastuji (1) (bruno.garin-bastuji@anses.fr), Benoit Durand (2), Jean-Paul Hautier (3,4), Valérie Campos (3,4)

- (1) Anses, Laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort, Laboratoire national de référence brucelloses
- (2) Anses, Laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort, Unité Épidémiologie
- (3) Service d'état de l'agriculture, de la forêt et de la pêche des îles de Wallis et Futuna - Bureau d'inspection vétérinaire, alimentaire et phytosanitaire du Territoire de Wallis et Futuna
- (4) Adresse actuelle: Direction générale de l'alimentation, Bureau des intrants et de la santé publique en élevage (J.-P. H.) - Direction départementale de la protection des populations de Charente-Maritime (V. C.)

Article page 35 – La brucellose porcine en Polynésie française

Valérie Antras (1) (valerie.antras@rural.gov.pf), Bruno Garin-Bastuji (2)

- (1) Département de la qualité alimentaire et de l'action vétérinaire (QAAV) service du développement rural, Pirae, Polynésie française
- (2) Anses, Laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort, Laboratoire national de référence des brucelloses animales, Centre national de référence des *Brucella*, Maisons-Alfort, France

• Page 59

Tableau Liste des maladies confirmées présentes au cours de l'année 2010 dans les DOM-TOM pour lesquelles cette information était disponible, la colonne concernant la Guyane est erronée.

En 2010, aucune maladie de la liste de l'OIE n'a été détectée et signalée à l'OIE pour la Guyane française.



Bilan de la première année de surveillance par analyse chimique des phycotoxines lipophiles réglementées dans les coquillages mis sur le marché

Sophie Trotereau (1) (sophie.trotereau@anses.fr), Pierre Velge (2), Sophie Krysz (1), Virginie Hossen (1)

(1) Anses, Laboratoire de sécurité des aliments de Maisons-Alfort, Laboratoire national de référence pour le contrôle des biotoxines marines

(2) Direction générale de l'alimentation, Bureau des produits de la mer et d'eau douce, Paris

Résumé

En 2010, un changement majeur est intervenu en France puisant l'analyse chimique par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) a remplacé le bioessai sur souris pour la surveillance officielle des phycotoxines lipophiles dans les coquillages. Ce changement résulte d'une décision du ministère de l'agriculture, de l'alimentation, de la pêche, de la ruralité et de l'aménagement du territoire par anticipation de l'application du règlement n° 15/2011 du 10 janvier 2011 dans lequel s'inscrit le changement de méthode de référence au niveau européen. Ainsi, de début 2010 à fin 2011, le Laboratoire national de référence pour le contrôle des biotoxines marines (LNR) est en charge de la réalisation du plan de surveillance de la DGAL (coquillages au stade de la mise sur le marché), des investigations de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) et des autocontrôles. En 2010, la surveillance des zones de production de coquillages a été réalisée par le laboratoire des phycotoxines (PHYC) de l'Ifremer Nantes. Depuis mai 2011, cette surveillance a été déployée au sein de trois laboratoires Ifremer : PHYC, Sète (LER-LR) et Concarneau (LER-CC). Cet article dresse les conclusions générales de cette première année de surveillance ciblée des toxines lipophiles par LC-MS/MS pour les coquillages mis sur le marché.

Mots clés

Toxines lipophiles, analyse LC/MS, coquillages, plan de surveillance

Abstract

The first year of chemical analysis surveillance for regulated lipophilic phycotoxins in shellfish on the market: a review
By decision of the competent authorities, a physico-chemical analytical method was integrated in the French monitoring programme on 1st January 2010 to replace the mouse bioassay method. This decision was taken before the entry into force of Commission Regulation (EU) no. 15/2011 of 10th January 2011, which defines the LC-MS/MS method as the reference method to be used for lipophilic toxin analysis at the EU level. Thus, from the beginning of 2010 to the end of 2011, the lipophilic toxins monitoring programme relied on a limited number of national laboratories; on the one hand, the ANSES NRL carried out analyses for the monitoring programme determined by the General Directorate for Food (shellfish on the market), analyses emanating from professional self-controls and analyses related to food poisoning investigations. On the other hand, Ifremer laboratories were in charge of the analyses carried out in shellfish production areas (the Phycotoxins laboratory of Nantes from 2010 to May 2011 and then Ifremer Sète and Concarneau from May 2011). This article presents the conclusions of this first year of targeted monitoring of lipophilic toxins by LC-MS/MS.

Keywords

Lipophilic toxins, LC/MS-MS analysis, shellfish, monitoring plan

Le règlement n° 15/2011 du 10 janvier 2011 introduit une nouvelle approche analytique pour les toxines lipophiles; la méthode LC/MS-MS validée aux niveaux national et européen [1] s'applique aux quatre familles de toxines réglementées. Cette modification amende ainsi le règlement n° 2074/2005 du 5 décembre 2005 et officialise le remplacement du bioessai sur souris en tant que méthode de référence [2, 3]. Le bioessai sur souris reflète la toxicité globale d'un échantillon alors que l'analyse chimique cible certaines toxines et permet de déterminer son profil toxinique [4]. La teneur en toxines contenue dans l'échantillon, exprimée en équivalent par rapport à la molécule principale de la famille, est alors déterminée en prenant en compte la toxicité relative de chacun des analogues présents au travers de l'application de facteurs d'équivalence toxique proposés par l'EFSA [5] (Tableau 1).

Tableau 1. Familles de toxines réglementées, analogues recherchés et seuils réglementaires associés

Famille	Toxines réglementées, analogues recherchés	Seuils réglementaires
Acide okadaïque et ses analogues : AO, DTX	AO, DTX1, DTX2, DTX3	160 µg éq. AO /kg chair
Pecténotoxines : PTX	PTX1, PTX2	
Azaspiracides : AZA	AZA1, AZA2, AZA3	160 µg éq. AZA1/kg chair
Yessotoxines : YTX	YTX, 45OH YTX, homo YTX, homo 45OH YTX	1000 µg éq. YTX/kg chair

La méthode permet par ailleurs de quantifier certaines toxines non réglementées⁽¹⁾ afin d'acquies des données concernant leur présence dans les coquillages mis sur le marché en France (production nationale et importation).

Bilan des analyses de toxines lipophiles réalisées par le LNR

Parmi les 607 échantillons analysés par le LNR en 2010, 447 ont été analysés dans le cadre du plan de surveillance (PS) de la DGAL, une quinzaine sont des échantillons prélevés suite à des suspicions de TIAC et enfin 145 correspondent à des demandes d'autocontrôles. La Figure 1 présente la répartition mensuelle des échantillons.

Le pic d'activité observé au mois de décembre correspond majoritairement à l'analyse d'huîtres, en relation avec leur niveau élevé de consommation en cette période de l'année.

En ce qui concerne les échantillons prélevés par les DDPP dans le cadre du PS, on note une répartition homogène entre les huîtres, les moules et les pectinidés (respectivement 34 %, 33 % et 29 %) tandis que 4 % des analyses ont été faites sur d'autres coquillages plus rares sur le marché, tels les amandes de mer, praires ou palourdes (Figure 2). Cette répartition répond aux prescriptions de la note de service [6].

Par ailleurs, les moules constituent la majorité des 15 échantillons reçus dans le cadre de suspicion de TIAC.

(1) Gymnodimine GYM, pecténotoxine PTX2sa et spiroïdes SPX 13desMe C, SPXA, SPXB, SPXC et SPXD.

Pour le PS comme pour l'investigation de TIAC, les échantillons sont répartis de manière équilibrée entre les productions nationale et non nationale (Chili, Espagne, Irlande, Hollande notamment).

Sur l'ensemble des 462 analyses du PS et d'investigation de TIAC, seules quatre ont été trouvées supérieures aux seuils réglementaires (160 µg eq.AO/kg, 160 µg eq.AZA/kg et 1 mg eq.YTX/kg). Les informations relatives à ces échantillons sont présentées dans le [Tableau 2](#).

Résultats obtenus dans le cadre du plan de surveillance de la DGAL

À l'exception d'un échantillon de moules, tous les échantillons analysés dans le cadre du PS ont donné des résultats inférieurs aux seuils de salubrité. Ce taux de conformité de 99,8 % indique une situation très favorable de la situation sanitaire des coquillages vis-à-vis du risque toxique. L'échantillon de moules trouvé non conforme contenait une concentration en acide okadaïque environ trois fois supérieure au seuil réglementaire (531 µg OA/kg). Cet échantillon a été prélevé le 23 juin 2010 (semaine n) dans l'estuaire de la Loire. Les analyses REPHY réalisées en semaines n-1 et n n'ont pas révélé la présence de *Dinophysis*⁽²⁾ dans l'eau. S'agissant d'une zone et d'une période qui ne sont pas à risques, la présence de toxines dans les coquillages provenant de cette zone n'a pas été recherchée. Néanmoins, en semaine n, les analyses des moules d'une zone adjacente ont révélé une contamination à un niveau supérieur au seuil de salubrité (174 µg eq.AO/kg vs seuil de 160 µg eq.AO/kg), ce qui permettrait de comprendre la survenue de cet épisode. Trois foyers de TIAC ont été identifiés durant cette même période suite à la consommation de moules provenant de la zone de l'estuaire de la Loire. Cependant, la survenue de ces TIAC n'a pas pu être corrélée à la présence de toxines lipophiles car les lots consommés n'étaient plus disponibles.

Cette méthode chimique permet de déterminer les niveaux de contamination de chacune des toxines ciblées dans les coquillages. Ils constituent des données essentielles pour la détermination de l'exposition du consommateur. Le [Tableau 3](#) montre la répartition des diverses catégories de coquillages en fonction de six niveaux de contamination en acide okadaïque et analogues (AO + DTX).

Ces données permettent de constater que la grande majorité (≥ 80 %) des coquillages contiennent des teneurs inférieures ou égales à la limite de détection en toxines du groupe de l'acide okadaïque et analogues. Par ailleurs, les moules constituent la catégorie de coquillages qui présente les niveaux de contamination les plus élevés. Cela tend à confirmer les données de la littérature selon laquelle les moules ont une plus grande capacité à bio-accumuler ces toxines, de par leur grande capacité de filtration. Ces tendances devront être confirmées par les résultats des futurs PS.

