

Maisons-Alfort, le 26 juillet 2007

## **AVIS**

LA DIRECTRICE GÉNÉRALE

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à la mise en place de règles hygiéniques d'utilisation de l'eau de mer propre pour la manipulation des produits de la pêche

#### 1. RAPPEL DE LA SAISINE

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 07/11/2006 par la Direction générale de l'alimentation d'une demande d'avis relatif à la mise en place de règles hygiéniques d'utilisation de l'eau de mer propre pour la manipulation des produits de la pêche.

#### 2. QUESTIONS POSEES

Il est demandé à l'Agence de répondre aux questions suivantes :

**Question 1 :** Sur la base des paramètres applicables à l'eau destinée à la consommation humaine, quels sont ceux qu'il serait pertinent de retenir pour l'eau de mer propre utilisée pour la manipulation des produits de la pêche? D'autres critères peuvent-ils être proposés ? Quelles valeurs peuvent être proposées?

**Question 2 :** Concernant le plancton marin toxique, des valeurs indicatives de seuils peuvent-elles être proposées ?

**Question 3 :** Quelles sont les définitions de zones de pompage d'eau de mer "exposée" et "non exposée" à une contamination microbiologique et /ou physico-chimique" ? Lister les caractéristiques pour chacune de ces appellations au regard des paramètres définis à la Question 1, ainsi que des critères géographiques (distance aux côtes, profondeur de pompage), climatiques, de marée.

**Question 4 :** Est-il pertinent de définir plusieurs niveaux de qualité de l'eau de mer propre selon les usages qui sont faits sur les différents types de produits de la pêche?

#### 3. CONTEXTE

L'utilisation de l'eau de mer propre pour la manipulation des produits de la pêche est encadrée, depuis le 1<sup>er</sup> janvier 2006, par les règlements (CE) n°852/2004 et 853/2004<sup>1</sup>.

Selon le règlement (CE) n°853/2004, les mollusques bivalves vivants, les échinodermes vivants, les tuniciers vivants et les gastéropodes marins vivants sont exclus de la définition des produits de la pêche.

Selon le règlement (CE) n°852/2004, l'eau de mer propre est une « eau de mer ou saumâtre naturelle, artificielle ou purifiée ne contenant pas de microorganismes, de substances nocives ou de plancton marin toxique en quantités susceptibles d'avoir une incidence directe ou indirecte sur la qualité sanitaire des denrées alimentaires ».

27-31, avenue du Général Leclerc 94701 Maisons-Alfort cedex Tel 0149771350 Fax 0149772613 www.afssa.fr

R E P U B L I Q U E F R A N Ç A I S E

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Règlement (CE) n°852/2004 du 29 avril 2004 relatif à l'hygiène des denrées alimentaires.

Règlement (CE) n°853/2004 du 29 avril 2004 fixant des règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale.

L'eau de mer propre est utilisée notamment pour les usages suivants :

- 1) Alimentation en eau des viviers de poissons et de crustacés
- 2) Lavage et refroidissement des crustacés et des mollusques après cuisson
- Manipulation et lavage des produits non transformés tels que les filets et tranches de poissons
- 4) Lavage des produits de la pêche entiers, éviscérés, étêtés
- Fabrication de glace destinée au refroidissement et à la conservation des produits de la pêche frais ou transformés
- Nettoyage des installations et des équipements.

Selon la nature de l'eau utilisée par les criées et dans la limite des informations transmises à l'Agence, il est possible de distinguer 3 situations :

- 1) Les criées qui n'utilisent plus l'eau de mer
- 2) Celles qui utilisent une eau salée souterraine
- Celles qui utilisent de l'eau de mer, parmi lesquelles seul un petit nombre effectuerait la cuisson des crustacés dans l'eau de mer.

Il convient de noter qu'un recensement des utilisations de l'eau de mer par les criées et les établissements à terre devrait être entrepris par les autorités compétentes.

Le règlement (CE) n°853/2004 limite l'utilisation de l'eau de mer propre aux produits entiers et, à bord des navires, aux produits de la pêche éviscérés et étêtés. Des dispositions transitoires permettent néanmoins de l'employer, jusqu'au 31 décembre 2009, pour tous les autres usages (fabrication de la glace et manipulation des produits de la pêche dans les établissements à terre et les criées et refroidissement des crustacés et mollusques cuits).

Néanmoins, les autorités françaises souhaitent, sous réserve du strict respect par les professionnels concernés des exigences sanitaires, la pérennisation de l'emploi de l'eau de mer propre pour les usages précités par le biais d'une modification appropriée de la réglementation communautaire.

En conséquence, les autorités françaises doivent construire pendant cette période transitoire un argumentaire technique et scientifique à l'attention de la Commission européenne. Dans ce contexte, il est demandé à l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments de proposer des critères de qualité de l'eau de mer propre, actuellement inexistants. Il est à noter que, outre la définition de ces critères, cette demande permettra de fournir aux autorités compétentes des pistes pour générer des données d'ici 2009.

Les professionnels doivent quant à eux proposer et mettre en place les moyens permettant de garantir la maîtrise de la qualité de l'eau de mer qu'ils utilisent dans leurs établissements (par le biais de guides de bonnes pratiques par exemple).

#### 4. METHODE D'EXPERTISE

Deux comités d'experts spécialisés (CES) de l'Afssa ont été impliqués dans cette expertise : le CES « Microbiologie » (MIC) et le CES « Résidus et contaminants chimiques et physiques » (RCCP), ainsi que des experts du CES « Eaux » et des experts extérieurs.

Différents documents (textes réglementaires, documents relatifs à la législation néo-zélandaise, à la composition de l'eau de mer, aux diverses démarches qualité entreprises par certains pays, documents du *Codex alimentarius*, FAO OMS, résultats d'analyse et d'autocontrôles fournis par la DGAL) ont été mis à la disposition des experts.

L'ensemble des documents utilisés dans le cadre de cette expertise est référencé dans l'item « 9 , principales références bibliographiques » ci-dessous.

Suite à la consultation des CES « Microbiologie », réuni le 8 février 2007, 20 mars 2007 et 22 mai 2007, et « Résidus et contaminants chimiques et physiques », réuni le 21 mars 2007, l'Afssa rend l'avis suivant :

#### 5. CHAMP DE L'EXPERTISE

L'évaluation des risques, réalisée dans cet avis se limite strictement à l'utilisation de l'eau de mer propre pour la manipulation des produits de la pêche dans les établissements à terre et dans les criées ; sont donc exclues du champ de cette saisine les utilisations de l'eau de mer :

- en conchyliculture
- en pisciculture,
- à bord des navires.

#### 6. AVANTAGES ET INCONVENIENTS DE L'UTILISATION DE L'EAU DE MER

L'utilisation de l'eau de mer dans les criées et les établissements à terre pour la manipulation des produits de la pêche, présente les avantages suivants :

- l'eau de mer est une ressource avantageuse, car proche des installations, dont l'approvisionnement présente un faible coût et n'est pas limité, contrairement à l'eau potable;
- l'eau de mer ne provoque pas de choc osmotique sur les produits de la mer, ni de coagulation du mucus de la peau des poissons; la cuisson des organismes marins doit d'ailleurs être réalisée dans une eau salée.

Parmi les principaux inconvénients, il convient de rappeler que les eaux salées corrodent fortement les installations (murs, sols, etc.) et les équipements métalliques. En outre, les eaux salées usées peuvent détériorer les systèmes d'épuration des eaux usées domestiques du fait de leur salinité, ce qui impose de mettre en place des systèmes spécifiques d'épuration dans les établissements.

#### 7. ELEMENTS DE CARACTERISATION D'UNE EAU DE MER PROPRE

Trois grandes familles de dangers sont à prendre en compte pour caractériser une eau de mer propre :

- 1) Les dangers microbiologiques
- 2) Les contaminants chimiques (inorganiques et organiques)
- 3) Les phycotoxines marines.

L'influence des paramètres généraux (tels que le pH, la température, la salinité et la turbidité) sur le comportement des dangers microbiologiques et chimiques sera examinée.

#### S'agissant des dangers microbiologiques

Différents types de dangers microbiologiques sont susceptibles d'être présents dans l'eau de mer et de contaminer les produits de la pêche. Trois grands types de dangers microbiologiques sont susceptibles de contaminer les produits de la pêche :

- les bactéries
- les virus
- les parasites

L'Annexe 1 de ce document présente un descriptif détaillé de ces contaminants potentiels, en faisant le point sur les dangers suivants :

- Bactéries :
  - o Salmonella
  - Listeria monocytogenes
  - Staphylococcus aureus
  - Vibrio
  - Indicateurs de contamination : (indicateurs de pollution et d'efficacité de traitement : coliformes, indicateurs de contamination fécale (Escherichia coli, entérocoques fécaux)

#### Virus :

- o danger viral et produits de la pêche
- o contamination virale de l'eau de mer
- o réglementation et suivi de la présence virale / zone de pompage de l'eau de mer

#### Parasites :

- o présentation des parasites d'intérêt
- o éléments concernant l'évaluation du risque parasitaire
- procédures de désinfection et leur efficacité sur les parasites : effet UV ozone sur parasites
- o détection des parasites

#### Considérant que :

- dans la limite des informations disponibles, les usages de l'eau de mer n'ont pas entraîné de déclaration de cas indiquant que ces usages seraient à l'origine de problèmes de santé publique;
- la réglementation européenne actuelle autorise la mise sur le marché de coquillages élevés dans l'eau de mer pour laquelle une tolérance relative à E. coli est fixée;

Considérant à cet égard que la réglementation européenne fixant les critères microbiologiques aux produits de la pêche est actuellement peu développée, mais que le CES « Microbiologie » s'exprimera prochainement sur les critères microbiologiques indicateurs d'hygiène des procédés proposés par les filières concernées ; que ces critères seront amenés à figurer dans des GBPH et d'application des principes HACCP ;

#### Le CES « Microbiologie » :

- estime que les exigences microbiologiques pour l'eau de mer devraient être similaires à celles préconisées pour les produits de la pêche eux-mêmes, et non pas celles préconisées pour l'eau potable;
- recommande que l'utilisation de l'eau de mer soit possible pour l'ensemble des usages précités, sous réserve que son utilisation ait fait l'objet d'un dossier de demande d'autorisation comportant les éléments suivants :
  - Une étude préalable de la composition de l'eau de mer brute au niveau du point de pompage et de ses variations possibles, notamment concernant *E. coli* et la turbidité, de façon à ce qu'en aucun cas la qualité microbiologique ne soit inférieure à celle préconisée pour la production conchylicole<sup>2</sup>;
  - 2) L'évaluation des risques de dégradation de la qualité de l'eau ;
  - 3) Une étude portant sur la vulnérabilité de la ressource<sup>3</sup> et sur les mesures de protection à mettre en place ;
  - 4) La justification des produits et procédés de traitement à mettre en œuvre si nécessaire (abaissement de la turbidité par rétention et abaissement de la charge microbienne par désinfection) devant s'accompagner de la démonstration de l'innocuité et de l'efficacité au regard de la qualité de l'eau de mer à traiter. Dans le cas où des résines échangeuses ou du charbon actif sont utilisés pour le traitement chimique de l'eau, les précautions habituelles devraient être prises pour éviter l'augmentation de la charge microbienne de l'eau;
  - 5) La description des installations de production et de distribution d'eau ;

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Directive 2006/113/CE du Parlement européen et du Conseil du 12 décembre 2006 relative à la qualité requise des eaux conchylicoles (indiquant notamment « coliformes fécaux/100mL : ≤ 300 dans la chair de coquillage et le liquide intervalvaire ») et Note de service DGAL/SDSSA/N2003-8058 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 (indiquant notamment « la présente note introduit des indicateurs de la conformité de l'eau de mer pompée à l'objectif de disposer d'eau de mer propre : une telle eau doit présenter :

<sup>-</sup> une teneur inférieure à 15 *E.coli* dans 100 ml selon la méthode normalisée NF ISO 9308-3 (NPP) [ou selon une autre méthode normalisée ou validée telle la norme NF ISO 9308-1] et

<sup>-</sup> absence de salmonelles dans 5 litres selon la méthode ISO 6340 ».