Résultats obtenus dans le cadre d'investigations de TIAC

Sur les 15 échantillons reçus, cinq présentaient des quantités en toxines inférieures à la limite de détection, sept contenaient des teneurs en toxines à un niveau très inférieur aux seuils réglementaires (3/15 contiennent de 30 à 40 µg eq.AO/kg et 2/15 contiennent respectivement 2 deux et 12 µg eq.AZA/kg) ou des niveaux faibles de spirolides (3 trois et 13 µg eq.SPX/kg) et enfin, trois ont été trouvés supérieurs au seuil de salubrité pour la famille de l'acide okadaïque. Ces trois lots ont été incriminés dans 31 foyers de TIAC impliquant 246 malades recensés en France suite à la consommation de moules en provenance d'Espagne (Galice). Ces TIAC ont fait l'objet d'une alerte communautaire (RASFF Alert 2010.1226). L'analyse chimique de ces échantillons a révélé la présence d'acide okadaïque à un niveau trois fois supérieur au seuil de salubrité. Une étude de cohorte effectuée par l'InVS sur un des foyers impliquant le plus grand nombre de malades

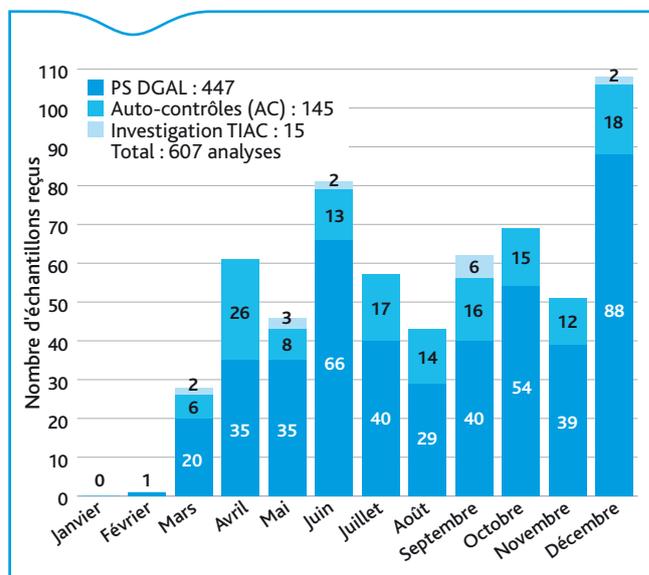


Figure 1. Répartition mensuelle des prélèvements pour recherche des toxines lipophiles par analyse chimique LC-MS/MS au cours de l'année 2010

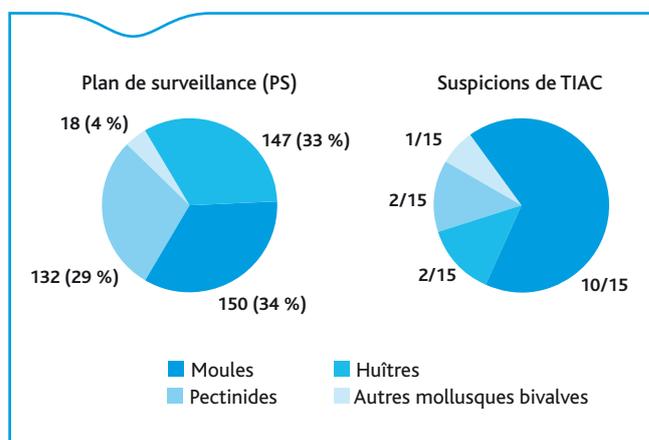


Figure 2. Répartition des échantillons du plan de surveillance et des suspicions de TIAC par type de coquillage

Tableau 2. Échantillons identifiés non conformes en 2010

Type de coquillages et cadre de l'analyse	Date de prélèvement	Origine	Résultats
Moules PS 2010	23 juin 2010	France, Zone 60 Banc du Nord	531,4 µg AO/kg chair 26,6 µg SPX13desMeC**/kg chair Autres toxines ≤ LD*
Moules TIAC	9 septembre 2010 Lots impliqués dans 31 foyers de TIAC (cf. paragraphe sur les résultats obtenus dans le cadre d'investigations de TIAC)	Espagne, Galice	Lot n° 1 : 533,6 µg AO/kg chair 1,1 µg SPX13desMeC/kg chair PTX2sa = 5,7 µg PTX2/kg chair Autres toxines ≤ LD
			Lot n° 2 : 505,6 µg AO/kg chair 1,2 µg SPX13desMeC/kg chair Autres toxines ≤ LD
			Lot n° 3 : 463,6 µg AO/kg chair 1,4 µg SPX13desMeC/kg chair Autres toxines ≤ LD

* LD: limite de détection.

** Analogue de spirolides, famille de toxines non réglementée.

(2) Genre phytoplanctonique producteur d'acide okadaïque.

Tableau 3. Niveaux de concentration en acide okadaïque et de ses analogues dans le cadre du plan de surveillance 2010

Catégories de coquillages		Concentration AO + DTX* (µg/kg chair) (Données PS 2010)					
		≤ LD**	≥ LD et < LQ***	≥ LQ et < 10 (2LQ)	≥ 10 et < 45	≥ 45 et < 160	≥ 160 Seuil réglementaire
Moules	n = 147	117	9	8	10	2	1
	%	79,6 %	6,1 %	5,4 %	6,8 %	1,4 %	0,7 %
Huîtres	n = 150	140	2	4	4	0	0
	%	93,3 %	1,3 %	2,7 %	2,7 %	0,0 %	0,0 %
Coquilles St-Jacques	n = 132	130	1	1	0	0	0
	%	98,5 %	0,8 %	0,8 %	0,0 %	0,0 %	0,0 %
Autres bivalves	n = 18	16	1	1	0	0	0
	%	88,9 %	5,6 %	5,6 %	0,0 %	0,0 %	0,0 %

* Acide okadaïque et analogues. ** LD : limite de détection. *** LQ : limite de quantification.

a permis de montrer un lien statistiquement significatif entre la consommation de moules et les symptômes observés. Les résultats d'analyses effectuées au LNR, associés à l'enquête épidémiologique, ont donc confirmé le lien entre les TIAC et la consommation de moules de Galice. En outre, les mesures prises par les autorités françaises ont été efficaces car aucune TIAC n'a été signalée après le retrait de vente de ces produits.

Aucun des 145 échantillons analysés dans le cadre des autocontrôles n'a été trouvé supérieur aux seuils de salubrité.

Conclusion

Le bilan de cette première année de surveillance officielle des toxines lipophiles par LC-MS/MS montre que le nombre d'échantillons mis sur le marché présentant un niveau de toxines supérieur aux seuils de salubrité ou ayant été prouvé comme responsable d'une TIAC est resté stable par rapport aux années précédentes où le bioessai était utilisé dans le cadre de la surveillance officielle. Les résultats obtenus par le LNR au travers des analyses du PS de la DGAL ainsi que des analyses de TIAC montrent que le dispositif national de surveillance, basé sur un premier niveau de surveillance des zones de production par l'Ifremer et sur un second niveau de surveillance de l'ensemble des produits mis sur le marché (origine nationale ou non), apporte un niveau élevé de protection du consommateur. En effet, sur l'échantillonnage du PS (447 échantillons analysés), un seul échantillon prélevé au stade de la mise sur le marché (0,2 %) s'est révélé contenir des toxines à un niveau supérieur au seuil de salubrité. D'autre part, le nombre d'échantillons impliqués dans des cas confirmés de TIAC est faible (3/15 échantillons) et stable par rapport aux années précédentes. Enfin, aucun échantillon de coquillages français n'a été impliqué dans des cas de TIAC confirmant l'efficacité du dispositif national de surveillance et en particulier de la surveillance en amont des zones de production.

Par ailleurs, il est important de noter que le bio-essai sur souris reste utilisé en France dans deux domaines.

Une fois par mois, dans le cadre du dispositif complémentaire de vigilance [7] mis en place au niveau national, dix échantillons de moules provenant de dix points de référence situés le long du littoral français, sont analysés par le bio-essai sur souris en complément de l'analyse chimique et de l'examen du phytoplancton dans l'eau. L'objectif est de pouvoir détecter l'apparition d'une nouvelle toxine non recherchée par la méthode LC-MS/MS.

Le bio-essai souris reste également la méthode de détection officielle pour les analyses de toxines de la famille de la STX (PSP, *paralytic shellfish poisoning*) dans les coquillages.

Enfin, en 2011, le LNR continuera à réaliser les analyses des toxines lipophiles du PS, des TIAC ainsi que des autocontrôles. Au cours de l'année 2012, ces analyses seront transférées à un réseau de laboratoires agréés pour ces analyses.

Remerciements

Les auteurs remercient chaleureusement Céline Alvès, Mylène Benoit, Sarah El Ksiri et Vincent Hort pour leur contribution importante à ce travail.

Références bibliographiques

- [1] EU-Harmonised Standard Operating Procedure for determination of Lipophilic marine biotoxins in molluscs by LC-MS/MS http://www.aesan.msps.es/en/CRLMB/web/procedimientos_crlmb/crlmb_standard_operating_procedures.shtml
- [2] Règlement (CE) n° 15/2011 de la Commission du 10 janvier 2011 amendant le règlement n° 2074/2005. *Journal officiel de l'Union européenne*, L6:3-6.
- [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. *Journal officiel de l'Union européenne* L139:55
- [4] Kryš S., Hossen V., Trotereau S., Biré R. (2010). Biotoxines marines lipophiles, évolution des modalités de surveillance des coquillages, mise en place d'une méthode chimique en complément du bio-essai sur souris, *EuroReference*, n°3, ER03-10M01.
- [5] EFSA. 2009. Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain on a request from the european commission on marine biotoxins in shellfish – Summary on regulated marine biotoxins. *The EFSA Journal*, 1306: 1-23.
- [6] Note de service DGAL/SDQA/SDSSA/N2009-8331 du 15 décembre 2009 relative à la mise en oeuvre du plan de surveillance des phycotoxines et des contaminants chimiques dans les mollusques bivalves au titre de l'année 2010.
- [7] Afssa. Saisine 2009-SA-0205 du 4 décembre 2009. Avis relatif au dispositif de surveillance des phycotoxines lipophiles dans les zones conchylicoles concernant la détermination des périodes à risque et des points de référence.