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Tels que l'influence du débit d'un fleuve à proximité du point de pompage.

- 6) La description des modalités de surveillance de la qualité de l'eau (autocontrôles sur l'eau de mer brute et l'eau de mer traitée).
- rappelle que, dans l'état actuel des connaissances et en l'absence de fixation par les autorités sanitaires d'objectifs de santé publique, le CES « Microbiologie » n'est pas en mesure de fixer des critères microbiologiques pour l'eau de mer utilisée dans les usages pré-mentionnés,
- recommande que soient générées les données complémentaires suivantes concernant le volet microbiologique (cf Annexe 1) :
  - 7) des données concernant le danger « Vibrio », notamment via la réalisation d'études locales dans les criées pour mieux connaître les niveaux de contamination de l'eau de mer; de même, il serait également intéressant de réaliser des études locales sur L. monocytogenes;
  - 8) des études environnementales sur l'eau de mer et les produits de la pêche concernant les aspects de virologie, parasitologie et bactériologie afin de déterminer la présence de ces micro-organismes dans ces matrices. Il conviendra alors de déterminer s'il est pertinent de les rechercher, notamment dès lors que des méthodes d'analyse seront disponibles en routine.

Les conclusions émises par le CES « Microbiologie » sont présentées de manière schématique dans la **Figure 1**.

#### S'agissant des contaminants chimiques

Les contaminants chimiques ne sont pas réglementés directement dans l'eau de mer. En revanche, les produits de la pêche sont soumis au règlement (CE) n°1881/2006<sup>4</sup> qui fixe des teneurs maximales pour le plomb, le cadmium, le mercure, les dioxines et les PCB de type dioxine, ainsi que les hydrocarbures aromatiques polycycliques.

Dans l'eau de mer, les contaminants chimiques sont présents soit sous forme dissoute, soit sous forme particulaire adsorbés sur les matières en suspension, cette dernière étant largement majoritaire.

Les composés hydrophobes (PCB, dioxines, HAP, TBT), qui sont les contaminants chimiques les plus susceptibles de contaminer les poissons lors de leur manipulation avec de l'eau de mer propre, ont une solubilité dans l'eau extrêmement faible. De fait, leurs teneurs dans l'eau de mer sont en général très basses. Par exemple, les teneurs en PCB dans l'eau de mer filtrée sont souvent de l'ordre du pg/L (OSPAR, Bilan 2000). En outre, la mise en place d'un traitement d'adsorption sur charbon actif permet de garantir leur rétention.

En conséquence, le CES « Résidus et contaminants chimiques et physiques » considère qu'il n'est pas pertinent de retenir l'ensemble des paramètres chimiques paplicables à l'eau destinée à la consommation humaine pour définir les critères de qualité pour l'eau de mer propre et recommande, dans les deux situations suivantes :

- pompage d'eau de mer du large avec une turbidité > 1 NFU
- pompage d'eau de mer côtière

la mise en place d'un traitement de rétention et d'adsorption, permettant d'assurer la sécurité sanitaire des consommateurs de produits de la pêche.

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> Règlement (CE) n°1881/2006 de la Commission du 19 décembre 2006 portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires

<sup>&</sup>lt;sup>5</sup> Arrêté du 11 janvier 2007 relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R. 1321-2, R. 1321-3, R. 1321-7 et R. 1321-38 du code de la santé publique.

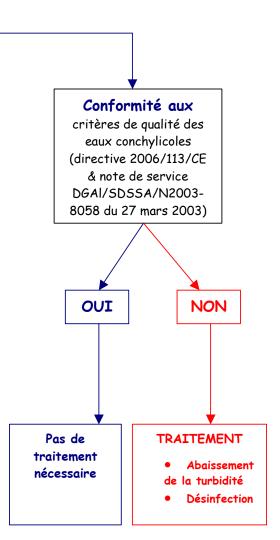
## Figure 1:

Synthèse de l'expertise menée par le CES « Microbiologie » pour la mise en place de règles hygiéniques d'utilisation de l'eau de mer propre pour la manipulation des produits de la pêche.

# DOSSIER de demande d'autorisation

comportant les éléments suivants :

- 1. Etude préalable de la composition de l'eau de mer brute au niveau du point de pompage, notamment concernant *E. coli* et la turbidité
- 2. Evaluation des risques de dégradation de la qualité de l'eau
- 3. Etude de la vulnérabilité de la ressource et des mesures de protection à mettre en place
- 4. Justification des produits et procédés de traitement à mettre en œuvre si nécessaire & démonstration de l'innocuité et de l'efficacité / qualité de l'eau de mer à traiter
- **5**. Description des installations de production et de distribution d'eau
- **6**. Description des modalités de surveillance de la qualité de l'eau (autocontrôles)



## **Evaluation**

Par les autorités sanitaires

#### S'agissant des phycotoxines

La présence d'efflorescences de certains genres ou espèces de phytoplancton dans les eaux littorales peut engendrer 2 types d'impact distincts. Le cas le plus répandu sur les côtes françaises correspond au développement d'espèces toxiques qui peuvent s'accumuler dans les coquillages filtreurs et provoquer des intoxications chez le consommateur. Dans l'autre cas, certaines espèces potentiellement nuisibles présentes sur le littoral français peuvent provoquer des altérations et/ou des mortalités massives de poissons et d'autres organismes marins par contact direct, sans phénomène de bioaccumulation, par exemple en libérant des hémolysines.

#### Phytoplancton toxique

En France, des seuils de phytoplancton ont été définis pour chacun des genres (*Dinophysis, Alexandrium, Pseudo-Nitzschia*) afin de déclencher le contrôle du niveau de toxines bioaccumulées dans les coquillages. Ces seuils sont indicateurs d'un risque potentiel pour le consommateur de coquillages susceptible d'être exposé à une quantité de toxines accumulées par le filtreur pendant plusieurs jours. En dehors des cas de viviers de poissons et de crustacés, pour lesquels aucune donnée bibliographique n'est disponible, l'utilisation d'eau de mer en criée et en établissements à terre ne peut provoquer de phénomène de bioaccumulation de toxines. Il est toutefois possible de considérer qu'un certain nombre de cellules phytoplanctoniques toxiques ou de toxines (si les cellules sont lysées) peuvent se déposer sur les produits en contact avec l'eau, sans pour autant que les niveaux de toxines puissent atteindre ceux observés par bioaccumulation.

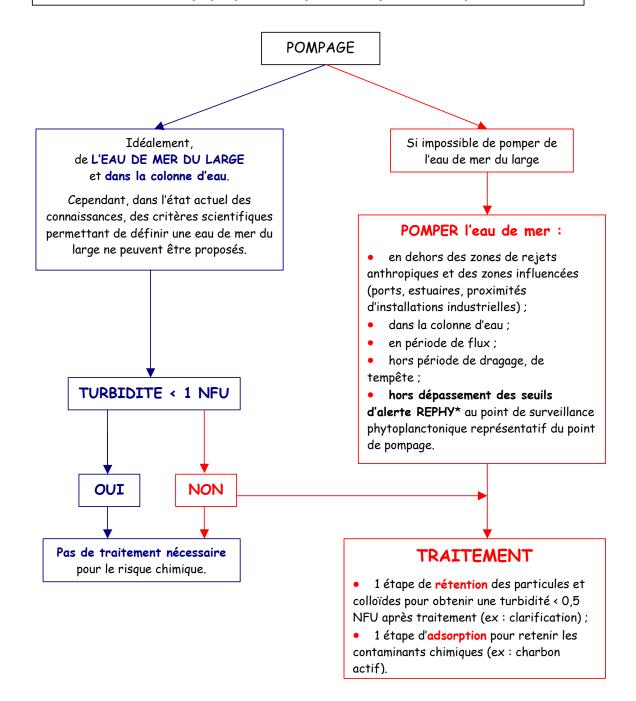
#### Phytoplancton nuisible

Les espèces nuisibles (par exemple certaines espèces des genres *Gymnodinium* et *Gyrodinium*) provoquent des altérations voire la mortalité des organismes aquatiques par anoxie du milieu, par effets mécaniques, ou par libération de toxines. Il existe très peu de données sur le risque que ces toxines pourraient présenter pour l'homme lors de l'ingestion ou par contact lors de la manipulation. Par ailleurs, une dégradation massive de poissons peut affecter notablement la qualité générale de l'eau environnante.

Les conclusions émises par le CES « Résidus et Contaminants Chimiques et Physiques » sont présentées de manière schématique dans la **Figure 2**.

Figure 2:

Synthèse de l'expertise menée par le CES « Résidus et Contaminants Chimiques et Physiques » pour la mise en place de règles hygiéniques d'utilisation de l'eau de mer propre pour la manipulation des produits de la pêche.



<sup>\*</sup>Sauf si l'alerte REPHY s'avère correspondre, en analyse complémentaire, à une espèce ou un genre non toxique.

#### 8. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AFSSA

Les points critiques évoqués par les comités d'experts spécialisés consultés, au regard de la problématique de la qualification de l'eau de mer propre par la manipulation des produits de la pêche dans les établissements à terre et dans les criées, sont notamment :

- les conditions de pompage
- les paramètres qui pourraient justifier la mise en place d'un traitement de l'eau de mer utilisée
- les phycotoxines
- le suivi de la qualité de l'eau de mer propre.