Surveillance des contaminations en polychlorobiphényles (PCB) des poissons d'eau douce : méthodologie, résultats et perspectives

Aurélie Mahé (aurelie.mahe@anses.fr), Mathilde Merlo, Jean-Luc Volatier, Jean-Charles Leblanc
Anses, Direction de l'évaluation des risques, Maisons-Alfort

Résumé

Depuis 2005, on observe de façon récurrente des dépassements des limites réglementaires communautaires en dioxines et PCB de type dioxine (PCB « dioxin-like » : PCB-DL) dans les poissons pêchés dans plusieurs cours d'eau, lacs et estuaires français. Leur destination à la consommation a conduit à la mise en œuvre en février 2008, par les ministères chargés de l'agriculture, de l'écologie, et de la santé, d'un plan national d'action sur les PCB. Ce plan d'action inclut différents travaux destinés à améliorer les connaissances scientifiques relatives aux PCB, et notamment leur devenir dans les milieux aquatiques. Dans ce cadre, un plan national de surveillance, basé sur un échantillonnage de poissons d'eau douce a été mis en place dans le but de décrire la contamination en PCB des poissons. Un renforcement des plans de contrôle orientés mis en œuvre par le ministère de l'agriculture sur les poissons d'eau douce a également été engagé en 2008. Dans ce cadre, l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) a pour rôle de proposer une méthodologie d'échantillonnage concernant le plan national et d'interpréter l'ensemble des données collectées par les différents plans afin d'identifier les secteurs où les poissons sont impropres à la consommation. Après trois ans d'échantillonnage, un bilan sera réalisé en 2011 afin de proposer une méthodologie adaptée.

Mots clés

PCB, poissons d'eau douce, interprétation sanitaire, plan national de surveillance

Abstract

Surveillance of polychlorinated biphenyl (PCB) contamination in freshwater fish: methodology, results and outlook

Since 2005, dioxins and DL-PCBs have been observed in freshwater fish in excess of the European regulatory levels in several French rivers, lakes and estuaries. The Ministries of Health, Agriculture and the Environment therefore launched a national plan of action in February 2008. This plan includes several studies in order to improve scientific knowledge relating to PCBs, particularly in aquatic environments. Therefore, a national freshwater fish monitoring program was set up in order to describe PCB contamination in freshwater fish. A national freshwater fish monitoring plan was also set up by the Ministry of Agriculture in 2008. In this context, the missions of the French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety are to propose a sampling methodology for the national monitoring plan and to analyze data obtained with the different plans in order to describe rivers where fish should not be consumed. An assessment of the three years of monitoring will also be proposed in 2011.

Keywords

PCB, freshwater fish, health interpretation, national monitoring program

Largement utilisés à partir des années 1930 pour leurs propriétés isolantes, les polychlorobiphényles (PCB) sont aujourd'hui interdits en France. Cependant, compte tenu de leur persistance dans l'environnement, il existe un bruit de fond environnemental au niveau international. Substances lipophiles, les PCB s'accumulent dans les tissus graisseux des animaux, notamment des poissons. L'alimentation représente 90 % de l'exposition aux PCB de la population humaine générale [1]. Depuis plusieurs années, la question d'une pollution des cours d'eau français par les PCB et de son impact sur la population est posée. De nombreuses non-conformités des espèces de poissons bio-accumulatrices de PCB telles que l'anguille, le barbeau ou la brème ont été constatées dans plusieurs fleuves ou rivières tels que le Rhône, la Seine, la Somme. Il s'agit de non-conformités par rapport aux teneurs maximales en dioxines et PCB de type dioxine (PCB-DL) autorisées dans les poissons de rivière destinés à la commercialisation et à la consommation et décrites dans la réglementation européenne [2]. Pour les anguilles, la limite réglementaire est fixée à 12 pg TEQ_{OMS98}/g de poids frais⁽¹⁾. Pour les autres espèces de poissons d'eau douce, la limite réglementaire est fixée à 8 pg TEQ_{OMS98}/g de poids frais. Afin d'aider le gestionnaire du risque à définir des mesures appropriées de gestion de la consommation de ces poissons, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a proposé dans deux avis successifs, le 5 février 2008 et le 13 mai 2009, une méthodologie

de mise en œuvre des plans de surveillance des poissons de rivière applicable au niveau national [3, 4]. Ces plans s'inscrivent dans le cadre du plan national d'action sur les PCB, lancé le 6 février 2008 par les ministères en charge de l'agriculture, de l'écologie et de la santé et qui prévoit la collecte de données de contamination des poissons de rivière pendant trois années (2008, 2009, 2010). Par ailleurs, des plans de contrôle orientés réalisés par la Direction générale de l'alimentation (DGAL) ainsi que des plans locaux ont également permis de disposer de davantage de données. L'objectif de l'Anses est alors de procéder à l'interprétation sanitaire de l'ensemble des données de contamination par bassin hydrographique afin d'identifier les secteurs où les poissons sont impropres à la consommation.

Méthodes et résultats des plans de surveillance et de contrôle

Plan national de surveillance, plans de contrôle et plans locaux

Le plan de surveillance, d'une durée de trois ans, a été réalisé par l'Office national de l'eau et des milieux aquatiques (ONEMA) et vise à décrire le niveau de contamination des poissons de rivière. Il a été complété par la DGAL (plan 2008 de contrôle orienté visant à faire des contrôles sur les poissons pouvant être commercialisés et consommés et plans

(1) Les teneurs maximales sont exprimées pour la somme des dioxines (polychlorodibenzo-para-dioxines), des furanes (polychlorodibenzo-para-furanes) et des PCB de type dioxine (PCB-DL), en équivalents toxiques de l'Organisation mondiale de la santé (TEQ-OMS), après application des facteurs d'équivalence toxique (TEF-OMS) propres à chaque congénère. La somme (dioxines/furanes+PCB-DL) est exprimée en Total TEQ.

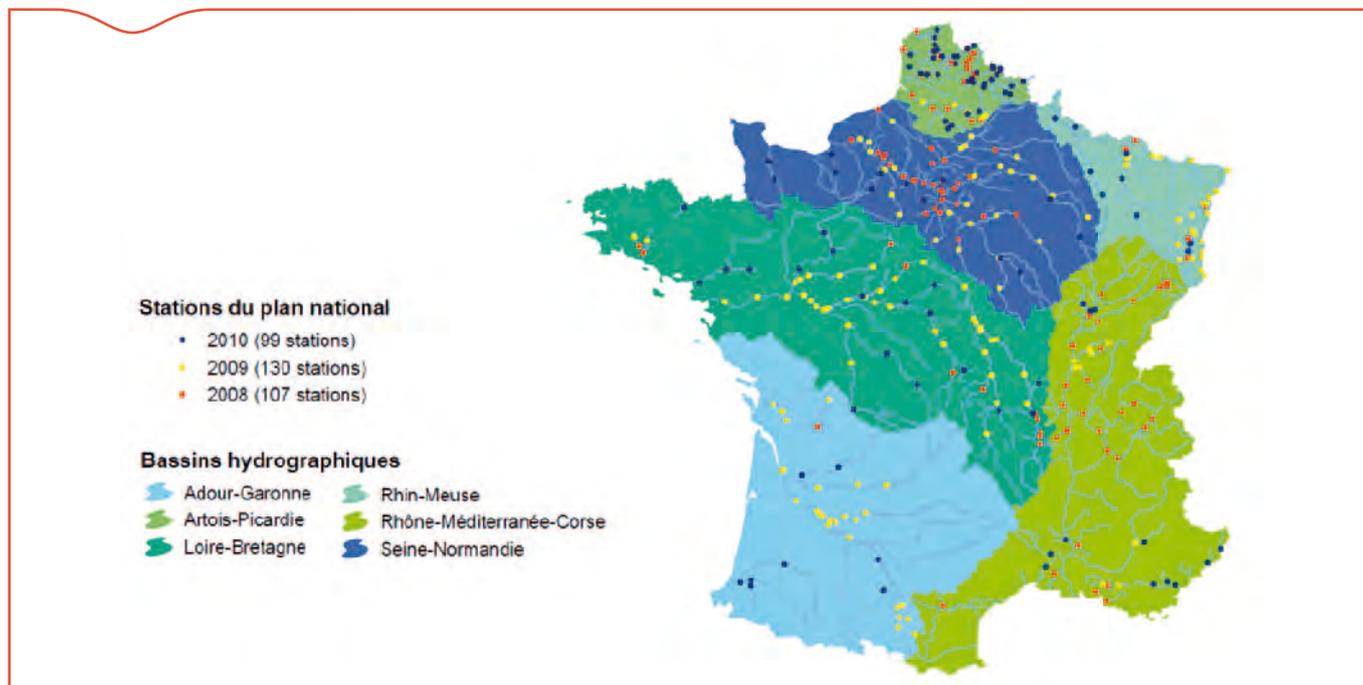


Figure 1. Répartition des stations participant au plan national de surveillance Anses-ONEMA des PCB

spécifiques lorsque des dépassements de la limite réglementaire sont observés, ou lorsqu'il y a une suspicion de contamination, dans les zones de pêche professionnelle insuffisamment couvertes par le plan national) et par la Direction régionale de l'environnement, de l'aménagement et du logement (DREAL) Rhône-Alpes (« plans diagnostic fin »). La méthodologie du plan national de surveillance Anses-ONEMA, proposée par l'Anses [3, 4], concerne notamment la sélection des stations de prélèvements, des espèces et des substances à analyser et les modalités d'interprétation des données. Cette interprétation est réalisée par l'Anses dans le cadre de son groupe d'expertise collective d'urgence (GECU) « Évaluation des risques liés aux PCB dans l'alimentation humaine et animale ». Cette méthodologie est décrite ci-dessous. Elle est aussi celle retenue pour les plans de contrôle orientés de la DGAL et les plans de diagnostic fin de la DREAL Rhône-Alpes qui poursuivent des objectifs similaires de ceux du plan ONEMA.

Sélection des stations de prélèvements

Le plan de surveillance Anses-ONEMA prévoit l'investigation d'environ cent stations de prélèvements chaque année. Plusieurs critères ont été pris en compte pour la sélection des stations. Les stations présentant une forte contamination en PCB dans les sédiments et/ou proches de sources de pollution connues ont d'abord été sélectionnées. Les compléments ont ensuite été réalisés dans les zones où une activité de pêche professionnelle existe ou dans les cours d'eau où des données manquaient. Plus de 300 stations de prélèvements (Figure 1) sont réparties dans les six bassins hydrographiques. Les premières stations échantillonnées (en 2008) sont celles où les teneurs en PCB dans les sédiments sont les plus élevées (> 140 ng/g de matière sèche), il s'agit principalement des bassins Seine-Normandie, Artois-Picardie et Rhône-Méditerranée. En 2009 et 2010, la présence d'une activité de pêche professionnelle ou de sources de pollution a également servi de critère de sélection des stations.

Sélection des substances

Les analyses portent sur les dioxines et furanes (17 congénères (molécules appartenant à la même famille)), les PCB de type dioxine (PCB-DL, 12 congénères), et les PCB de type non-dioxine (PCB-NDL, 6 congénères). Contrairement aux dioxines, furanes et PCB-DL, les PCB-NDL ne sont pas réglementés.

Sélection/classification des espèces

Toutes les espèces de poissons ne présentent pas la même capacité

de bio-accumulation des PCB car celle-ci dépend de plusieurs critères dont l'habitat, l'alimentation, la teneur en matières grasses des poissons. Par exemple, les fortes contaminations de poissons d'eau douce sont généralement liées à des contaminations élevées des sédiments ou de la vase dans lesquels ces poissons cherchent à s'alimenter. Le degré de contamination des poissons dans un cours d'eau donné peut ainsi être approché par l'analyse de trois types d'espèces : les anguilles, les espèces fortement bio-accumulatrices (plutôt grasses et/ou de type benthique (vivant à proximité du fond)) et les espèces faiblement bio-accumulatrices (plutôt maigres et/ou de type pélagique (vivant en pleine eau)). L'appartenance d'une espèce à un type est le résultat d'une classification tenant compte de la contamination moyenne en dioxines et PCB-DL et du taux de matières grasses (MG) (compte tenu des caractéristiques lipophiles des PCB). Dans son avis du 13 mai 2009 [4], l'Afssa distingue donc, sur la base de 1880 données (Tableau 1) :

- les anguilles, espèces dites grasses présentant des valeurs élevées de concentration en Total TEQ ;
- les espèces fortement bio-accumulatrices, moins grasses et présentant également des valeurs élevées de contamination en Total TEQ (brèmes, silures, etc.) ;
- les espèces faiblement bio-accumulatrices présentant des valeurs moins élevées de contamination en Total TEQ (sandres, brochets, etc.).

Les anguilles constituent à elles seules un type d'espèce, en raison d'une limite réglementaire spécifique et de leur caractère migrateur. L'intérêt de la classification est de proposer des recommandations par types d'espèces plutôt que par espèce et ainsi de simplifier les mesures de gestion. La méthodologie d'échantillonnage prévoit le prélèvement de cinq anguilles (ou espèces fortement bio-accumulatrices le cas échéant) et de cinq espèces faiblement bio-accumulatrices, par station de prélèvements. Un grand nombre de variables par analyse est ainsi disponible dont le nom, la masse et le taux de matière grasse de l'espèce, la station de prélèvements, et les teneurs pour chaque congénère des dioxines, furanes, PCB-DL et PCB-NDL.

Bilan des données disponibles et résultats descriptifs

L'investigation des 336 stations du plan national de surveillance Anses-ONEMA, et les données des plans de contrôle orientés de la DGAL et de diagnostic fin de la DREAL Rhône-Alpes ont permis l'acquisition d'environ 5700 analyses en PCB (2831 données du plan Anses-

Tableau 1. Statistiques descriptives par espèce proposées dans l'avis de l'Afssa du 13 mai 2009 [4] pour la classification des espèces

Espèce	Nombre d'échantillons	Taux de MG (moyenne, %)	Total TEQ = dioxines/furane + PCB-DL (pg TEQ _{OMS98} /g PF)					
			moyenne	écart-type	min	max	médiane	P95
Sandre	106	0,5	2,7	4,7	0,1	41,7	1,5	7,9
Brochet	90	0,6	3,2	4,2	0,1	27,2	1,7	10,4
Perche	137	1,0	3,6	7,7	0,1	84,0	1,9	8,8
Carassin	26	2,3	5,0	4,0	0,5	13,6	4,1	13,2
Hotu	63	4,2	6,3	15,4	0,2	122,3	3,9	11,2
Goujon	25	2,1	6,3	4,4	0,5	15,2	5,7	14,7
Gardon	295	1,9	6,8	7,4	0,1	55,5	4,5	24,4
Tanche	24	1,8	7,0	6,4	0,2	21,3	5,2	18,7
Chevesne	199	2,5	8,0	13,8	0,2	113,3	3,7	28,3
Brème	159	3,2	15,3	14,7	0,3	78,4	10,3	43,8
Silure	51	2,9	18,5	52,5	0,4	367,7	9,0	58,9
Carpe	76	6,4	25,3	31,2	0,1	150,2	14,6	95,7
Barbeau	133	3,3	30,6	68,3	1,2	651,3	13,6	106,7
Anguille	379	19,2	32,1	41,8	0,3	313,7	18,0	127,9
Total	1763							

Légende : P95 = valeur telle que 95 % des valeurs de contamination sont en dessous et 5 % au dessus.
Cases colorées en rouge clair = espèces faiblement bio-accumulatrices, cases colorées en rouge foncé = espèces fortement bio-accumulatrices.

Tableau 2. Description des contaminations en dioxine et PCB-DL pour les années 2008, 2009 et 2010 (moyennes et intervalles de confiance à 95 % en pg TEQ_{OMS98}/g de poids frais) pour les trois types d'espèces (anguilles, espèces fortement bio-accumulatrices (BA) et faiblement bio-accumulatrices) dans les différents bassins hydrographiques

Bassin	Anguille*		Espèces fortement BA**		Espèces faiblement BA**	
			Brèmes, silures, carpes, barbeaux		Sandres, brochets, perches, carassins, hotus, goujons, gardons, tanches, chevesnes	
	nb	moy [IC-95%]	nb	moy [IC-95%]	nb	moy [IC-95%]
Adour-Garonne	105	10,1 [8,6;11,7]	66	2,8 [2,1;3,4]	119	1,2 [1,0;1,3]
Artois-Picardie	194	36,0 [30,6;41,4]	88	9,8 [7,5;12,1]	260	4,1 [3,5;4,7]
Loire-Bretagne	164	33,6 [8,6;58,6]	231	10,1 [7,3;12,8]	348	2,5 [2,0;3,0]
Rhin-Meuse	72	26,4 [23,3;29,3]	46	5,2 [4,0;6,4]	175	3,1 [2,6;3,6]
Rhône-Méditerranée	216	16,1 [12,6;19,7]	713	15,6 [12,6;18,6]	1413	4,9 [4,3;5,6]
Seine-Normandie	177	42,2 [35,9;48,4]	94	14,7 [10,4;19,0]	284	5,3 [4,4;6,2]
Total	928	28,5 [23,6;33,3]	1238	13,0 [11,2;14,8]	2599	4,3 [3,9;4,6]

* Limite réglementaire fixée à 12 pg TEQ_{OMS98}/g de poids frais.
** Limite réglementaire fixée à 8 pg TEQ_{OMS98}/g de poids frais.

ONEMA, 1 312 données des plans de contrôle orientés et spécifiques de la DGAL et 1 551 données des plans « diagnostic fin » de la DREAL Rhône-Alpes). Le bassin Rhône-Méditerranée présente un grand nombre d'analyses (n=3 056), en raison de la réalisation des plans de diagnostic fin par la DREAL Rhône-Alpes.

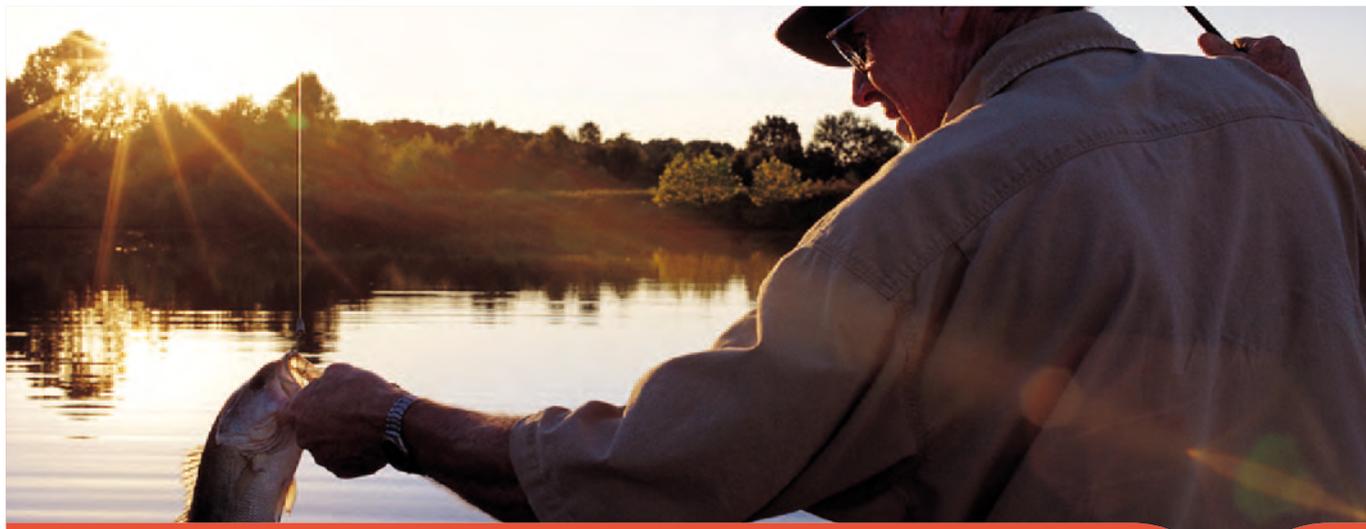
En considérant les trois types d'espèces définies par l'Anses, près de 4 800 analyses (2 556 données du plan Anses-ONEMA, 1 008 données des plans de contrôle orientés et spécifiques de la DGAL et 1 201 données des plans « diagnostic fin » de la DREAL Rhône-Alpes) sont disponibles pour les années 2008, 2009 et 2010.