## 1. Considérant les conditions de pompage

Sauf exception dans le cas de conditions locales scientifiquement documentées, l'Afssa recommande de pomper de l'eau de mer en dehors des zones de rejets anthropiques, en profondeur (dans la colonne d'eau), en période de flux et non de reflux et en dehors de toute opération de dragage ou de forte tempête.

En conséquence, l'Afssa recommande de ne pas pomper l'eau de mer dans les zones fréquemment polluées par les contaminants chimiques comme les eaux estuariennes, les eaux portuaires<sup>6</sup> et celles situées à proximité des installations industrielles.

Les critères adoptés par la convention OSPAR pour les évaluations périodiques de l'état des eaux de la convention pourraient être pris en compte dans la définition de la zone de pompage d'une eau de mer propre, notamment les EAC (Ecotoxicological Assessment Criteria, traduit par "Critères d'évaluation écotoxicologique") qui correspondent à des concentrations au-dessous desquelles les effets biologiques négatifs sont considérés comme minimes (Annexe 2).

## 2. Considérant les paramètres qui pourraient justifier la mise en place d'un traitement de l'eau de mer utilisée

Considérant qu'il convient de prendre en compte la qualité initiale de l'eau de mer utilisée, au regard des contaminations potentielles physico-chimiques et microbiologiques (notamment *via* la turbidité et le paramètre *E. coli*);

Considérant que les critères de qualité des eaux conchylicoles tels que définis par la directive 2006/113/CE et la note de service DGAI/SDSSA/N2003-8058 du 27 mars 2003 :

- ne prennent pas en compte les dangers parasitaires ;
- ne fournissent pas de paramètre quantifié ni pour les contaminants chimiques ni pour les matières en suspension;

Considérant qu'en l'état actuel des connaissances, des critères scientifiques permettant de définir l'eau de mer du large ne peuvent être proposés ;

Considérant qu'en pratique, c'est l'eau de mer côtière qui serait vraisemblablement pompée ;

Considérant qu'il apparaît peu réaliste, dans la pratique, d'élaborer des recommandations différentielles selon les différents usages envisagés pour l'eau de mer, même si le niveau de risque de contamination n'est pas strictement identique selon les usages.

<sup>&</sup>lt;sup>6</sup> L'eau des ports, qui est toujours polluée de quelque manière, ne devrait jamais être utilisée pour laver le poisson (*Codex alimentarius*, Code d'Usages International recommandé pour le Poisson Frais, CAC/RCP 09-1976).

Compte tenu de ces éléments, l'Afssa estime que l'eau de mer pourrait être utilisée pour les usages précités<sup>7</sup>, sous réserve que l'utilisateur puisse garantir, auprès des autorités sanitaires compétentes, la qualité de l'eau de mer propre utilisée sur la base d'un dossier comprenant :

- Une étude préalable de la composition de l'eau de mer brute (y compris les eaux forées) au niveau du point de pompage et de ses variations possibles.
  - L'évaluation des risques de dégradation de la qualité de l'eau.
- Une étude portant sur la vulnérabilité de la ressource et sur les mesures de protection à mettre en place.
  - La justification des produits et des procédés de traitement à mettre en œuvre.
  - La description des installations de production et de distribution d'eau.
  - La description des modalités de surveillance de la qualité de l'eau (autocontrôles).

Dans la mesure où, de façon pragmatique, il apparaît difficile d'assurer une surveillance continue de la ressource si celle-ci est vulnérable, l'Afssa estime que l'eau de mer devrait faire l'objet d'un traitement adapté à la qualité de la ressource, comportant les trois étapes suivantes :

- Une étape de rétention des particules et colloïdes pour obtenir une turbidité < 0,5 NFU après traitement, garantissant l'efficacité du traitement appliqué (ex : clarification),
  - Une étape d'adsorption destinée à retenir les contaminants chimiques (ex : charbon actif),
- Une étape de désinfection visant à éliminer les contaminants microbiologiques (ex : UV), ces étapes permettant *in fine* d'assurer la sécurité sanitaire des consommateurs de produits de la pêche.

#### 3. Considérant le risque phycotoxinique

Considérant qu'aucun traitement n'est actuellement disponible pour retenir ou éliminer efficacement les phycotoxines marines, l'Afssa recommande de suspendre le pompage de l'eau de mer en cas de dépassement des seuils d'alerte REPHY<sup>8</sup> au point de surveillance phytoplanctonique représentatif du point de pompage.

Si l'alerte phytoplanctonique s'avère correspondre, en analyse complémentaire, à une espèce (genre) non toxique, le pompage pourra reprendre.

#### 4. Considérant le suivi de la qualité de l'eau de mer utilisée

L'Afssa estime que l'exploitant devra mettre en place un système de gestion globale de la qualité de l'eau produite validé par l'autorité sanitaire. La dérive éventuelle de l'évolution de la qualité de la ressource devra être surveillée par des analyses appropriées.

Par ailleurs, l'Afssa recommande que les utilisateurs de l'eau de mer propre mettent en place une démarche qualité leur permettant notamment de répertorier par usage les dangers, les risques potentiels, les mesures préventives et de maîtrise à appliquer, les mesures générales d'hygiène, les opérations de nettoyage et de désinfection, les autocontrôles à mettre en œuvre.

Il conviendra, en outre, de s'assurer que les conditions de stockage ne conduisent pas à une dégradation de la qualité de l'eau de mer traitée.

De plus, site par site, les conditions de prélèvements et de rejets de l'eau de mer devront être spécifiées pour réduire au maximum les impacts à la fois vis-à-vis du produit de la pêche, de l'environnement et des stations d'épuration, conformément à la réglementation en vigueur.

<sup>7</sup> Alimentation en eau des viviers de poissons et de crustacés; lavage et refroidissement des crustacés et des mollusques après cuisson; manipulation et lavage des produits non transformés tels que les filets et tranches de poissons; lavage des produits de la pêche entiers, éviscérés, étêtés; fabrication de glace destinée au refroidissement et à la conservation des produits de la pêche frais ou transformés; nettoyage des installations et des équipements

<sup>&</sup>lt;sup>8</sup> REPHY: Réseau de surveillance du phytoplancton et des phycotoxines, coordonné par l'Ifremer.

#### Situation particulière d'usage de l'eau de mer propre

Concernant la situation particulière d'utilisation <u>d'eau de mer reconstituée</u> pour les viviers, sur la base des informations fournies par la Direction générale de l'alimentation, l'Afssa ne dispose pas à ce jour de données suffisantes sur la qualité des sels utilisés (présence de contaminants chimiques) pour statuer sur la sécurité sanitaire des produits de la pêche concernés (crustacés). Une clarification réglementaire de cette utilisation serait souhaitable.

Tels sont les éléments que l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments est en mesure de fournir aux autorités sanitaires en réponse à la saisine sus-mentionnée. Par ailleurs, l'Afssa souligne la nécessité que :

- soit réalisé un recensement des utilisations de l'eau de mer par les criées et les établissement à terre;
- en application du Paquet hygiène, soient élaborés des guides de bonnes pratiques d'hygiène et d'application des principes HACCP dans les filières appropriées, tenant compte de cette problématique d'utilisation de l'eau de mer propre.

D'autre part, comme demandé par le CES « Microbiologie », il serait souhaitable d'acquérir des connaissances concernant le comportement des micro-organismes pathogènes en milieu marin (*Vibrio, Listeria monocytogenes*, etc.), à travers des études environnementales sur l'eau de mer et les produits de la pêche.

Les conclusions émises par l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sont présentées de manière schématique dans la **Figure 3**.

## Figure 3:

Synthèse des conclusions et recommandations de l'Afssa pour la mise en place de règles hygiéniques d'utilisation de l'eau de mer propre pour la manipulation des produits de la pêche.

ETUDE PREALABLE de la composition de l'eau de mer brute au niveau des points de pompage potentiels\*

#### CHOIX du POINT DE POMPAGE

**Identification du POINT REPHY « eau » représentatif**. S'il n'en existe pas, assurer une surveillance phytoplanctonique de l'eau au point de pompage.

#### CONDITIONS DE POMPAGE

- Hauteur dans la colonne d'eau, période (marée, dragage, tempête) à déterminer
- Hors dépassement des seuils d'alerte REPHY\*\* au point de surveillance phytoplanctonique représentatif du point de pompage

#### DOSSIER CONSTITUÉ PAR L'UTILISATEUR D'EAU DE MER PROPRE

- 1. Evaluation des risques de dégradation de la qualité de l'eau
- 2. Etude de la vulnérabilité de la ressource et des mesures de protection à mettre en place
- 3. Justification des produits et procédés de traitement à mettre en œuvre si nécessaire
- 4. Description des installations de production et de distribution d'eau
- 5. Description des modalités de surveillance de la qualité de l'eau (autocontrôles sur l'eau de mer brute et traitée)

Conformité aux critères de qualité des eaux conchylicoles

(directive 2006/113/CE et note de service DGAI/SDSSA/N2003-8058 du 27 mars 2003)

#### **1**

#### L'Afssa considère que :

- les critères de qualité des eaux conchylicoles ne prennent pas en compte les dangers parasitaires ; et ne fournissent pas de paramètre quantifié ni pour les contaminants chimiques ni pour les matières en suspension
- en pratique, l'eau de mer côtière sera vraisemblablement pompée
- de façon pragmatique, il apparaît difficile d'assurer une surveillance continue de la ressource si celle-ci est vulnérable.

En conséquence, l'Afssa estime que l'eau de mer <u>devrait</u> faire l'objet d'un traitement de rétention, d'adsorption et de désinfection pour répondre à la définition d'une eau de mer propre.



## TRAITEMENT

- 1 étape de **rétention** des particules et colloïdes pour obtenir une **turbidité** < **0,5 NFU** après traitement, garantissant l'efficacité du traitement appliqué (ex : clarification) ;
- 1 étape d'adsorption pour retenir les contaminants chimiques (ex : charbon actif);
- 1 étape de désinfection pour éliminer les dangers microbiologiques (ex : UV) ; cette association des 3 étapes permettant *in fine* d'assurer la sécurité du consommateur de produits de la pêche.

#### **Evaluation**

par les autorités sanitaires locales

<sup>\*</sup>Dans la convention OSPAR, les EAC (critères d'évaluation écotoxicologiques) dans les sédiments sont indicatifs d'un risque potentiel ; ils peuvent servir de guide dans le choix d'une zone de nomnage pour éviter le risque de relargage des substances adsorbées sur les particules

pompage pour éviter le risque de relargage des substances adsorbées sur les particules. \*\*Sauf si l'alerte REPHY s'avère correspondre, en analyse complémentaire, à une espèce ou un genre non toxique.

#### 9. Principales references bibliographiques

- AFSSA. Rapport « Rapport sur les infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau : évaluation scientifique des risques associés à *Cryptosporidium* sp. ». 2002.
- AFSSA. Rapport « Bilan des connaissances relatives aux virus transmissibles à l'homme par voie orale ». 2007.
- AFSSA. Rapport « Toxoplasmose : état des connaissances et évaluation du risque lié à l'alimentation ». 2005.
- Alzieu C, Michel P. L'étain et les organoétains en milieu marin : biogéochimie et écotoxicologie. *Repères Océan n°15*, .1998, édition lfremer, 104 p.
- Amiard J-C, Queguiner F, Camus Y. Variations spatiales des concentrations métalliques (Cd, Cu, Pb) des eaux de la mer d'Iroise. Oceanol. Acta, 1991, 14 (2), 141-150.
- Anonyme. Système d'évaluation de la qualité de l'eau des cours d'eau. Rapport de présentation SEQ-Eau. Les études des Agences de l'eau N°64, 2000, 55 p.
- Aramini JJ, Stephen C, Dubey JP, Engelstoft C, Schwantje H, Ribble CS. Potential contamination of drinking water with *Toxoplasma gondii* oocysts. Epidemiol. Infect., 1999, 122, 305-315.
- Arkush KD, Miller MA, Leutenegger CM, Gardner IA, Packham AE, Heckeroth AR, Tenter AM, Barr BC, Conrad PA. Molecular and bioassay-based detection of *Toxoplasma gondii* oocyst uptake by mussels (*Mytilus galloprovincialis*). Int. J. Parasitol., 2003, 33, 1087-1097.
- Bahia-Oliveira LM., JL. Jones, J. Azevedo-Silva, et al. Highly endemic waterborne toxoplasmosis in North Rio de Janeiro State, Brazil. Emerg. Infect. Dis., 2003, 9, 55–62.
- Boutier B, Chiffoleau JF, Gonzalez JL, Lazur P, Auger D, Truquet I. Influence of the Gironde estuary outputs on cadmium concentrations in the coastal waters: consequences on the Marennes-Oléron Bay (France). *Oceanol. Acta*, 2000, 23, 745-757.
- Bowie Wr, King As, Werker DH et al. Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. Lancet, 1997, 350, 173-177.
- Buckle, K.A. (Ed.) 1989. Foodborne Microorganisms of Public Health Significance. AIFST (NSW Branch), Food Microbiology Group, P.O. Box 277, Pymble, NSW 2073, Australie.
- Commission OSPAR. Bilan de santé 2000. Londres. 108 + vii pp. http://www.ospar.org/fr/html/qsr2000/welcome2\_fr.htm
- Cotte L, Rabodonirina M, Chapuis F, et al. Waterborne outbreak of intestinal microsporidiosis in persons with and without human immunodeficiency virus infection. J Infect Dis. 1999;180:2003-2008.
- Coupe S, Delabre K, Pouillot R, Houdart S, Santillana-Hayat M, Derouin F. Detection of Cryptosporidium, Giardia and Enterocytozoon bieneusi in surface water, including recreational areas: a one-year prospective study. FEMS Immunol Med Microbiol. 2006 Aug;47(3):351-9.
- Dalle F, Roz P, Dautin G et al. Molecular characterization of isolates of waterborne Cryptosporidium spp. collected during an outbreak of gastroenteritis in South Burgundy, France. J. Clin. Microbiol. ,2003, 41, 2690-3.
- De Moura L., Bahia-Oliveira LM., Wada MY., et al. Waterborne toxoplasmosis, Brazil, from field to gene. Emerg Infect Dis., 2006;12, 326-9.
- Deng MQ, Cliver DO. Cryptosporidium parvum studies with dairy products. Int J Food Microbiol. 1999 Feb 2;46(2):113-21.
- Arrêté du 11 janvier 2007 relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R. 1321-2, R. 1321-3,
- Devier M-H, Augagneur S, Budzinski H, Le Menach K, Mora P, Narbonne J-F, Garrigues P. One-year monitoring survey of organic compounds (PAHs, PCBs, TBT), heavy metals and biomarkers in blue mussels from the Arcachon Bay, France. *J. Environ. Monit.*, 2005, 7, 224-240.
- Directive 2006/7/CE du parlement européen et du conseil du 15 février 2006 concernant la gestion de la qualité des eaux de baignade et abrogeant la directive 76/160/CEE.
- Directive 2006/113/CE du parlement européen et du conseil du 12 décembre 2006 relative à la qualité requise des eaux conchylicoles.
- Dowd S, Gerba C, Pepper I. Confirmation of the Human-Pathogenic microsporidia Enterocytozoon bieneusi, Encephalitozoon intestinalis, and *Vittaforma corneae* in water. Appl Environ Microbiol. 1998;64:3332-3335.
- Doyle, M.P. (Ed.) 1989. Foodborne Bacterial Pathogens. Marcel Dekker Inc.
- Dubey JP. Toxoplasma gondii oocysts survival under defined temperatures. J. Parasitol., 1998, 84, 862-65
- Dubey JP, Zarnke R, Thomas NJ, Wong SK, Van Bonn W, Briggs M, Davis JW, Ewing R, Mense M, Kwok OCH. *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum, Sarcocystis neurona*, and *Sarcocystis* canis-like infections in marine mammals. Vet Parasitol. 2003;30:275-96.
- Dumètre A, Dardé, ML. Immunomagnetic separation of *Toxoplasma gondii* oocysts using a monoclonal antibody directed against the oocysts wall. J Microbiol Meth. 2005;61:209-17.
- EL Marrakchi A, Boum'handi N, Hamama A. Performance of a new chromogenic plating medium for the isolation of Listeria monocytogenes from marine environments. Lett Appl Microbiol. 2005;40(2):87-91.
- Erickson MC, Ortega YR. Inactivation of protozoan parasites in food, water, and environmental systems. J Food Prot. 2006 69:2786-
- EU Scientific Veterinary Working Group on Faecal coliforms in Shellfish », Août 1996. Report on the equivalence of EU and US legislation for the sanitary production of live bivalve molluscs for human consumption. 13p + figures.

- Farber, I.M. 1986. Predictive modeling of food deterioration and safety. In *Foodborne Microorganisms and their Toxins: Developing Methodology.* EDS: M.D. Person and N.J. Sterns. Marcel Dekker Inc., 57–90.
- Fayer R, Graczyk TK, Lewis EJ, Trout JM, Farley CA. Survival of infectious *Cryptosporidium parvum* oocysts in seawater and eastern oysters (*Crassostrea virginica*) in the Chesapeake Bay. Appl. Environ. Microbiol., 1998, 64, 1070-1074.
- Fayer R, Trout JM, Lewis EJ, Santin M, Zhou L, Lal AA, Xiao L. Contamination of Atlantic coast commercial shellfish with *Cryptosporidium*. Parasitol. Res., 2003, 89, 141-145.
- Favennec L., Magne D., Chochillon C., Gargala G., Gobert J.-G. Infections intestinales humaines à *Giardia duodenalis*. EMC (Elsevier SAS, Paris), Maladies infectieuses, 8-515-A-10, 2006.
- Frenkel JK, Dubey JP. Effects of freezing on the viability of *Toxoplasma* oocysts. J Parasitol. 1973;59:587-8.
- Fournier S, Dubrou S, Liguory O, Gaussin F, Santillana-Hayat M, Sarfati C, Molina JM, Derouin F. Detection of Microsporidia, cryptosporidia and Giardia in swimming pools: a one-year prospective study. FEMS Immunol Med Microbiol. 2002 Jul 12;33(3):209-13.
- Fournier S, Liguory O, Santillana-Hayat M, Guillot E, Sarfati C, Dumoutier N, Molina J, Derouin F. Detection of microsporidia in surface water: a one-year follow-up study. FEMS Immunol Med Microbiol. 2000 Oct;29(2):95-100.
- Fournier S, Liguory O, Garrait V, Gangneux JP, Sarfati C, Derouin F, Molina JM. Microsporidiosis due to Enterocytozoon bieneusi infection as a possible cause of traveller's diarrhea. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1998 Oct;17(10):743-4.
- Graczyk TK, Marcogliese DJ, de Lafontaine Y, Da Silva AJ, Mhangami-Ruwende B, Pieniazek NJ. *Cryptosporidium parvum* oocysts in zebra mussels (*Dreissena polymorpha*): evidence from the St Lawrence River. Parasitol. Res., 2001, 87, 231-234.
- Graczyk TK, Conn DB, Marcogliese DJ, Graczyk H, de Lafontaine Y. Accumulation of human waterborne parasites by zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) and Asian freshwater clams (*Corbicula fluminea*). Parasitol. Res., 2003, 89,107-112.
- Guillonet J. Pollution des eaux d'alimentation à Sète survenue en septembre 1998. Rapport final d'enquête épidémiologique. DDASS de l'Hérault, Montpellier, France.2000.
- Gofti-Laroche L. « Epidémie de gastro-entérites liée à la pollution du réseau de distribution d'eau potable de la commune de Divonnesles-Bains, Ain, France, août-septembre 2003 ». Institut de veille sanitaire, CIRE Rhône- Alpes- Auvergne. DRASS Rhône- Alpes, 2003.
- IFREMER. Valeurs indicatives de concentrations maximales dans les eaux marines. RNO, 1980. IFREMER édition.
- Isaac-Renton J, Bowie WR, King A, Irwin GS, Ong CS, Fung CP, Shokeir MO, Dubey JP. Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in drinking water. Appl Environ Microb. 1998;64:2278-80.
- Korich DG, Mead JR, Madore MS, Sinclair NA, Sterling CR. Effects of ozone, chlorine dioxyde, chlorine and monochloramine on *Cryptosporidium parvum* oocysts viability. Appl. Environ. Microbiol. 1990, 56, 1423-1428.
- Kourenti, C., A. Heckeroth, A. Tenter, P. Karanis. Development and application of different methods for the detection of *Toxoplasma gondii* in water. Appl. Environ. Microbiol., 2003, 69:102–106.
- LeChevallier MW, Norton WD, Lee RG. Occurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium* spp. in surface water supplies. Appl. Environ. Microbiol., 1991, 57, 2610-2616.
- LeChevallier MW, Moser RH. Occurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in raw and finished drinking water. J. Am. Water Works Assoc., 1995, 87, 54-68.
- Levy DA, Bens MS, Craun GF, Calderon RL, Herwaldt BL. Surveillance for waterborne-disease outbreaks--United States, 1995-1996. MMWR CDC Surveill. Summ., 1998, 47, 1-34.
- Li X, Guyot K, Dei-Cas E, Mallard JP, Ballet JJ, Brasseur P. Cryptosporidium oocysts in mussels (Mytilus edulis) from Normandy (France). Int J Food Microbiol. 2006 108(3):321-5.
- Lindsay DS, Phelps KK, Smith SA, Flick G, Sumner SS, Dubey JP. Removal of *Toxoplasma gondii* oocysts from sea water by eastern oysters (*Crassostrea virginica*). J. Eukaryot. Microbiol., 2001, Suppl, 197S-198S.
- Lindsay DS, Blagburn BL, Dubey JP. Survival of nonsporulated *Toxoplasma gondii* oocysts under refrigerator conditions. Vet. Parasitol., 2002, 103, 309-313.
- Lindsay DS, Collins MV, Mitchell SM, Cole RA, Flick GJ, Wetch CN, Lindquist A, Dubey JP. Sporulation and survival of *Toxoplasma gondii* oocysts in seawater. J. Eukaryot. Microbiol., 2003, 50, 687-688.
- McKenzie WR, Hoxie NJ, Proctor ME, Gradus MS, Blair KA, Peterson DE, Kazmierczak JJ, Addiss DG, Fox KR, Rose JB. A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. N. Eng. J. Med., 1994, 331, 161-167.
- Melo PC, Teodosio J, Reis J, Duarte A, Costa JC, Fonseca IP. Cryptosporidium spp. in Freshwater Bivalves in Portugal. The Journal of Eukaryotic Microbiology 2006 53:S1-S28.
- Mendez-Hermida F, Gomez-Couzo H, Ares-Mazas E. Artemia is capable of spreading oocysts of *Cryptosporidium* and the cysts of Giardia. J Eukaryot Microbiol, 2006, 53 (6): 432-4.
- Mérian E, Anke M, Ihnat M, Stoeppler M. Elements and their Compounds in the Environment. 2004. Wiley-VCH, Weiheim.
- Miller MA, Gardner IA, Kreuder C, Paradies DM, Worcester KR, Jessup DA, Dodd E, Harris MD, Ames JA, Packham AE, Conrad PA. Coastal freshwater runoff is a risk factor for *Toxoplasma gondii* infection of southern sea otters (*Enhydra lutris nereis*). Int J Parasitol. 2002;32:997-1006.
- Ministère de l'Environnement. Grille de lecture de la qualité des eaux de mer. Groupe d'échange des CQEL, 1993.