Au niveau des bassins hydrographiques, les anguilles apparaissent comme étant les plus contaminées; d'après les moyennes issues de la description des contaminations en dioxines et PCB-DL (Tableau 2), les niveaux sont au-dessus de la limite réglementaire pour tous les bassins à l'exception du bassin Adour-Garonne. Comme attendu, les espèces faiblement bio-accumulatrices apparaissent comme étant les moins contaminées pour tous les bassins. Sur la base des espèces faiblement et fortement bio-accumulatrices, il apparaît que les bassins Seine-Normandie et Rhône-Méditerranée sont les plus contaminés. Sur la base des anguilles, les bassins Artois-Picardie et Seine-Normandie apparaissent comme les plus contaminés.

Modalités d'interprétation des données de contamination des poissons de rivière

La toxicité des PCB est liée à leur accumulation progressive dans l'organisme au cours du temps. La question posée est celle de l'impact à long terme d'une exposition chronique. Aussi, l'objectif n'est pas de vérifier la conformité de chacun des prélèvements comme dans le cadre des contrôles officiels mais d'estimer une contamination moyenne. Cette interprétation est conduite par secteur hydrographique pertinent à l'intérieur d'un bassin hydrographique en s'assurant de l'homogénéité des niveaux de contamination dans ce secteur.

Cette estimation est réalisée par une analyse multivariée de type régression linéaire généralisée lognormale [5], permettant d'analyser simultanément plusieurs variables (type d'espèce, secteur de prélèvements et masse/taille). Les estimations des moyennes de contamination en dioxines et PCB-DL et leurs intervalles de confiance à 95 % sont ensuite comparés aux limites réglementaires européennes. Un secteur de prélèvement correspond à un cours d'eau ou une partie d'un cours d'eau, il est donc représenté par une ou plusieurs stations de prélèvements. Une espèce (ou un type d'espèces) sera considérée comme étant non conforme si l'estimation de la borne haute de l'intervalle de confiance à 95 %, obtenue par la modélisation, est supérieure à la limite réglementaire et si au moins



une non-conformité est observée dans le secteur de prélèvement considéré.

La prise en compte de l'incertitude à 95 % autour de la moyenne estimée est un critère pertinent pour juger de la conformité des espèces dans le sens où cette moyenne de contamination est le critère retenu pour des expositions chroniques des consommateurs aux contaminants physico-chimiques.

Lorsque la masse est également corrélée au niveau de contamination, il est proposé de définir, en plus de l'espèce et du secteur de prélèvements, une masse maximale caractérisant la conformité de l'espèce.

Les résultats issus de la modélisation sont expertisés par le GECU mis en place en 2008 et rendus sous la forme d'avis de l'Anses. Ils permettent d'émettre des recommandations de consommation ou de non-consommation par type d'espèce et par secteur de prélèvements sur la base de l'arbre de décision défini dans l'avis de l'Afssa du 13 mai 2009 [4] et ayant évolué au cours de l'acquisition des connaissances. Si les données sont insuffisantes pour permettre l'estimation de contaminations moyennes, des recommandations temporaires peuvent alors être proposées.

L'Anses a rendu près de vingt avis relatifs aux interprétations des résultats d'analyses en dioxines et PCB dans les poissons d'eau douce. Ces derniers détaillent les résultats et proposent des recommandations de consommation par cours d'eau, plus pertinentes qu'une analyse globale par bassin où des hétérogénéités peuvent exister entre cours d'eau. La méthodologie a également été appliquée aux résultats d'analyses en PCB disponibles en baie de Seine et aux résultats d'analyses en mercure réalisées dans le cadre du plan national (avec une classification différente des espèces).

Bilan et perspectives

À ce jour, les données acquises durant le plan national de surveillance Anses-ONEMA 2010 n'ont pas toutes été interprétées. L'année 2011 va donc permettre de finaliser les interprétations des dernières données collectées.

Par ailleurs, l'Anses a proposé en 2009 une approche pragmatique d'analyse en routine du risque de contamination en PCB des poissons d'eau douce et de mer en définissant des valeurs seuils en PCB de type non-dioxine (PCB-NDL) comme outil d'appréciation de ce risque [6]. Ces valeurs ne sont pas des seuils sanitaires mais des seuils en PCB-NDL prédictifs de la conformité/non-conformité des espèces de poissons d'eau douce et de mer en dioxines et PCB de type dioxine (PCB-DL), actuellement réglementés au niveau européen pour les espèces de poissons commercialisées. L'intérêt de cette analyse prédictive par les seuls PCB-NDL est de limiter le nombre d'analyses en dioxines et PCB-DL plus coûteuses.

Dès le lancement du plan national, il était convenu d'établir en 2011, un bilan après les trois années d'échantillonnage des milieux aquatiques avant d'envisager de nouveaux prélèvements. Dans ce cadre, l'Anses s'est autosaisie afin de conduire ce bilan et de proposer une stratégie adaptée pour la surveillance des milieux aquatiques. Les adaptations pourront porter notamment sur les espèces de poissons (classification des espèces, recherche d'une espèce indicatrice), la constitution des échantillons ainsi que sur les substances analysées (actualisation des travaux de 2009 sur les corrélations entre les PCB-NDL et les PCB-DL, recherche d'un congénère indicateur). Cette stratégie concernera les cours d'eau échantillonnés et pour lesquels des recommandations de non-consommation de tout ou partie des espèces ont été formulées et les cours d'eau qui n'ont pas été échantillonnés.

Des modalités d'échantillonnage pour un suivi des tendances sur le long terme pourront également être envisagées. Ce bilan tiendra compte des différentes activités de pêche exercées (pêche professionnelle et/ou de loisir) et des évolutions réglementaires à venir le cas échéant. Les conclusions de ce bilan sont prévues pour la mi-2012.

Enfin, l'étude d'imprégnation aux PCB des consommateurs de poissons d'eau douce conduite par l'Anses, avec le partenariat de l'InVS, apportera des éclairages sur les niveaux de consommation des poissons d'eau douce qui pourront être utiles à l'adaptation des modalités d'échantillonnage. Cette étude apportera également des informations sur l'imprégnation des populations de pêcheurs, utiles pour caractériser des fréquences de consommation sans risque pour les consommateurs. Les résultats de cette étude sont attendus pour septembre 2011.

Références bibliographiques

- [1] Tard A., Gallotti S., Leblanc JC., Volatier JL. (2007) Dioxins, furans and dioxin-like PCBs: Occurrence in food and dietary intake in France. *Food Additives and Contaminants*, 24(9): 1007-1017.
- [2] Règlement (CE) n°1881/2006 du 19 décembre 2006 modifié portant fixation des teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires.
- [3] Afssa - Agence française de sécurité sanitaire des aliments (2008) Avis du 5 février relatif au plan d'échantillonnage national des PCB dans les poissons de rivière: proposition de méthodologie (ref: 2008-SA-0019).
- [4] Afssa - Agence française de sécurité sanitaire des aliments (2009) Avis du 13 mai relatif à l'interprétation des données du plan national PCB 2008 dans les poissons de rivière et à la proposition du plan d'échantillonnage 2009 (ref: 2009-SA-0118).
- [5] Afssa - Agence française de sécurité sanitaire des aliments (2007) Avis du 3 décembre relatif à l'interprétation des résultats d'analyse du plan d'échantillonnage mis en place dans le cadre de la pollution en PCB des poissons du Rhône (ref: 2007-SA-0239).
- [6] Afssa - Agence française de sécurité sanitaire des aliments (2009) Avis du 27 novembre relatif à la détermination de valeurs seuils en PCB-NDL comme outil d'appréciation du risque de la contamination en PCB des poissons d'eau douce et de mer (ref: 2009-SA-0241).

Bilan des résultats des plans de contrôle des résidus chimiques dans les denrées alimentaires d'origine animale en 2009

Alexandre Blanc-Gonnet (alexandre.blanc-gonnet@agriculture.gouv.fr)

Direction générale de l'alimentation, Bureau des intrants et de la santé publique en élevage, Paris

Résumé

La directive 96/23/CE impose aux vingt-sept états membres de l'union européenne de réaliser des plans de contrôles des résidus chimiques dans les denrées alimentaires d'origine animale. En 2009, la France a mis en œuvre ces plans sur l'ensemble de ses productions et réalisé près de 50 000 analyses. Cent trente et un résultats non conformes ont été mis en évidence et font l'objet d'enquêtes et de suivis par les services déconcentrés du ministère chargé de l'agriculture et la brigade d'enquête vétérinaire et phytosanitaire. Ces plans ont été en grande majorité reconduits pour 2010 et 2011, permettant à la France de respecter ses obligations européennes, et quelques évolutions ont été introduites.

Mots clés

Résidu chimique, médicament vétérinaire, substance non autorisée, contaminant, plan de contrôle, denrée alimentaire d'origine animale, production animale

Abstract

Results of the monitoring plans for chemical residues in foodstuffs of animal origin in 2009

Under Directive 96/23/EC, the twenty-seven Member States of the European Union are required to implement monitoring plans for chemical residues in foodstuffs of animal origin. In 2009, France implemented these plans for its products and conducted nearly 50,000 analyses. One hundred and thirty-one non-compliant results were highlighted, and were investigated and monitored by the decentralised authorities of the Ministry of Agriculture and the National Brigade for Veterinary and Phytosanitary Investigation. The vast majority of these plans were renewed for 2010 and 2011, allowing France to fulfil its European obligations, and some improvements were introduced.