- Moorehead WP, Guasparini R, Donovan CA, Mathias RG, Cottle R, Baytalan G. Giardiasis outbreak from a chlorinated community water supply. Can. J. Public Health., 1990, 81, 358-362.
- Pereira Da Fonseca I, Ramos PS, Ruano FA, Duarte AP, Costa JC, Almeida AC, Falcão ML, Fazendeiro MI. Efficacy of Commercial Cleansing Procedures in Eliminating Cryptosporidium parvum Oocysts from Bivalves. The Journal of Eukaryotic Microbiology 2006 53:S1 S49.
- Rabold JG, Hoge CW, Shlim DR, Kefford C, Rajah R, Echeverria P. *Cyclospora* outbreak associated with chlorinated drinking water. Lancet, 1994, 344, 1360-1361.
- Robert P, Clément M, Randon G, Crocq, Seux R. Etude des facteurs influençant la rétention des protozoaires au cours des différentes étapes de production d'eau alimentaire. ECHELLE industrielle et pliote. TSM, n°5, 2006.
- Rochelle PA, De Leon R, Johnson A, Stewart MH, Wolfe RL. Evaluation of immunomagnetic separation for recovery of infectious *Cryptosporidium parvum* oocysts from environmental samples. Appl. Environ. Microbiol., 1999, 65, 841-845.
- Smith JL. Foodborne toxoplasmosis. J Food Safety. 1991;12:17-57.
- Thurman R, Faulkner B, Veal D, Cramer G, Meiklejohn M. Water quality in rural Australia. J. Appl. Microbiol., 1998, 84, 627-632. US-EPA, National Recommended Water Quality Criteria. United States, Environmental Protection Agency 2006. EPA\_822\_R-02\_047. Varnam, A.H. and M.G. Evans 1991. *Foodborne Pathogens*. Wolfe Publishing Ltd.
- Villena I, Aubert D, Gomis P, Ferté H, Inglard M, Denis-Bisiaux H, Dondon JM, Pisano E, Ortis N, Pinon JM. Evaluation of a strategy for *Toxoplasma gondii* oocyst detection in water. Appl. Environ. Microbiol., 2004., 70:4035-9.

#### 10. Mots cles.

Eau de mer propre, produits de la pêche, contaminants microbiologiques, contaminants chimiques, hygiène, phycotoxines, biotoxines marines.

Pascale BRIAND

#### Annexe 1:

## Bilan des informations relatives aux dangers microbiologiques d'intérêt dans les produits de la pêche

S'agissant des dangers microbiologiques, différents types de contaminants microbiologiques sont susceptibles d'être présents dans l'eau de mer, et par suite, d'affecter les produits de la pêche. Trois grands types de dangers microbiologiques sont susceptibles d'affecter les produits de la pêche:

- les bactéries
- les virus
- les parasites

#### 1. Bactéries

Tableau 1. Facteurs limitant la croissance et la thermorésistance chez les bactéries pathogènes normalement présentes sur les produits de la mer (Groupe 1 - bactéries indigènes)

Bactéries pathogènes	Tempéra	ture(°C)	pН	aw	NaCl (%)	
	minimum	optimum	minimum	minimum	maximum	Thermorésistance
C. botulinum	C. botulinum					
protéolytique type A,B,F	10	environ 35	4,0–4,6	0,94	10	D <sub>121</sub> des spores = 0,1–0,25 min
non protéolytique type B,E,F,	3,3	environ 30	5,0	0,97	3–5	$D_{82,2}$ = 0,15–2,0 min dans le bouillon $D_{80}$ = 4,5–10,5 min dans les produits à forte teneur en protéines et en matières grasses <sup>6</sup>
Vibrio sp.	5–8	37	5,0			$D_{71} = 0.3 \text{ min}^{1}$
V. cholerae	5	37	6,0	0,97	<8	D <sub>55</sub> = 0,24 min <sup>2</sup>
V. parahaemolyticus	5	37	4,8	0,93	8–10	60°C pendant 5 min ont donné un déclin de 7 log <sub>10</sub> pour <i>V.</i> parahaemolyticus
V. vulnificus	8	37	5,0	0,94	5	
Aeromonas sp.	0–4	20–35	4,0		4–5	D <sub>55</sub> = 0,17 min <sup>5</sup>
Plesiomonas sp.	8	37	4,0		4–5	60°C/30 min. pas de survie <sup>7</sup>
Listeria monocytogènes	1	30–37	5,0	0,924	10	$D_{60}$ = 2,4 16,7 min dans les produits carnés <sup>3</sup> $D_{60}$ = 1,95–4,48 min dans le poisson (figure 3.3).

D'après Doyle (1989), Buckle (1989), Farber (1986) et Varnam et Evans (1991)

Tableau 2. Facteurs limitant la croissance et la thermorésistance chez les bactéries provenant du réservoir animal/humain (Groupe 2 -bactéries non indigènes)

Bactéries pathogènes	Température °C			рН	NaCl (%)	a <sub>w</sub>	Thermorésistance
Dacteries patriogenes	minimum	optimum	maximum	minimum	maximum	minimum	Thermoresistance
Salmonella	5	37	45–47	4,0	4–5	0,94	D <sub>60</sub> = 0,2–6,5 min
Shigella	7–10	37	44–46	5,5	4–5		60°C/5 min
E. coli	5–7	37	44–48	4,4	6		D <sub>60</sub> = 0,1 min D <sub>55</sub> = 5 min
Staphylococcus aureus	7	37	48	4,0	10–15	0,83	D <sub>60</sub> = 0,43–7,9 min
Staphylococcus aureus production de toxines	15	40–45	46	env.5,0	10	0,86	Grande stabilité de la toxine à la chaleur

D'après Doyle (1989), Buckle (1989), Varnam et Evans (1991) et Farber (1986)

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Schultz et al. (1984), <sup>2</sup> Delmore et Crisley (1979), <sup>3</sup> Farber et Peterkin (1991), <sup>4</sup> Nolan et al. (1992), <sup>5</sup> Condon et al. (1992), <sup>6</sup> Conner et al. (1989), <sup>7</sup> Miller et Koburger (1986).

#### Salmonella

Les données bibliographiques sont concordantes sur le point suivant : les *Salmonella* ne survivent pas longtemps en eau de mer. La sensibilité de *Salmonella* à différents facteurs est rappelée dans le Tableau 2. D'autre part s'il s'agit d'une nouvelle zone de pompage, il y aura lieu de vérifier au départ l'absence de *Salmonella*.

(Pour information, les *Salmonella* ne sont recherchées ni dans les eaux de distribution, ni dans les eaux minérales, mais uniquement dans les eaux de baignade).

#### Listeria monocytogenes

Comme Salmonella, Listeria monocytogenes résiste mal à la salinité de l'eau de mer. La sensibilité de Listeria monocytogenes à différents facteurs est rappelée dans le Tableau 1. Cette bactérie peut toutefois être détectée dans des zones littorales : à titre d'exemple une prévalence de 3,1% a été observée dans des prélèvements d'eau de mer sur différents sites du littoral de la région d'Agadir (El Marrakchi et al. 2005). Une présence temporaire n'est donc pas exclue. Un état des lieux serait nécessaire mais un critère relatif à Listeria monocytogenes ne semble pas justifié sur la base des connaissances actuelles.

#### Staphylococcus aureus

La sensibilité de *Staphylococcus aureus* à différents facteurs est rappelée dans le Tableau 2. Cette bactérie résiste à des concentrations élevées en sel, cette propriété pourrait justifier une vigilance particulière. En réalité la présence de S. aureus dans les aliments provient dans la quasi-totalité des cas de contaminations humaines (personnes malades ou porteurs sains ; présence au niveau de la peau et/ou de l'appareil respiratoire). S. aureus sera donc recherché au-delà, notamment en fin de process, mais il n'y a pas de justification pour retenir ce critère pour l'eau de mer.

#### Vibrio

Dans l'eau de mer, les vibrions ne correspondent pas à une flore contaminante, mais à une flore autochtone, naturelle, la question est de savoir si certains d'entre eux sont pathogènes.

Dans son avis de décembre 1999<sup>9</sup>, l'Afssa indiquait que les seuls vibrions potentiellement pathogènes par voie alimentaire dans les produits de la pêche sont *Vibrio cholerae* O1 et O139 et certains *Vibrio parahaemolyticus*. Dans son avis de juin 2003, l'Afssa considérait pour *V. parahaemolyticus* que seules les souches de *V. parahaemolyticus* possédant les gènes codant pour les hémolysines TDH et/ou TRH sont pathogènes.

S'agissant de *Vibrio parahaemolyticus*, la mise en œuvre d'analyses est actuellement très lourde à la fois pour la détection, le dénombrement (par la méthode du nombre le plus probable (NPP)) et la caractérisation (par des méthodes moléculaires). La mise en œuvre d'une méthode fiable et spécifique de PCR quantitative serait nécessaire pour pouvoir faire des propositions de critères *Vibrio*.

Pour information, les vibrions ne sont pas actuellement retenus dans les critères microbiologiques du règlement communautaire, mais un considérant du Règlement 2073/2005 mentionne *V. parahaemolyticus*.

En conclusion, il reste à résoudre certains problèmes méthodologiques relatifs aux vibrions. D'autre part, il est nécessaire d'accumuler des données en engageant des études.

La sensibilité de Vibrio parahaemolyticus à différents facteurs est rappelée dans le Tableau 1.

#### <u>Indicateurs de contamination : (indicateurs de pollution et d'efficacité de traitement)</u>

#### coliformes

Leur manque de spécificité limite l'intérêt de leur recherche. En effet de nombreuses espèces bactériennes appartenant au groupe des coliformes font partie de la microflore naturelle tellurique et aquacole.

- indicateurs de contamination fécale
  - Escherichia coli

<sup>&</sup>lt;sup>9</sup> - Avis n°1999 SA-0013 du 2 décembre 1999, concernant *V. cholerae*, *V. vulnificus* et *V. parahaemolyticus* ;

<sup>-</sup> Avis n°2003 SA-0039 du 25 juin 2003 relatif à la révision de l'arrêté ministériel du 21/12/1979 (pages 19 à 22).

Cette espèce présente une bonne spécificité et une définition taxonomique précise. C'est l'indicateur de contamination fécale incontournable. Il est particulièrement intéressant dans cette problématique pour faire le lien avec la filière coquillages.

La sensibilité d'Escherichia coli à différents facteurs est rappelée dans le Tableau 2.

- Entérocoques fécaux (Enterococcus faecalis, faecium)

Ils sont plus spécifiques que les Streptocoques fécaux (Streptocoques fécaux et Entérocoques fécaux survivent mieux que les autres en milieu marin)

#### 2. Virus

#### Danger viral et produits de la pêche

Le risque de transmission de virus à l'homme par des denrées alimentaires et ou des eaux de consommation est, en l'état actuel des connaissances, limité exclusivement aux virus appartenant au « péril fécal » : Virus de l'Hépatite A, virus de l'Hépatite E, les Calicivirus, (Norovirus et Sapovirus), Rotavirus, Astrovirus, Adenovirus des sous-types 40 et 41, les Reovirus, les Enterovirus et Parechovirus. Il s'agit d'agents viraux de transmission interhumaine, pour lesquels la contamination se fait par ingestion d'eau ou d'aliments contaminés, et qui dans ce contexte, sont responsable d'épidémies parfois très étendues.

De par leur résistance naturelle ils peuvent tous persister dans le milieu extérieur et notamment dans l'eau de mer. Par contre les virus sont incapable de se multiplier dans le milieu extérieur. La charge virale de l'eau de mer sera donc directement liée à la quantité de virus rejetée par l'homme (ou les animaux) dans ce milieu extérieur. La notion de transmission fécale orale commune à l'ensemble de ces virus implique une possibilité de transmission par l'eau de ces virus à des produits alimentaires en contact

La revue de la littérature récente et des alertes de santé ne montre pas de lien direct de transmission de ces virus par les produits de la pêche, seuls les coquillages sont un vecteur très fréquemment mis en cause. Le risque de transmission à l'homme des virus par les coquillages est directement lié à leur rôle de filtreur et concentrateur. Les coquillages étant exclus du champ de cette saisine, le reste du document n'est donc pas applicable à l'utilisation de l'eau de mer pour les coquillages.

#### Contamination virale de l'eau de mer

La proximité de rejet d'eaux usées provenant d'activité humaine est la source essentielle de contamination de l'eau de mer par ces virus "entériques".

Les compartiments environnementaux où les virus émis peuvent être retenus et persister, constituant ainsi une source secondaire virale potentielle, sont les sols, les eaux souterraines, les eaux de surface et les sédiments. Le sol semble, en général, constituer une barrière efficace au transfert des virus vers les nappes; de plus, l'abattement mesuré dans la zone saturée (nappe) n'est pas négligeable. En revanche pour les eaux superficielles, la remise en suspension des sédiments contribue à une re-contamination des masses d'eaux marines et environnementales. Le risque lié aux eaux de surface contaminées paraît également plus important en fonction de divers facteurs (principalement climatiques et anthropique) pouvant être à l'origine de leurs contaminations.

L'augmentation de la température diminue la survie des virus dans l'eau de mer. Une réduction de 90% de poliovirus et de parvovirus est obtenue en 3 jours à 28°C et en 10 jours à 6°C (Wait & Sobsey 2001). (Wetz *et al.* 2004) observent que le passage de 22°C à 30°C de la température de l'eau de mer filtrée entraîne une réduction du pouvoir infectieux et de l'ARN de poliovirus qui est plus rapide dès 22°C en eau de mer non filtrée, c'est-à-dire en présence de flore bactérienne.

Par ailleurs, l'adsorption des virus sur des particules favorise la persistance du pouvoir infectieux. En absence de particules, des entérovirus et rotavirus infectieux disparaissent en 9 jours alors qu'ils persistent 19 jours en leur présence (Rao *et al.* 1984a). Dans les estuaires, les entérovirus sont essentiellement présents sur les matières en suspension (LaBelle & Gerba 1979). Une estimation de la répartition des virus isolés dans la baie de Galveston (Etats-Unis) indique que la majorité des virus est associée à des particules en suspension de taille < 3 µm et à des sédiments floconneux. (Schernewski & Julich 2001a) évaluent l'impact spatial du rejet de produits résiduaires dans

l'estuaire de l'Oder et suggèrent que seuls les virus associés à des particules sont capables de rester infectieux et d'être disséminés à distance.

## Réglementation et suivi de la présence virale / zone de pompage de l'eau de mer

Le règlement (CE) n°2073/2005 précise dans son deuxième considérant que les denrées alimentaires ne doivent pas contenir de micro-organismes ni leurs toxines ou métabolites dans des quantités qui présentent un risque inacceptable pour la santé humaine. Dans ce règlement, sont ainsi définis sous le terme micro-organismes les bactéries, les virus, les levures, les moisissures, les algues, les protozoaires parasites, les helminthes parasites microscopiques, ainsi que leurs toxines et métabolites. Les virus entrent donc dans ce cadre. Néanmoins, aucun critère microbiologique réglementaire n'est fixé pour les virus dans quelque matrice alimentaire que ce soit. Ceci notamment faute de méthodes d'analyse suffisamment fiables. Le règlement précise ainsi dans son  $27^{\text{ème}}$  considérant qu'il conviendrait en particulier de fixer des critères applicables aux virus pathogènes dans les mollusques bivalves vivants si les méthodes d'analyse sont suffisamment développées.

Par ailleurs, le règlement (CE) n°2073/2005 précise, dans son  $12^{\text{ème}}$  considérant que les 30 et 31 janvier 2002, le CSMVSP a délivré un avis sur les virus de type Norwalk (ou norovirus). Dans son avis, le comité est parvenu à la conclusion que « les indicateurs fécaux conventionnels ne sont pas fiables pour démontrer la présence ou l'absence de virus de type Norwalk et que le recours à l'élimination des indicateurs bactériens fécaux pour déterminer les durées de purification des mollusques constituait une pratique dangereuse ». Le comité a également recommandé d'utiliser *E. coli* au lieu des coliformes fécaux pour déterminer la contamination fécale dans les zones de ramassage des mollusques lorsque des indicateurs bactériens sont appliqués. C'est donc l'indicateur *E. coli* qui est préconisé pour les produits décortiqués et décoquillés de crustacés et de mollusques cuits, et qui permet de tester la qualité des lots analysés. Le développement des méthodes d'analyse apparaît essentiel avant de fixer des critères applicables aux virus pathogènes dans les mollusques bivalves vivants. Pour cela un groupe de travail a été mis en place afin de valider une méthode horizontale pour la détection des norovirus et VHA dans les aliments par RT-PCR en temps réel (groupe CEN/TC275/WG6/TAG4).

Pour les produits de la pêche *stricto sensu*, il faut donc distinguer le danger viral lié à l'eau de mer de celui d'une transmission par l'homme lors de la transformation de ces produits. En effet un des modes de transmission le plus fréquemment identifié de ces virus est la contamination de l'aliment par un opérateur malade au travers des mains sales. Il faudra tenir compte de cet élément essentiel dans l'évaluation des différentes utilisations de l'eau de mer et de ses niveaux de propreté (salle de transformation).

Il semble indispensable que l'eau utilisée pour l'hygiène du personnel, et notamment le lavage des mains en salle de travail soit de l'eau potable, et que l'eau de mer utilisée dans ces mêmes ateliers soit de qualité équivalente donc traitée.

#### 3. Parasites

#### Présentation des parasites d'intérêt

La recherche des parasites dans l'eau destinée à la consommation humaine n'est pas systématique en France; elle est prise en compte dans le cadre de l'auto surveillance et dans le cadre de la qualité de l'eau brute lors de la demande de l'agrément de la filière de traitement.

Les différents textes réglementaires (Arrêté du 11 janvier 2007, Directive 2006/7/CE, directive 2006/113/CE) s'appliquant respectivement aux eaux destinées à la consommation humaine, à la gestion de la qualité des eaux de baignade ou à la qualité requise des eaux conchylicoles ne fixent pas de limite de qualité relative spécifiquement aux parasites. Les parasites (en particulier les protozoaires) constituent un risque de contamination de l'eau et plusieurs épidémies hydriques d'origine parasitaire ont été rapportées. Parmi les parasites le plus souvent incriminés, *Cryptosporidium* spp. et Giardia sont en majorité retrouvés peut être du fait que des techniques de détection applicables spécifiquement dans l'eau existent principalement pour ces deux microorganismes (NF 90-455 T, juillet 2001). La détection de ces parasites figure comme analyse optionnelle dans l'arrêté du 24 janvier 2005 relatif aux conditions d'agrément des laboratoires pour

la réalisation des prélèvements et des analyses du contrôle sanitaire des eaux (J.O. du 22 février 2005).