Keywords

Chemical residue, veterinary medicinal product, unauthorised substance, contaminant, monitoring plan, foodstuff of animal origin, animal product

Depuis plusieurs années, la France met en œuvre des plans de contrôle des résidus chimiques dans les denrées alimentaires d'origine animale [1]. Depuis 1997, ces plans sont réalisés conformément aux exigences de la directive 96/23/CE, qui impose aux États membres de l'Union européenne (UE) d'effectuer la recherche des résidus dans ses productions d'origine animale. D'autres plans de contrôle existent (microbiologique, substances phyto-pharmaceutiques dans les végétaux...), mais ne sont pas couverts par la directive 96/23/CE.

L'objectif de ces plans est de détecter les éventuelles non-conformités à la réglementation sur les médicaments vétérinaires (usage de substances non autorisées, dépassement des limites maximales de résidus – LMR). L'ensemble des prélèvements doit donc être réalisé de manière ciblée.

Méthode et synthèse du fonctionnement

Principes généraux

Huit plans de contrôle ont été mis en œuvre en 2009, ils concernent différentes matrices pour les filières et les produits suivants: les animaux de boucherie (bovins, porcins, ovins/caprins et équins), les volailles, les lapins, les gibiers, les poissons d'élevage, le lait, les œufs et le miel. Ces plans de contrôle ont conduit à réaliser plus de 50 000 prélèvements.

La directive 96/23/CE impose aux États membres de l'UE de réaliser des recherches de résidus de molécules appartenant à trois grandes familles. Selon la terminologie employée dans l'annexe I de cette directive, les substances sont classées de la manière suivante:

- groupe A: substances ayant un effet anabolisant et substances non autorisées (A1 stilbènes, A2 antithyroïdiens, A3 stéroïdes, A4 acides résorcyliques, A5 bêta-agonistes et A6 substances interdites dans le cadre du règlement (CE) 37/2010 notamment chloramphénicol, nitrofuranes et nitroimidazoles);

- groupe B: médicaments vétérinaires et contaminants, groupe lui-même divisé en trois sous-groupes:
 - groupe B1: substances anti-bactériennes;
 - groupe B2: autres médicaments vétérinaires (B2a anthelmintiques, B2b anticoccidiens, B2c carbamates et pyréthroïdes, B2d tranquillisants, B2e anti-inflammatoires non stéroïdiens, B2f autres substances pharmacologiquement actives dont glucocorticoïdes);
 - groupe B3: autres substances et contaminants de l'environnement (B3a composés organochlorés dont PCB, B3b organophosphorés, B3c éléments chimiques, B3d mycotoxines, B3e colorants et B3f autres). Dans le cadre du présent article, seuls les résultats pour les analyses d'organochlorés, organophosphorés et colorants seront considérés, bien que d'autres substances du groupe B3 fassent également l'objet de plans de contrôle.

Stratégie d'échantillonnage

Comme précisé dans la définition d'un plan de contrôle (Encadré) l'échantillonnage doit être ciblé. Notamment, pour le groupe des substances interdites, la directive 96/23/CE stipule, dans son Annexe III paragraphe 2, que « les échantillons doivent être ciblés, compte tenu des critères minimaux suivants: sexe, âge, espèce, système d'engraissement, toute information dont dispose l'État membre et toute évidence de mauvaise utilisation ou d'abus de substances de ce groupe ».

Néanmoins, le paragraphe 1 de la même annexe, souligne que « l'échantillonnage doit être imprévu, inattendu et effectué à des moments non fixes et à des jours non particuliers de la semaine ». Cela signifie que le producteur ou détenteur de l'animal ou du produit ne doit pas être prévenu à l'avance de la réalisation du contrôle.

En outre, la Commission a établi un nombre de prélèvements minimum à réaliser pour chaque catégorie de denrées, qui peut être calculé sur la base d'une proportion de la production nationale ou d'un nombre minimum forfaitaire.

Définitions

Plan de surveillance (d'après Note DGAL/SDPPST/N2010-8291)

Un plan de surveillance a pour objectif principal l'évaluation globale de l'exposition du consommateur à un risque. Il est toujours basé sur un échantillonnage réalisé de manière aléatoire au sein d'une population ou d'une sous-population identifiée.

Plan de contrôle (d'après Note DGAL/SDPPST/N2010-8291)

Un plan de contrôle a pour objectif principal la recherche des anomalies, des non-conformités, voire des fraudes. Il est normalement basé sur un échantillonnage ciblé ou suspect, c'est-à-dire que les prélèvements sont réalisés sur la base de critères de ciblage prédéterminés.

Analyte (d'après Note DGAL/SDPPST/N2010-8291)

Objet de la méthode d'analyse. On distingue les analytes biologiques et les analytes physico-chimiques. Les toxines naturelles marines et les composés biochimiques tels que l'histamine sont classés, dans cette note, dans les analytes biologiques.

Matrice (d'après Note DGAL/SDPPST/N2010-8291)

Matière (par exemple un tissu) dans laquelle est recherché l'analyte.

Prélèvement (d'échantillon(s)) (d'après Note DGAL/SDPPST/N2010-8291)

Fait de prendre en une seule fois une quantité de matière dans une quantité de matière plus importante.

Échantillon (d'après Note DGAL/SDPPST/N2010-8291)

Entité composée d'une ou plusieurs unités, prélevée(s) par l'inspecteur à un instant « t » sur un lot ou un individu et destinée(s) à être utilisée(s) pour la recherche d'un ou plusieurs analytes et qui sert de base à la décision concernant le lot ou l'individu.

Substances ou produits non autorisés (d'après D96/23/CE)

Les substances ou produits dont l'administration à un animal est prohibée par la législation communautaire.

Traitement illégal (d'après D96/23/CE)

L'utilisation de substances ou de produits non autorisés ou l'utilisation de substances ou de produits autorisés par la législation communautaire à des fins ou à des conditions autres que celles prévues par la législation communautaire ou, le cas échéant, par les différentes législations nationales.

Résidu (d'après D96/23/CE)

Un résidu de substances ayant une action pharmacologique, de leurs produits de transformation, ainsi que d'autres substances se transmettant aux produits animaux et susceptibles de nuire à la santé humaine.

Analyses

La quasi totalité des analyses est réalisée par des laboratoires accrédités selon la norme NF EN ISO/CEI 17025 et agréés par le Ministre de l'agriculture et de la pêche. Les méthodes utilisées sont validées conformément à la décision 2002/657/CE de la Commission du 12 août 2002 et aux guides émanant de la Commission (cas des pesticides).

Couples matrice-analyte

Les analytes recherchés sont, pour chacun des produits concernés, imposés par l'annexe I de la D96/23/CE (Tableau 1). La France respecte l'ensemble de ces obligations, mise à part la recherche des thyrostatiques chez les lapins et gibiers d'élevage, car, d'après les échanges que nous avons eus avec notre laboratoire national de référence pour les substances des groupes A1 à A5 (LABERCA, ONIRIS Nantes), son usage en tant qu'anabolisant chez ces espèces n'a pas de pertinence. Il convient de noter que les recherches de stéroïdes, bêta-agonistes, thyrostatiques et chloramphénicol chez les équins et les recherches de stéroïdes, bêta-agonistes, et anti-inflammatoires chez les gibiers d'élevage ont été introduites au plan 2009.

Nouveautés notables depuis 2007

Un précédent article du *Bulletin épidémiologique* avait présenté les résultats des plans de contrôle des résidus chimiques dans les denrées alimentaires d'origine animale en 2007. En 2008 et 2009, quelques évolutions ont été introduites dans ces plans.

En 2008, un plan de recherche des médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens dans le lait de vache, chèvre et brebis a été mis en place. Ces analyses ont été réalisées par le laboratoire de l'Anses de Fougères.

En 2009, plusieurs évolutions ont été apportées aux plans de contrôle :

- le prélèvement de poumon sur les animaux de boucherie a été ajouté pour la recherche des bêta-agonistes. Cette recherche existait déjà sur des échantillons d'urine et de poils. La raison de cette nouveauté est la présence supposée importante de récepteurs bêta-adrénergiques dans cet organe, faisant que les molécules bêta-agonistes pourraient s'y concentrer en plus grand nombre que dans d'autres matrices comme l'urine;
- un plan de recherche des esters de stéroïdes dans 150 échantillons de poils (100 bovins, 50 porcins) prélevés sur des animaux avant abattage a été introduit. Cette méthode permettrait de contrôler la présence d'hormones naturelles et des principaux androgènes, et en particulier de distinguer les hormones d'origine naturelle de celles provenant d'une administration illicite. Le laboratoire national de référence LABERCA (ONIRIS Nantes) a réalisé ces analyses;

Tableau 1. Couples matrices-analytes devant faire l'objet d'un plan de contrôle (d'après l'annexe I de la directive 96/23/CE)

Type d'animaux Produits animaux Groupe de substances	Animaux des espèces bovine, ovine, caprine, porcine, équine	Volailles	Animaux d'aquaculture	Lait	Œufs	Viande de lapin et viande de gibier d'élevage Gibier sauvage*	Miel
A1	X	X	X			X	
2	X	X				X	
3	X	X	X			X	
4	X	X				X	
5	X	X				X	
6	X	X	X	X	X	X	
B1	X	X	X	X	X	X	X
2a	X	X	X	X		X	
b	X	X			X	X	
c	X	X				X	X
d	X						
e	X	X		X		X	
f							
3a	X	X	X	X	X	X	X
b	X			X			X
c	X	X	X	X		X	X
d	X	X	X	X			
e			X				
f							

* Le gibier sauvage n'est concerné que pour les éléments chimiques.

- un plan de recherche des progestagènes dans 100 échantillons de graisse péri-rénale (60 bovins, 30 porcins et 10 ovins et caprins) prélevé sur des animaux abattus. Il a été mis en place afin de mieux répondre aux exigences de la Commission européenne concernant la recherche de ces substances. Il a également été réalisé par le laboratoire national de référence LABERCA.

Réalisation et résultats des plans de contrôle 2009 : nombre et nature des non-conformités

Résultats des plans de contrôle de 2009

En 2009, pour l'ensemble des plans évoqués ci-dessus, 48 333 analyses étaient programmées. Les services déconcentrés ont prélevé quasiment l'ensemble des échantillons demandés et 48 121 résultats ont été recensés. La différence entre la réalisation et la programmation s'explique en général par un manque d'effectif (préleveurs) ponctuel et local.

Cent trente et un résultats non conformes (soit présentant des résidus de substances non autorisées, soit présentant des résidus de substances autorisées au-delà de la limite maximale prévue par la réglementation) ont été relevés, correspondant à des taux de non-conformité compris entre 0,06 % et 0,75 % selon les produits. Les taux de réalisation sont globalement satisfaisants (toujours supérieurs à 95 %) et sont compris entre 96,3 % et 100 % (Tableau 2). Il convient de noter que les données lapins et gibiers sont traitées ensemble, car l'annexe I de la directive 96/23/CE indique que les recherches à mener sur ces espèces sont les mêmes.

Comparaison des résultats de 2007, 2008 et 2009

Il apparaît intéressant de comparer les taux de non-conformités observées lors des campagnes 2007, 2008 et 2009 (Tableaux 2, 3 et 4).

En premier lieu, on peut constater que les taux de réalisation de 2007 à 2009 sont toujours satisfaisants, ce qui indique une bonne exécution des instructions par les services déconcentrés.

Concernant les taux de non-conformités, il est possible d'identifier des évolutions statistiquement significatives d'une année à l'autre :

- pour les animaux de boucherie (p value < 0,001) : cette différence est nette entre 2007 et 2008 (respectivement 55 et 103 résultats non conformes). Elle peut s'expliquer en partie par une hausse du nombre de résultats positifs pour les substances appartenant aux groupes A1 à A5 (respectivement 17 et 55 résultats non conformes sur environ 11 500 analyses par an). Ces résultats ont fait l'objet d'études complémentaires de la part du LABERCA, certains d'entre eux pouvant avoir une hypothétique origine naturelle liée à l'alimentation ;
- pour les volailles (p value < 0,01) : on identifie une différence importante entre 2008 (55 résultats non conformes) et 2009 (29 résultats non conformes). Elle s'expliquerait par une évolution notable des résultats de présence d'anti-coccidiens (27 résultats non conformes en 2009, 58 en 2008, pour 100 analyses par an). Il est vraisemblable que cette évolution soit due à une moindre utilisation de certaines de ces substances. En effet, il s'agit de molécules pour lesquelles un temps d'attente a été fixé mais pour lesquelles il n'existe pas encore de LMR. Dans les cas de découverte d'anticoccidiens dans les viandes de volailles, la présence de résidus est donc considérée

Tableau 2. Nombres et taux de réalisation et de non-conformité sur les prélèvements réalisés lors de l'année 2009

	Nombre d'analyses prévues	Nombres de résultats recensés	Nombre de non-conformités	Taux de réalisation (%)	Taux de non-conformité (%)	Intervalle de confiance (IC) 95 %
Viandes de boucherie	35 085	34 961	85	99,6	0,24	0,19 - 0,29
Volailles	8 243	8 213	29	99,6	0,35	0,22 - 0,48
Lapins et gibiers	1 015	1 007	7	99,2	0,70	0,12 - 1,07
Poissons d'élevage	945	916	1	96,9	0,11	0,00 - 0,32
Lait	1 680	1 676	1	99,8	0,06	0,00 - 0,18
Œufs	1 015	998	7	98,3	0,70	0,18 - 1,22
Miel	350	350	1	100,0	0,29	0,00 - 0,84

Tableau 3. Nombres et taux de réalisation et de non-conformité sur les prélèvements réalisés lors de l'année 2007

2007	Nombre d'échantillons prélevés	Taux de réalisation (%)	Nombre de non-conformités	Taux de non-conformité (%)	Intervalle de confiance (IC) 95%
Viandes de boucherie	34 914	96,8	55	0,16	0,12 - 0,20
Volailles	8 483	97,5	64	0,75	0,57 - 0,94
Lapins et gibiers	1 010	99,5	9	0,89	0,31 - 1,47
Poissons d'élevage	926	98	6	0,65	0,13 - 1,16
Lait	1 640	99,4	1	0,06	0,00 - 0,18
Œufs	1 044	98	32	3,07	2,02 - 4,11
Miel	318	90,9	3	0,94	0,00 - 2,01

Tableau 4. Nombres et taux de réalisation et de non-conformité sur les prélèvements réalisés lors de l'année 2008

2008	Nombre d'échantillons prélevés	Taux de réalisation (%)	Nombre de non-conformités	Taux de non-conformité (%)	Intervalle de confiance (IC) 95%
Viandes de boucherie	34 486	97,7	103	0,30	0,24 - 0,36
Volailles	8 113	98,7	55	0,68	0,50 - 0,86
Lapins et gibiers	997	98,2	4	0,40	0,01 - 0,79
Poissons d'élevage	916	98,2	6	0,66	0,00 - 1,18
Lait	1 610	95,8	0	0,00	0,00 - 0,00
Œufs	969	95,5	27	2,79	1,75 - 3,82
Miel	352	100,6	3	0,85	0,00 - 1,81

dans ce cas comme une non-conformité. Des LMR ont toutefois été établies et publiées en 2010. Les méthodes d'analyse utilisées permettant de détecter la présence de résidus en dessous de ces valeurs, il est raisonnable de s'attendre à une baisse significative du nombre de ces non-conformités en 2011;

- pour les poissons d'aquaculture (p value $<0,05$) : six résultats non conformes ont été identifiés en 2007, contre seulement un en 2008 et un en 2009. Les résultats non conformes de 2007 se décomposaient de la manière suivante: trois présences de vert de malachite (colorant), deux antibiotiques et une de chloramphénicol. En 2008, il s'agissait de quatre présences de vert de malachite, une d'antibiotique et une de chloramphénicol alors qu'en 2009, il s'agissait d'un stéroïde. Les raisons d'une telle évolution n'ont pas pu être identifiées;
- pour les œufs (p value $<0,001$) : une nette évolution est notable entre 2008 (27 résultats non conformes) et 2009 (7 résultats non conformes). En effet, l'entrée en vigueur au 1^{er} juillet 2009 du règlement (CE) n° 124/2009 du 10 février 2009 et la parution de la directive 2009/8/CE du 10 février 2009 ont apporté une meilleure cohérence réglementaire. En effet, ce règlement fixe des limites de résidus pour les denrées issues d'espèces autres que celles auxquelles est normalement destiné l'anti-coccidien considéré (il s'agit dans ce cas d'une contamination accidentelle, inévitable au moment de la fabrication des aliments en usine).

Principales origines des résultats non conformes en 2009

Substances non autorisées

Des résultats non conformes ont été identifiés pour les résidus de substances interdites:

- 16 sont dus à la présence de promoteurs de croissance (deux chez les bovins, 12 chez les porcins, un chez les volailles, un chez les poissons);
- 7 sont dus à la présence de médicaments vétérinaires antibactériens dont l'usage est interdit chez les animaux de rente (chloramphénicol, nitro-imidazolés chez les animaux de boucherie);
- 30 sont dus à la présence de substances à de faibles concentrations pour lesquelles une origine non-frauduleuse liée à l'alimentation de l'animal est fortement suspectée. (mycotoxines considérées comme étant également des promoteurs de croissance: zéranol/taléranol, et thyrostatiques: thio-uracile, notamment).

En ce qui concerne le suivi de ces non-conformités, des investigations ont été réalisées par la Brigade d'enquêtes vétérinaires et phytosanitaires (BNEVP) ou sont en cours.

Médicaments vétérinaires

Les non-conformités recensées concernant les résidus de ces substances sont au nombre de 113 sur 130, soit 86,9 %. Elles sont dues principalement soit à des dépassements des LMR de médicaments vétérinaires soit à la présence d'un additif anti-coccidien, cf. paragraphe précédent.

Une grande partie des molécules dont la LMR est dépassée sont des molécules antibiotiques (43 non-conformités, réparties sur l'ensemble des plans), essentiellement présentes dans les viandes d'animaux de boucherie et de volailles. Ce dépassement est très souvent en lien avec un non-respect du temps d'attente par l'éleveur, parfois combiné avec une augmentation de la posologie par le vétérinaire (dans ce cas le temps d'attente pour la viande devient forfaitaire et est de 28 jours).

Contaminants de l'environnement: pesticides

Cette famille a été l'objet de deux non-conformités en 2009, sur un bovin et sur un gibier de chasse.

Traitement des résultats non conformes

En cas de résultat non conforme, s'il s'agit d'une substance non autorisée, la BNEVP est systématiquement avertie et se prononce sur les suites à donner, en fonction des données disponibles: classement,

investigations à faire par les services déconcentrés, investigations réalisées par la BNEVP. Les producteurs peuvent être sanctionnés lourdement en cas de fraude avérée: saisie de denrées, quarantaine et abattage de leurs animaux, voire procès devant une juridiction pénale.

Dans le cas de substance autorisée, le service déconcentré mène systématiquement une enquête dans l'élevage afin d'identifier les causes. En fonction des découvertes de l'inspecteur, cette enquête peut être sanctionnée par un procès-verbal assorti d'une amende et accompagné parfois d'investigations supplémentaires.

Dans toutes les situations, le producteur voit diminuer le montant des primes qui lui sont versées, en partie ou en totalité.

Discussion/Perspectives

L'ensemble des résultats de l'année 2009 est globalement satisfaisant, mettant en évidence des taux de résultats non conformes compris entre 0,06 % (plan de contrôle dans le lait) et 0,7 % (plan de contrôle chez les lapins et gibiers, plan de contrôle sur les œufs). Les plans de contrôle de substances et leurs résidus chimiques chez les animaux et dans les denrées d'origine animale ont été reconduits pour 2010 et 2011, respectant les exigences de la directive 96/23/CE.

Les nouveaux plans introduits en 2009 (esters de progestagènes, esters de stéroïdes chez les animaux de boucherie et anti-inflammatoires dans le lait) ont été également reconduits en 2010 puis en 2011 (sauf esters de progestagène, arrêté en 2011).