Parmi les parasites, les **protozoaires** représentent le risque majeur notamment par leur caractère ubiquitaire et parce qu'ils présentent dans leur cycle une phase de dissémination environnementale. Ces parasites sont excrétés par différents hôtes (mammifères domestiques, synanthropes et sauvages, hommes) sous forme de kystes ou d'oocystes dont la caractéristique majeure est d'être particulièrement résistants aux conditions environnementales de température et d'hygrométrie. Dans l'environnement, le lessivage des sols représente un facteur de dissémination important, source de contamination des ressources naturelles. **La diffusion dans l'eau de mer est donc possible**. La grande résistance des protozoaires aux procédés usuels actuels de désinfection (Korich et al., 1990) rend l'évaluation de ces risques sanitaires indispensables pour mieux identifier l'exposition réelle de la population. Les principaux parasites qui peuvent être à l'origine d'une contamination hydrique sont décrits ci-dessous :

**Cryptosporidium** est un parasite excrété en grande quantité par les animaux (10<sup>7</sup> à 10<sup>9</sup> par gramme de fèces pour un veau) ou les humains infectés. Les niveaux de contamination des eaux naturelles dépendent de nombreux facteurs dont le lessivage des sols et donc la pluviométrie. Les niveaux moyens de contamination dépendent également de la nature des ressources étudiées (eaux de surface, eaux souterraines en zone karstique) avec des niveaux souvent élevés notamment en zones d'élevage. De nombreuses épidémies liées à une contamination du réseau d'eau ont été rapportées dans le monde (LeChevallier, 1991,1995).

Giardia: la plupart des informations sur les facteurs de risques de la giardiase a été obtenue à partir d'investigations sur les épidémies rapportées. L'eau est un mode de transmission fréquemment identifié, la consommation d'eau du robinet étant reconnue comme un facteur de risque de giardiase (Moorehead, 1990; Levy, 1998). Cette pathologie représente, avec la cryptosporidiose, l'un des problèmes de santé publique liés à l'eau les plus importants dans les nations développées (Thurman, 1998). Pour Giardia, les mêmes sources de parasites que celles évoquées pour les oocystes de Cryptosporidium peuvent être incriminées. La survie des kystes de Giardia est importante. Dans les matières fécales humaines ou bovines, elle est de 15 à 30 jours (maximum 74 jours). Dans les eaux de surface, la survie des kystes varie de 28 à 56 jours suivant les conditions de température. Les kystes peuvent rester viables à 4°C pendant 90 jours et 66 jours entre 12 et 22°C. Dans les eaux de surface prélevées le pourcentage de kystes viables retrouvés varie de 3,5% à 18%. D'autres micro-organismes eucaryotes qualifiés d'émergents peuvent être responsables de contamination hydrique. Les microsporidies représentent un risque surtout pour les patients immunodéprimés. Ils constituent un groupe très vaste de microchampignons parasites qui comprend plus de 100 genres regroupant plus de 1000 espèces différentes dont seulement un faible pourcentage (11 espèces) sont responsables d'infection chez les patients. Si de très nombreuses espèces infestent le monde animal, principalement quatre espèces se partagent la pathologie humaine: Enterocytozoon bieneusi, Encephalitozoon intestinalis, E. hellem et E. cuniculi. La malabsorption avec diarrhée chronique représente la manifestation clinique la plus fréquente des microsporidioses intestinales. Parasitoses opportunistes, les microsporidioses sont essentiellement observées chez les patients atteint de SIDA présentant une profonde immunodépression. Aux Etats Unis, E. bieneusi et E. intestinalis ont aussi été retrouvés dans des eaux de surface et différents types d'effluents, confirmant une circulation parasitaire en milieu naturel (Dowd, 1998). Par ailleurs, l'implication de l'eau de distribution dans une épidémie de microsporidiose a été fortement suspectée à Lyon en 1995 (Cotte, 1999). Comme pour Cryptosporidium et Giardia, des contaminations liées aux eaux de baignade ont été décrites, mais la réglementation française n'impose pas de critères parasitologiques parmi les critères de surveillance. Les microsporidies pathogènes pour l'homme sont cependant bien présentes dans les eaux douces de surface et de piscine en France (Coupé et al, 2006; Fournier et al, 2000, 2002) et chez des bivalves d'eau douce en Irlande (Graczyick et al, 2004). Ces organismes pourraient donc se retrouver dans le littoral marin.

L'Apicomplexa **Toxoplasma gondii** est nouvellement reconnu comme agent pathogène à transmission hydrique. La contamination est due aux oocystes, excrétés par les félidés au décours d'une infection. Ces formes parasitaires sont ainsi disséminées dans l'environnement non sporulées (=non directement infectantes), la sporulation se produisant en quelques jours (selon les conditions de température et d'hygrométrie du milieu) générant des oocystes infectants qui sont extrêmement résistants dans l'environnement. Ainsi les oocystes peuvent garder leur infectivité dans le sol pendant 18 mois à diverses températures (Frenkel, 1975). Les conditions de survie

dans l'eau ont été évaluées expérimentalement, pour des températures pouvant être observées en conditions naturelles. Les oocystes non sporulés ne perdent pas leur pouvoir infectieux après conservation à 4°C pendant 6 à 11semaines (Lindsay, 2002). La sporulation est possible dans l'eau de mer à 24°C (eau de mer artificielle à 15 et 32 g/L) (Lindsay, 2003). Les oocystes sporulés peuvent survivre et rester infectieux dans l'eau à température ambiante pendant 15 mois (Hutchison, 1967), à 4°C pendant au moins 54 mois (Dubey, 1998a), sans perte d'infectiosité pendant 18 mois (Dubey, 1998), après 6 mois dans l'eau de mer (15 g/L) à température ambiante ou à 4°C (Lindsay, 2003). Les oocystes sporulés gardent leur infectiosité après congélation constante pendant 28 jours à-21°C (Frenkel, 1973) et pendant 106 jours à des températures de -5 et -10°C. Par contre, ils perdent leur pouvoir infectieux à des températures élevées (en 2 jours à 45°C, en 2h à 50°C et en 1 minute à 60°C, Dubey, 1998). La plus grosse épidémie d'origine hydrique liée à ce parasite est survenue en 1995 dans la région métropolitaine de Victoria (Colombie Britannique) avec 110 cas d'infections recensées parmi la population civile. Cette épidémie de toxoplasmose est la plus importante jamais observée et la première à avoir été associée à l'eau potable d'une municipalité (Aramini, 1998 ; Bowie, 1997). D'autres épidémies ont été depuis rapportées (Bahia-Oliveira, 2003; de Moura, 2006). La seule méthode de détection proposée pour T. gondii, nécessitait une inoculation des culots d'eau (après filtration/ élution) à la souris avec un délai de réponse d'environ 7 semaines (Isaac-Renton, 1998). Depuis d'autres techniques de détection ont été développées basées sur des méthodes moléculaires (Kourenti, 2003; Villena, 2004) ou sur la détection à l'aide d'anticorps monoclonaux spécifiques (Dumètre, 2005). La détection d'ADN toxoplasmique dans des eaux destinées à la consommation humaine a ainsi été rapportée en France (Villena, 2004).

Parmi les autres parasites à transmission féco-orale, *Cyclospora cayetanensis* est considéré avant tout comme un agent pathogène à transmission hydrique, puisqu'il est en grande partie transmis par l'eau contaminée par les fèces. Les oocystes de *Cyclospora* résistent à la chloration (Rabold, 1994) mais sont détruits par l'ébullition. Même si ce mode de transmission demeure important dans des pays comme le Pérou, le Népal, Java, le Guatemala et Haïti où le parasite est endémique, de nombreuses flambées d'origine alimentaire ont été signalées ces dernières années au Canada et aux États-Unis. En dehors des Etats-Unis et du Canada, la plupart des cas rapportés de cyclosporose en Europe et en Australie sont associés à la notion de voyage dans les pays où la maladie est endémique (pays tropicaux). La diarrhée et l'amaigrissement sont les principaux symptômes de cette parasitose rare en France. Le risque de contamination de l'eau de mer paraît très faible.

Il est important de mentionner que dans la plupart des épidémies hydriques d'origine parasitaire, le contrôle sanitaire des eaux était conforme à la réglementation. Dans les épidémies liées aux produits de la mer, les parasites ne paraissent pas fréquemment impliqués, probablement par défaut de recherche de ces agents comme source potentielle d'infection. En France, ces parasites ne sont pas systématiquement recherchés dans les selles des sujets présentant des troubles digestifs avec diarrhées, ni dans les produits de la mer ou l'eau de consommation ou de baignade.

#### Eléments concernant l'évaluation du risque parasitaire

L'évaluation du risque sanitaire d'origine hydrique lié aux protozoaires est mal connue en raison principalement de la lourdeur des techniques de détection proposées comparativement aux méthodes usuelles de détection des autres micro-organismes dans l'eau, elle n'est actuellement proposée que pour les deux principaux pathogènes reconnus (*Cryptosporidium* et *Giardia*) en cas de suspicion de contamination du réseau d'eau (turbidités élevées par exemple). Une autre raison de la méconnaissance du risque sanitaire hydrique lié aux autres protozoaires parasites est l'absence de méthode spécifique pour leur détection dans l'environnement. Dans la mesure où les eaux fluviales se retrouveront dans les eaux de mer, et celles d'autres collections (lacs, etc.) peuvent ruisseler dans la mer, la présence de ces parasites dans ce dernier milieu ne peut donc être exclue. De nombreux parasites peuvent donc être ingérés par des poissons ou des coquillages, les bivalves jouant un rôle d'organismes concentrateurs. La présence de *Cryptosporidium*, *Giardia*, et microsporidies a d'ailleurs déjà été démontrée dans les moules et les huîtres aux USA (Fayer,1998; Graczyk, 2003) et en Europe (Li et al, 2006; Pereira et al, 2006; Melo et al, 2006).

La salinité de l'eau de mer pourrait affecter la viabilité de ces parasites. En effet, une salinité de 45 g/L (versus 5 g/L) accélère la perte de viabilité d'oocystes de *Cryptosporidium* stockés soit à 4°C

(x2.0), soit à 30°C (x1.2). Cependant, autres données indiquent que les oocystes de *C. parvum* peuvent demeurer vivants dans l'eau de mer à 6-8°C pendant 1 année (Erickson et Ortega, 2006).

Par ailleurs, pour l'utilisation de l'eau de mer pour la production de glace, on pourrait supposer le destruction ou l'inactivation des parasites pré-cités. Cependant, il faut demeurer prudent dans la mesure où *C. parvum* peut survivre longtemps dans la glace obtenue à partir d'eau potable. Dans du lait ou dans du jus de fruit *C. parvum* demeure vivant pendant plus de 3 semaines à –20°C. Quant à *Giardia*, il faut 84 jours à 0-3°C pour neutraliser totalement l'infectivité des kystes (voir la revue: Erickson et Ortega, 2006). Par contre, les données à propos de la survie de *Cryptosporidium parvum* dans des sorbets indiquent que seule une faible proportion d'oocystes survit 24 heures à – 20°C (Deng et Cliver, 1999). Enfin les oocystes de *T. gondii* peuvent rester viables après congélation constante pendant 28 jours à -21°C (Frenkel, 1973; Smith, 1991) et sans perte d'infectiosité pendant 106 jours à -5°C et -10°C (Dubey, 1998). Ainsi, la congélation peut ne pas être suffisante pour tuer la totalité des oocystes sporulés (Frenkel, 1973).

Procédures de désinfection et leur efficacité sur les parasites : effet UV ozone sur parasites

Sur *Cryptosporidium*, les UV ont un potentiel d'inactivation important vis à vis de ce parasite, l'efficacité d'inactivation dépendant de la dose d'UV (exprimée en mJ/cm²) réellement reçue par les oocystes. Pour le traitement des eaux, une dose de 25 à 40 mJ/cm² permettrait d'obtenir un abattement de 2 à 3 log pour une turbidité très faible (rapport AFSSA, 2002). Le traitement des oocystes de *Cryptosporidium* avec 1 mg/L d'ozone pendant 5 min permet de désactiver environ 90% des parasites (Korich, 1990). La filtration en particulier la nano-filtration reste la meilleure technique pour la rétention des oocystes de *Cryptosporidium*. Pour les oocystes de *T. gondii*, il n'existe pas de données publiées sur l'activité des UV et de l'ozone (rapport Afssa, 2005).

#### Détection des parasites

La détection des parasites dans l'eau implique une démarche différente de celle proposée pour la détection des bactéries et des virus. Pour cela, des méthodes de détection existent et sont déjà utilisées (Matheson et al., 1998) mais seule la détection simultanée des protozoaires les plus fréquemment impliqués dans les épidémies d'origine hydrique (*Cryptosporidium* et *Giardia*) a été normalisée.

Ainsi, il existe une méthode de détection et de dénombrement des oocystes de *Cryptosporidium* et des kystes de *Giardia* dans l'eau, normalisée (NF 90-455 T, juillet 2001). Elle comprend trois étapes successives : les parasites sont concentrés par filtration au travers d'une cartouche de porosité 1µm; après élution et centrifugation, le culot est récupéré et les parasites concentrés par immunoséparation magnétique avec des billes magnétiques sur lesquelles sont fixés des anticorps spécifiques des deux protozoaires. La détection et le dénombrement des oocystes et kystes est ensuite effectuée par immunofluorescence à l'aide d'anticorps spécifiques couplés à l'isothiocyanate de fluorescéine et comptage au microscope à fluorescence. Des techniques de détection par cytométrie de flux ont été également développées. Les rendements globaux de la méthode décrite sont cependant faibles (de l'ordre de 30 à 50%) dus à une perte des parasites lors de chacune des étapes (principalement au cours de la première étape de filtration). Pour améliorer la détection, des grands volumes de filtration sont nécessaires (100 litres); toutefois le colmatage des cartouches, souvent observé sur des eaux de turbidité élevée, limite encore les possibilités de la méthode.

Il n'existe pas de méthode de détection spécifique normalisée pour la détection des autres parasites. Toutefois, les différentes méthodes décrites comportent généralement toujours une étape de concentration préalable notamment par filtration comme cela est préconisé pour *Cryptosporidium* et *Giardia*. En l'absence d'anticorps monoclonaux spécifiques pour les autres espèces parasitaires, des billes magnétiques couplées ne sont pas disponibles rendant impossible la pratique de techniques d'immunoséparation. Les parasites sont alors détectés en général par PCR.

Pour *T. gondii* la récente description d'une méthode basée sur l'emploi d'anticorps monoclonaux (Dumètre, 2005) pourrait améliorer la détection de ce parasite dans l'environnement, les deux autres méthodes rapportées étant pour l'instant l'inoculation à la souris (avec délai de réponses différé de 4 semaines) (Isaac-Renton, 1998 ; de Moura, 2006) ou par biologie moléculaire (Villena, 2004).

La détection de *Cryptosporidium* et *Giardia* dans les eaux n'est pas directement corrélée à celle des bactéries principalement observées lors des contaminations du réseau (*E. coli*, coliformes totaux ou

entérocoques) ; toutefois la présence de bactéries sulfito-réductrices y compris sporulées peut inciter à rechercher la présence de ces parasites. Généralement, des indices de turbidité élevés sont associés à la détection de *Cryptosporidium* ou *Giardia* dans les eaux. Les évolutions parallèles des concentrations en protozoaires et de la turbidité au cours du traitement de la filière de production d'eau, confirment l'intérêt du suivi de ce paramètre comme indicateur de bon fonctionnement des installations de clarification (Robert, 2006).

#### Annexe 2:

#### La convention de l'OSPAR pour la protection du milieu marin de l'Atlantique du Nord-Est, Bilan de santé 2000

La Convention pour la protection du milieu marin de l'Atlantique du Nord-est, 1992 (dite "Convention OSPAR"), est chargée de prendre toutes les mesures possibles afin de prévenir et de supprimer la pollution ainsi que de prendre les mesures nécessaires à la protection de la zone maritime contre les effets préjudiciables des activités de l'homme, de manière à sauvegarder la santé de l'homme et à préserver les écosystèmes marins, et, lorsque cela est possible, à rétablir les zones marines qui ont subi ces effets préjudiciables. A ce titre, la Commission OSPAR réalise diverses études et recherches sur la qualité du milieu marin. Elle a notamment rassemblé les données des teneurs ambiantes de référence et a proposé des critères d'évaluation écotoxicologiques.

## 1. Les teneurs ambiantes de référence (BRC : Background Reference Concentrations) Ce sont des valeurs qui traduisent les teneurs naturelles hors contamination.

#### Cas des contaminants inorganiques

Fourchettes de teneurs ambiantes de référence des métaux dans les sédiments marins à granulométrie fine, dans l'eau de mer et chez la moule commune dans la zone OSPAR.

	Sédiments (métal/Al (x 10-4) ratio)	Eau de mer (ng L-1)	Moule commune (mg kg-1 poids frais)
Cadmium	0,007 - 0,04	5 – 25	0,07 – 0,11
Mercure	0,0034- 0,0066	0,1-0,5	0,005 - 0,01
Plomb	1,8 – 4	5 – 20	0.01 - 0.19
Cuivre	2,2-5,7	50 - 360	0,76 - 1,1

#### Cas des contaminants organiques

Les contaminants organiques sont d'origine anthropique pour la plupart. Ce sont les composés chlorés issus de l'industrie et de l'agriculture, les pesticides, les PCB et surtout les HAP dont les sources de contamination de l'eau de mer sont les plus diverses et les plus fréquentes. Ce sont tous des composés hydrophobes très peu solubles dans l'eau dont les teneurs sont très basses en pleine mer mais beaucoup plus élevées sur les côtes et notamment les zones portuaires, les estuaires et alentour les implantations industrielles. Il n'existe plus à travers le monde d'eau de mer exempte de trace de contamination organique. Ces composés hydrophobes mais généralement très volatiles sont transportés par les grands courants atmosphériques.

Pour les HAP les teneurs de référence en pleine mer sont données dans le tableau suivant.

Fourchettes de teneurs ambiantes de référence en HAP dans les eaux de surface (ng/L).

	Nord de la mer du	Centre et Sud de	Atlantique du Nord-
	Nord	la mer du Nord	Est
Benzo(a)pyrène	0,002 - 0,005	0,002 - 0,004	0,001
Fluoranthène	0,073 - 0,285	0,104 - 0,264	0,036 - 0,054
Benzo(b)fluoranthène	0,004 - 0,017	0,003 - 0,009	0,001 - 0,004
Pyrène	0,014 - 0,053	0,011 - 0,024	0,02 - 0,033

## 2. Les critères d'évaluation écotoxicologiques (EAC)

Les critères d'évaluation écotoxicologiques (EAC) sont définis comme les niveaux de concentration à partir desquels une préoccupation est justifiée. Ces critères visent à protéger la flore et la faune marines et n'ont aucune connotation de santé humaine. Les tableaux suivant indiquent les EAC de quelques contaminants inorganiques et organiques.

Critères d'évaluation écotoxicologiques applicables aux métaux.

	Eau de mer	Sédiments
	(µg L-1)	(mg kg <sup>-1</sup> poids sec)
Cadmium	0,01 – 0,1	0,1 – 1
Cuivre	0,005 - 0,05	5 – 50
Mercure	0.00 - 0.05	0,05 - 0,5
Plomb	0,5-5	5 – 50
Zinc	0,5 - 5	50 - 500

Critères d'évaluation écotoxicologiques applicables aux PCB, HAP, TBT et à certains pesticides organochlorés.

	Eau µg/l	Sédiments mg/kg poids sec
DDE Dieldrine Lindane	nr nr 0,0005 – 0,005	0,0005 - 0,005 0,0005 - 0,005 nr
Naphthalène Phénanthrène Anthracène Fluoranthène Pyrène Benz(a)anthracène Chrysène Benzo(a)pyrène	$\begin{array}{c} 5-50 \\ 0,5-5 \\ 0,001-0,01 \\ 0,01-0,1 \\ 0,05-0,5 \\ \text{nd} \\ \text{nd} \\ 0,01-0,1 \end{array}$	0.05 - 0.5 0.1 - 1 0.05 - 0.5 0.5 - 5 0.05 - 0.5 0.1 - 1 0.1 - 1
7PCB	nr	0,001 – 0,01
TBT	0,00001 - 0,0001	0,000005 - 0,00005

nr : ne concerne pas le programme actuel de surveillance ;

nd : aucune donnée n'est disponible ou les données disponibles sont insuffisantes ;

7 PCB = somme des congénères 28, 52, 101, 118, 138, 153, 180

Les EAC dans les sédiments sont indicatifs d'un risque potentiel. Ils pourraient servir de guide pour le choix d'une zone de pompage la plus appropriée pour éviter le risque de relargage des substances adsorbées sur les particules.

### REFERENCE

Commission OSPAR. Bilan de santé 2000. Londres. 108 + vii pp. http://www.ospar.org/fr/html/gsr2000/welcome2\_fr.htm