Enfin des travaux publiés récemment [2] incitent à envisager que la rétine de l'œil serait une matrice particulièrement riche en récepteurs β -adrénergiques et intéressante dans le cadre de l'identification d'administrations frauduleuses de cocktail de substances présentes en faibles quantités (dans ce cas, les effets de ces substances se « potentialisent » les uns avec les autres). Il a donc été mis en place en 2010 un plan visant à prélever en abattoir les yeux de 100 bovins (des veaux de moins de 12 mois, car ces organes ne sont pas classés matériel à risque spécifié ou MRS) et de 100 porcins, afin d'être envoyés et analysés au LABERCA.

Références bibliographiques

- [1] Blanc-Gonnet A., Bordet F., Deceuninck Y., Roudaut B. (2009), Bilan des résultats des plans de contrôle 2007 de substances chimiques chez les animaux d'exploitation et dans leurs produits, *Afssa-Bulletin épidémiologique*, n° 32 de juin 2009, p.13-16.
- [2] Girault G. (2009), Fixations-Éliminations comparées de β -agonistes adrénérgiques chez le veau, Thèse de doctorat vétérinaire, Nantes, France, 128 pp.

Textes réglementaires

Directive n° 96/23/CE DU CONSEIL du 29 avril 1996 relative aux mesures de contrôle à mettre en oeuvre à l'égard de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits et abrogeant les directives 85/538/CEE et 86/469/CEE et les décisions 89/187/CEE et 91/664/CEE.

Règlement (CE) n° 470/2009 du Parlement européen et du conseil du 6 mai 2009 établissant des procédures communautaires pour la fixation des limites maximales de résidus des substances pharmacologiquement actives dans les aliments d'origine animale.

Règlement (UE) n° 37/2010 de la commission du 22 décembre 2009 relatif aux substances pharmacologiquement actives et à leur classification en ce qui concerne les limites maximales de résidus dans les aliments d'origine animale.

Règlement (CE) n° 124/2009 de la commission du 10 février 2009 établissant des valeurs maximales pour la présence dans les denrées alimentaires de coccidiostatiques ou d'histomonostatiques résultant du transfert inévitable de ces substances vers des aliments pour animaux non cibles.

Note de service DGAL/SDPPST/N2010-8291 du 27/10/2010 relative aux dispositions générales relatives aux plans de surveillance et aux plans de contrôle de la contamination des denrées animales et d'origine animale, et des produits destinés à l'alimentation animale pour l'année 2011.

Journée Anses sur l'antibiorésistance en santé animale

Vendredi 18 novembre 2011

de 9h30 à 17h00 Auditorium-Siège de l'Anses

27-31 avenue du Général Leclerc 94701 Maisons-Alfort Cedex



L'Anses mobilise les acteurs de la santé humaine et animale, qu'ils soient scientifiques, décideurs ou professionnels de terrain, autour de l'antibiorésistance, en organisant pour la deuxième année consécutive une journée dédiée à cette problématique.

L'antibiorésistance est reconnue comme un problème majeur en termes de santé humaine et animale au niveau international, avec l'émergence et la diffusion croissante de souches de bactéries résistantes aux antibiotiques. Elle constitue sans doute un des défis médicaux majeurs du XXI^e siècle.

L'Anses consacre la journée du 18 novembre à la réflexion et à la prospective sur la résistance aux antibiotiques chez les bactéries, et à ses implications en santé animale et humaine. Elle cherchera à explorer de nouvelles actions pour une meilleure utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire.

Deux sessions rythmeront cette journée. La matinée sera consacrée à la référence et à la surveillance : consommation des antibiotiques en médecine vétérinaire, outils et moyens de surveillance, enquêtes sur les usages ou plans de maîtrise seront ainsi abordés. La recherche constituera l'élément central de l'après-midi avec des sujets comme l'impact de l'utilisation des antibiotiques en santé humaine, les mécanismes

moléculaires de la résistance, ou des exemples plus concrets tels l'émergence de *Salmonella* Kentucky résistante à la ciprofloxacine, ou l'utilisation des Fluoroquinolones en aviculture. Un focus spécial sera également fait sur la relation entre antibiorésistance et virulence chez *E.coli*.

Pour en savoir plus rendez vous sur le site de l'Anses : www.anses.fr

Informations et inscriptions : <http://www.ansespro.fr/ATB18/>

Programme de la journée :

Matin

- *Consommation des antibiotiques en médecine vétérinaire*, Gérard MOULIN – Agence nationale du médicament vétérinaire, Anses
- *Le réseau Résapath*, Jean-Yves MADEC – Laboratoire de Lyon, Anses
- *Importance de la surveillance de l'antibiorésistance des bactéries commensales*, Pascal SANDERS – Laboratoire de Fougères, Anses
- *Enquêtes sur les usages des antibiotiques en médecine vétérinaire* :
 - *Chez le lapin*, Claire CHAUVIN – Laboratoire de Ploufragan/Plouzané, Anses
 - *Chez les ruminants*, Emilie GAY – Laboratoire de Lyon, Anses
- *Plan de maîtrise des antibiotiques chez l'animal*, Pascale BRIAND ou Jean-Luc ANGOT – Direction générale de l'alimentation
- *Plan de maîtrise des antibiotiques chez l'homme*, Marie-Hélène LOULERGUE – Direction générale de la santé

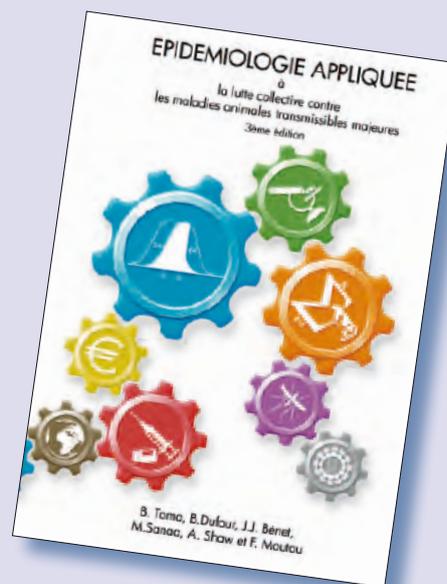
Après midi

- *Mécanismes moléculaires de la résistance aux antibiotiques*, Bruno GONZALEZ-ZORN – UCM Madrid
- *Impact de l'utilisation des antibiotiques en santé humaine*, Didier GUILLEMOT – Institut Pasteur de Paris
- *L'odyssée de Salmonella enterica sérotype Kentucky ST198, 1960-2010*, Simon LE HELLO – Institut Pasteur de Paris
- *Fluoroquinolones en aviculture : quels dangers pour l'homme, l'animal ou l'environnement ?* Isabelle KEMPF – Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, Anses
- *La résistance des bactéries à Gram + un sujet toujours d'actualité : un défi pour l'Europe et les outils à mettre en place*, Laurent GUTMANN – Hôpital Européen Georges Pompidou
- *Virulence et antibiorésistance. Focus sur Escherichia coli*. Jean-Yves MADEC – Laboratoire de Lyon, Anses

Vient de paraître

Épidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures

La troisième édition du livre *Épidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures* vient de paraître. Comparé à la deuxième édition qui comportait plus de 700 pages, le nouveau volume n'en compte que 600, alors que, sans rien retrancher des développements fondamentaux, il a fallu ajouter des notions devenues indispensables, notamment dans l'échantillonnage. C'est dans le but de résister à cette inflation dans le nombre de pages que les auteurs ont délibérément décidé de placer l'ensemble des exercices, des corrigés et des annexes qui se trouvaient auparavant en fin de chapitre ou d'ouvrage sur le site de l'AEEMA, où ils sont facilement accessibles dès maintenant. Outre son effet sur le nombre de pages, cette interaction avec le site de l'AEEMA permettra également au lecteur d'utiliser des logiciels et des tableurs mis à sa disposition sur le site et qui lui seront précieux pour répondre aux exercices ou aux situations rencontrées en pratique.



Surveillance épidémiologique en santé animale 3^e édition

Cet ouvrage, qui en est à sa troisième édition, est le fruit d'une collaboration entre spécialistes de la surveillance épidémiologique à tous les échelons du fonctionnement d'un réseau : organisation, formation, gestion des données et évaluation. Il est enrichi par l'expérience d'animateurs de réseaux variés.

La première partie fournit au lecteur tous les éléments de méthode lui permettant de participer à la création, au fonctionnement et à l'évaluation d'un réseau de surveillance épidémiologique sur le terrain. Chaque sujet est abordé d'un point de vue méthodologique et pratique afin de faciliter l'appropriation des concepts. La seconde partie présente des exemples, concrets et variés, de réseaux de surveillance épidémiologique en fonctionnement. On découvre ainsi que, derrière la diversité des objets et des méthodes de surveillance de ces réseaux, une même démarche méthodologique est appliquée.

Ce guide pratique est destiné à tous les acteurs des réseaux de surveillance épidémiologique, des pays du Nord comme du Sud, impliqués dans leur conception, leur organisation et leur fonctionnement. Il intéressera aussi les étudiants et les enseignants en épidémiologie animale.

Directeur de publication: Marc Mortureux
Directrice associée: Pascale Briand
Comité de rédaction: Didier Boisseleau, Anne Brisabois, Anne Dufour, Françoise Gauchard, Pascal Hendriks, Paul Martin, François Moutou, Élisabeth Repérant, Julien Santolini
Rédacteur en chef: Clara Marcé, Didier Calavas
Rédactrice en chef adjointe: Anne Bronner

Secrétaire de rédaction: Sandrine Baron, Florence Lavissière
Responsable d'édition: Fabrice Coutureau
Assistante d'édition: Céline Leterq
Anses - www.anses.fr
27-31 avenue du général Leclerc
94701 Maisons-Alfort Cedex
Courriel: bulletin.epidemi@anses.fr

Conception et réalisation: Parimage
Photographies: Anses, Christophe Lepetit, Fotolia
Impression: Bialec
95 boulevard d'Austrasie - 54000 Nancy
Tirage: 5000 exemplaires
Dépôt légal à parution/ISSN 1630-8018



MINISTÈRE
DE L'AGRICULTURE,
DE L'ALIMENTATION,
DE LA PÊCHE,
DE LA RURALITÉ
ET DE L'AMÉNAGEMENT
DU TERRITOIRE

anses
agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail

