

**REPUBLIQUE ISLAMIQUE DE MAURITANIE**

**Honneur – Fraternité – Justice**

**MINISTERE DES PECHEES ET DE L'ECONOMIE MARITIME  
MINISTERE DU COMMERCE, DE L'ARTISANAT ET DU TOURISME  
MINISTERE DE LA SANTE ET DES AFFAIRES SOCIALES  
SECRETARIAT D'ETAT AUPRES DU PREMIER MINISTRE  
CHARGE DE L'ENVIRONNEMENT**

**VISA : DGLTE**

**Arrêté conjoint n°2905 MPEM  
/MCAT/MSAS/SEPME relatif aux critères  
microbiologiques, chimiques et biotoxines marines  
applicables aux mollusques bivalves vivants et aux  
produits de la pêche et les méthodes d'analyse à  
utiliser**

**LE MINISTRE DES PECHEES ET DE L'ECONOMIE MARITIME, LE MINISTRE DU  
COMMERCE, DE L'ARTISANAT ET DU TOURISME, LE MINISTRE DE LA SANTE  
ET DES AFFAIRES SOCIALES, ET LE SECRETARIAT D'ETAT AUPRES DU  
PREMIER MINISTRE CHARGE DE L'ENVIRONNEMENT ;**

Vu la loi n° 2000-025 du 24 janvier 2000 portant Code des Pêches,

Vu le décret n° 81.062 du 2 avril 1981 portant réglementation de l'inspection sanitaire et du contrôle de salubrité des produits de la pêche destinés à l'alimentation humaine ;

Vu le décret n° 2002-073 du 1<sup>er</sup> octobre 2002 portant règlement général d'application de la loi n° 2000-025 du 24 janvier 2000 portant Code des Pêches ;

Vu le décret n° 94.030 du 8 mars 1994 relatif aux normes d'hygiène et de salubrité et aux conditions d'inspection sanitaire et de contrôle régissant la production et la mise sur le marché des produits de la pêche ;

Vu le décret n° 157-84 du 29 décembre 1984 portant règlement organique relatif aux attributions des ministres ;

Vu le décret n° 095/2005 du 10 août 2005 portant nomination des membres du gouvernement ;

Vu le décret n° 073-2006 du 13 juillet 2006 portant nomination de certains membres du gouvernement ;

Vu le décret n° 098/2006 du 28 août 2006 fixant les attributions du Ministre des Pêches et de l'Economie Maritime et l'organisation de l'administration centrale de son Département ;

Vu le décret n° 037/2003 du 29 avril 2003 fixant les attributions du Ministre du Commerce, de l'Artisanat et du Tourisme et l'organisation de l'administration centrale de son Département ;

Vu le décret n° 086-2006 du 8 août 2006 fixant les attributions du Secrétaire d'Etat auprès du Premier Ministre Chargé de l'Environnement et l'organisation de l'administration centrale de son Département ;

Vu le décret n° 025/2005 du 5 mai 2005 fixant les attributions du Ministre de la Santé et des Affaires Sociales et l'organisation de l'administration centrale de son Département ;

Vu le décret n° 2002-036 du 7 mai 2002 fixant les règles d'organisation et de fonctionnement de l'Institut Mauritanien de Recherches Océanographiques et des Pêches (IMROP) ex-CNROP ;

## **ARRESENT**

### **CHAPITRE PREMIER– DISPOSITIONS GENERALES**

#### **Article premier** - Objet et champ d'application

En application de l'article 4 du décret n° 94.030 du 8 mars 1994 relatif aux normes d'hygiène et de salubrité et aux conditions d'inspection sanitaire et de contrôle régissant la production et la mise sur le marché des produits de la pêche, le présent arrêté a pour objet de définir les critères microbiologiques, chimiques et biotoxines marines applicables aux mollusques bivalves vivants et aux produits de la pêche destinés à l'exportation vers les marchés de l'Union Européenne, ainsi que les méthodes d'analyse à utiliser.

## **Article 2** – Définitions

On entend par :

1) « 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.

2) « critère microbiologique » : un critère définissant l'acceptabilité d'un produit, d'un lot de mollusques bivalves vivants, de produits de la pêche ou d'un procédé, sur la base de l'absence, de la présence ou du nombre de micro-organismes, et/ou de la quantité de leurs toxines/métabolites, par unité (s) de masse, volume, surface ou lot.

3) « critère biotoxine marine » : un critère définissant l'acceptabilité d'un produit, d'un lot de mollusques bivalves vivants, sur la base d'une quantité de toxine par unité de masse ou d'une méthode biologique.

4) « critère chimique » : un critère définissant l'acceptabilité d'un produit, d'un lot de mollusques bivalves vivants ou de produits de la pêche, sur la base d'une quantité par unité de masse.

5) « critère de sécurité des mollusques bivalves vivants et des produits de la pêche » : un critère définissant l'acceptabilité d'un produit ou d'un lot de mollusques bivalves vivants et de produits de la pêche, applicable aux produits mis sur le marché.

6) « critère d'hygiène du procédé » : un critère microbiologique indiquant l'acceptabilité du fonctionnement du procédé de production. Un tel critère n'est pas applicable aux produits mis sur le marché. Il fixe une valeur indicative de contamination dont le dépassement exige des mesures correctives destinées à maintenir l'hygiène du procédé conformément à la législation sur les mollusques bivalves vivants et les produits de la pêche.

7) « lot » : un groupe ou une série de produits identifiables obtenus par un procédé donné dans des conditions pratiquement identiques et produits dans un endroit donné et au cours d'une période de production déterminée ; par exemple un groupe ou une série de produits livrée en une seule fois et présentant des caractéristiques communes (origine, variété, type d'emballage, expéditeur ou marquage).

8) «Sous-lot » : partie désignée d'un grand lot, afin d'appliquer le mode de prélèvement à cette partie désignée. Chaque sous-lot doit être physiquement séparé et identifiable.

9) « durée de conservation » : la période précédant la date limite de consommation des produits ou la date jusqu'à laquelle ces produits conservent leurs propriétés spécifiques.

10) « échantillon » : un ensemble composé d'une ou de plusieurs unités ou une portion de matière, sélectionné par différents moyens dans une population ou dans une quantité importante de matière et destiné à fournir des informations sur une caractéristique donnée de la population ou de la matière étudiée et à constituer la base d'une décision concernant la population ou la matière en question ou concernant le procédé qui l'a produit.

11) Échantillon élémentaire : quantité de matière prélevée en un seul point du lot ou du sous-lot.

12) Echantillon de laboratoire : échantillon destiné au laboratoire.

13) « échantillon représentatif » : un échantillon dans lequel on retrouve les caractéristiques du lot d'où il provient. C'est notamment le cas lorsque chacun des individus ou des prélèvements élémentaires à choisir dans le lot a la même probabilité de figurer dans l'échantillon.

14) « respect des critères microbiologiques, chimiques et biotoxines marines » : l'obtention des résultats satisfaisants ou acceptables visés aux l'annexes I, II et III lors d'essais fondés sur les valeurs fixées pour ces critères par le prélèvement d'échantillons, la conduite d'analyses et la mise en oeuvre de mesures correctives, conformément à la législation sur les mollusques bivalves vivants et les produits de la pêche et aux instructions données par l'autorité compétente.

### **Article 3** - Exigences générales

1. Les exploitants veillent à ce que les mollusques bivalves vivants et les produits de la pêche mis sur le marché respectent les critères microbiologiques, chimiques et biotoxines marines pertinents, ainsi que les méthodes d'analyse et de prélèvement des échantillons à appliquer, établis aux annexes I, II et III. A cette fin, à tous les stades de la production, de la transformation et de la distribution des mollusques bivalves vivants et des produits de la pêche, y compris la vente au détail, ils prennent des mesures, dans le cadre de leurs procédures, fondées sur les principes HACCP, ainsi que de leurs bonnes pratiques d'hygiène, afin que :

- a) la fourniture, la manipulation et la transformation de mollusques bivalves vivants et des produits de la pêche, relevant de leur contrôle s'effectuent de façon à ce que les critères d'hygiène des procédés soient respectés ;
- b) les critères de sécurité des mollusques bivalves vivants et des produits de la pêche applicables pendant toute la durée de conservation des produits soient respectés dans des conditions de distribution, d'entreposage et d'utilisation raisonnablement prévisibles.

### **Article 4** - Essais fondés sur les critères

1. Le cas échéant, les exploitants de mollusques bivalves et de produits de la pêche procèdent à des essais fondés sur les critères microbiologiques, chimiques et biotoxines marines définis aux annexes I, II et III, lorsqu'ils valident ou vérifient le bon fonctionnement de leurs procédures fondées sur les principes HACCP ou sur les bonnes pratiques d'hygiène.

2. Les exploitants de mollusques bivalves et de produits de la pêche décident des fréquences d'échantillonnage appropriées à appliquer, dans le cadre de leurs procédures fondées sur les principes HACCP et les bonnes pratiques d'hygiène, en tenant compte des recommandations de l'autorité compétente ou de l'organisme de contrôle désigné.

La fréquence d'échantillonnage peut être adaptée à la nature et à la taille des établissements, pour autant que les critères de sécurité des mollusques bivalves vivants et des produits de la pêche ne soient pas menacés.

## **CHAPITRE II– DISPOSITIONS PARTICULIERES**

### **Article 5** - Essais et échantillonnage

1. Les méthodes d'analyse ainsi que les plans et méthodes d'échantillonnage définis dans les annexes, selon les cas, sont appliqués comme méthodes de référence.

2. Des échantillons sont prélevés sur les lieux de transformation et le matériel utilisé dans la production de mollusques bivalves vivants et de produits de la pêche lorsque ces prélèvements sont nécessaires pour s'assurer du respect des critères.

Les exploitants du secteur alimentaire qui fabriquent des produits de la pêche prêts à être consommés susceptibles de présenter un risque pour la santé publique lié à *Listeria monocytogenes* prélèvent des échantillons sur les lieux de transformation et sur le matériel utilisé en vue de détecter la présence de *Listeria monocytogenes* dans le cadre de leur plan d'échantillonnage.

3. Si les essais visent à évaluer précisément l'acceptabilité d'un lot de mollusques bivalves vivants, de produits de la pêche ou d'un procédé déterminé, il faut respecter au minimum les plans d'échantillonnage définis dans les annexes I, II et III ou dans les protocoles préparés par l'autorité compétente.

### **Article 6** - Résultats insatisfaisants

1. Lorsque les essais fondés sur les critères de sécurité définis à l'annexe I, les critères chimiques ou biotoxines marines donnent des résultats insatisfaisants, le lot de produit est retiré du marché. Cependant, si le lot de produit mis sur le marché est insatisfaisant pour un critère microbiologique et n'est pas encore au stade de la vente au détail, il peut être soumis à un traitement supplémentaire dans un établissement agréé afin d'éliminer le risque en question. Ce traitement ne peut être effectué que par des exploitants autres que ceux du commerce de détail.

Les exploitants prennent en outre des mesures correctives qui leur permettront de découvrir la cause des résultats insatisfaisants en vue de prévenir la réapparition de toute contamination microbiologique inacceptable. Ces mesures peuvent comporter des modifications des procédures fondées sur les principes HACCP ou des autres mesures de contrôle de l'hygiène des mollusques bivalves vivants en vigueur pour protéger la santé des consommateurs.

2. Lorsque les résultats concernant les critères d'hygiène des procédés définis à l'annexe I sont insatisfaisants, des mesures doivent être prises pour améliorer l'hygiène de production.

#### **Article 7** - Analyse de l'évolution des résultats

Les exploitants de mollusques bivalves et de produits de la pêche analysent l'évolution des résultats des essais pratiqués sur les échantillons prélevés. Lorsqu'une évolution approchant des résultats insatisfaisants est observée, ils prennent sans retard injustifié des mesures appropriées pour corriger la situation en vue de prévenir l'apparition des risques.

### **CHAPITRE III – DISPOSITIONS FINALES**

#### **Article 8** – Révision de l'arrêté

Des mesures d'application ou de modification peuvent être arrêtées pour :

1) fixer des normes ou contrôles sanitaires supplémentaires pour les mollusques bivalves vivants lorsque les données scientifiques en démontreront la nécessité pour sauvegarder la santé publique, à savoir :

- a) les valeurs limites à respecter et les méthodes d'analyse pour les biotoxines marines ou les critères chimiques, par exemple les dioxines et les polychlorobiphényles (PCB) de type dioxine ou les hydrocarbures aromatiques polycycliques,
- b) les procédures de recherche des virus et les normes virologiques,
- c) les plans d'échantillonnage ainsi que les méthodes et les tolérances analytiques à appliquer en vue de contrôler le respect des normes sanitaires.

2) fixer des normes ou contrôles sanitaires supplémentaires pour les produits de la pêche lorsque les données scientifiques en démontreront la nécessité pour sauvegarder la santé publique.

#### **Article 9**- Sanctions

Les infractions au présent arrêté seront punies conformément aux dispositions de l'article 72 de la Loi 2000-025 du 24 janvier 2000 portant Code des Pêches Maritimes.

**Article 10 :** Sont abrogées toutes dispositions antérieures contraires au présent arrêtés et notamment les arrêtés conjoints d'application n° 1058 et 1059 du 17 novembre 2005

portant respectivement sur les conditions d'hygiène et de salubrité applicables aux établissements à terre de traitement des produits de la pêche et sur les conditions d'hygiène et les critères de salubrité et de qualité applicables aux produits de la pêche.

**Article 11** – Le Secrétaire Général du Ministère des Pêches et de l'Economie Maritime, Le Secrétaire Général du Ministère du Commerce, de l'Artisanat et du Tourisme, le Secrétaire Général du Ministère de la Santé et des Affaires Sociales et le Directeur du Cabinet du Secrétaire d'Etat auprès du Premier Ministre chargé de l'Environnement, sont chargés, chacun en ce qui le concerne, de l'exécution du présent décret qui sera publié au Journal Officiel.

Fait à Nouakchott, le 21 novembre 2006

LE MINISTRE DES PECHES ET DE  
L'ECONOMIE MARITIME

**SIDI MOHAMED OULD SIDINA**

LE MINISTRE DU COMMERCE, DE  
L'ARTISANAT ET DU TOURISME

**BA ABDERRAHMANE**

LE MINISTRE DE LA SANTE ET  
DES AFFAIRES SOCIALES

**SAADNA OULD BAHADA**

LE SECRETAIRE D'ETAT AUPRES DU PREMIER  
MINISTRE CHARGE DE L'ENVIRONNEMENT

**MOHAMED LEMINE OULD  
ABOYE OULD CHEIKH EL HADRAMI**

**P.C.C.C**  
**Le Secrétaire Général du Ministère des Pêches et de  
l'Economie Maritime**  
**Mohamed Abderrahmane Ould Abeid**

**Ampliations :**

|   |         |    |
|---|---------|----|
| - | MSG/PR  | 3  |
| - | SGG     | 3  |
| - | MPEM    | 10 |
| - | MCAT    | 10 |
| - | MSAS    | 10 |
| - | SEPME   | 10 |
| - | Ts Dpts | 30 |
| - | A.N.    | 3  |
| - | J.O.    | 3  |

**ANNEXE I : CRITERES MICROBIOLOGIQUES APPLICABLES AUX MOLLUSQUES BIVALVES VIVANTS ET AUX PRODUITS DE LA PECHE**

**CHAPITRE I - CRITERES DE SECURITE DES DENREES ALIMENTAIRES**

|     | Catégorie de denrées alimentaires   | Microorganismes, toxines, métabolites | Plans d'échantillonnage <sup>(1)</sup> |   | Limites <sup>(2)</sup>                             |   | Méthode d'analyse de référence <sup>(3)</sup> | Stade d'application du critère   |
|-----|---|---------------------------------------|--|---|--|---|---|--|
|     |   |                                       | n                                      | c | m  | M |   |  |
| 1.1 | Produits de la pêche prêts à être consommés permettant le développement de <i>L. monocytogenes</i>        | <i>Listeria monocytogenes</i>         | 5                                      | 0 | 100 ufc/g <sup>(4)</sup>                           |   | EN/ISO 11290-2 <sup>(5)</sup>                 | Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation                  |
|     |   |                                       | 5                                      | 0 | Absence dans 25 g <sup>(6)</sup>                   |   | EN/ISO 11290-1                                | Avant que la denrée alimentaire n'ait quitté le contrôle immédiat du fabricant |
| 1.2 | Produits de la pêche prêts à être consommés ne permettant pas le développement de <i>L. monocytogenes</i> | <i>Listeria monocytogenes</i>         | 5                                      | 0 | 100 ufc/g  |   | EN/ISO 11290-2 <sup>(5)</sup>                 | Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation                  |
| 1.3 | Crustacés et mollusques cuits   | <i>Salmonella</i>                     | 5                                      | 0 | Absence dans 25 g                                  |   | EN/ISO 6579                                   | Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation                  |
| 1.4 | Mollusques bivalves vivants   | <i>Salmonella</i>                     | 5                                      | 0 | Absence dans 25 g                                  |   | EN/ISO 6579                                   | Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation                  |
| 1.5 | Mollusques bivalves vivants   | <i>E. coli</i> <sup>(7)</sup>         | 1 <sup>(8)</sup>                       | 0 | 230 NPP/100 g de chair et de liquide intervalvaire |   | ISO/ TS 16649-3                               | Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation                  |



|     |  |           |                   |   |           |           |                      |   |
|-----|--|-----------|-------------------|---|-----------|-----------|----------------------|---|
| 1.6 | Produits de la pêche fabriqués à partir d'espèces de poissons associées à une grande quantité d'histidine <sup>(9)</sup>   | Histamine | 9 <sup>(10)</sup> | 2 | 100 mg/kg | 200 mg/kg | HPLC <sup>(11)</sup> | Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation |
| 1.7 | Produits de la pêche ayant subi un traitement de maturation aux enzymes dans la saumure, fabriqués à partir d'espèces de poissons associées à une grande quantité d'histidine <sup>(9)</sup> | Histamine | 9                 | 2 | 200 mg/kg | 400 mg/kg | HPLC <sup>(11)</sup> | Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation |

(1) n = nombre d'unités constituant l'échantillon ; c = nombre maximal de résultats pouvant présenter des valeurs comprises entre m et M pour le nombre d'échantillons n réalisé.

(2) Pour les points 1.1 à 1.5, m = M.

(3) Il y a lieu d'utiliser l'édition la plus récente de la norme.

(4) Ce critère est applicable lorsque le fabricant est en mesure de démontrer, à la satisfaction de l'autorité compétente, que le produit respectera la limite de 100 ufc/g pendant la durée de conservation. L'exploitant peut fixer, pendant le procédé, des valeurs intermédiaires suffisamment basses pour garantir que la limite de 100 ufc/g ne sera pas dépassée au terme de la durée de conservation.

(5) 1 ml d'inoculum est déposé sur une boîte de Petri d'un diamètre de 140 mm ou sur trois boîtes de Petri d'un diamètre de 90 mm.

(6) Ce critère est applicable aux produits avant qu'ils ne quittent le contrôle immédiat du fabricant, lorsque celui-ci n'est pas en mesure de démontrer, à la satisfaction de l'autorité compétente, que le produit respectera la limite de 100 ufc/g pendant toute la durée de conservation.

(7) *E. coli* est utilisée ici comme indicateur de contamination fécale.

(8) Echantillon groupé comprenant au moins dix animaux différents.

(9) En particulier les espèces de poissons des familles Scombridae, Clupeidae, Engraulidae, Coryphaenidae, Pomatomidae, Scomberesocidae.

(10) Si des échantillons uniques sont prélevés au niveau de la vente au détail, les éventuelles mesures prises s'appliquent à ce niveau pour les lots concernés.

(11) Références :

1. Malle P., Valle M., Bouquelet S. Assay of biogenic amines involved in fish decomposition. J. AOAC Internat. 1996, 79, 43-49.

2. Duflos G., Dervin C., Malle P., Bouquelet S. Relevance of matrix effect in determination of biogenic amines in plaice (*Pleuronectes platessa*) and whiting (*Merlangus merlangus*). J. AOAC Internat. 1999, 82, 1097-1101.

## 1. INTERPRETATION DES RESULTATS DES ANALYSES

Les limites indiquées s'appliquent à chaque unité d'échantillon analysée, à l'exception des mollusques bivalves vivants pour lesquels la limite pour *E. coli* s'applique à un échantillon groupé.

Les résultats des analyses révèlent la qualité microbiologique du lot contrôlé, mais ils peuvent aussi être utilisés pour démontrer l'efficacité de l'application du système HACCP ou des bonnes pratiques d'hygiène dans le cadre du procédé.

*L. monocytogenes* dans les produits prêts à être consommés permettant le développement de *L. monocytogenes* avant que la denrée alimentaire n'ait quitté le contrôle immédiat de l'opérateur qui l'a fabriquée, lorsque celui-ci n'est pas en mesure de démontrer que ces produits ne dépasseront pas la valeur limite de 100 ufc/g pendant leur durée de conservation :

— qualité satisfaisante lorsque toutes les valeurs observées indiquent l'absence de la bactérie,

— qualité insatisfaisante lorsque la présence de la bactérie est détectée dans une unité de l'échantillon.

*L. monocytogenes* dans les autres produits prêts à être consommé et *E. coli* dans les mollusques bivalves vivants :

— qualité satisfaisante lorsque toutes les valeurs observées sont  $\leq$  à la limite,

— qualité insatisfaisante lorsque l'une des valeurs est  $>$  à la limite.

*Salmonella* dans les différentes catégories de denrées alimentaires :

— qualité satisfaisante lorsque toutes les valeurs observées indiquent l'absence de la bactérie,

— qualité insatisfaisante lorsque la présence de la bactérie est détectée dans une unité de l'échantillon.

*Histamine* dans les produits de la pêche provenant d'espèces de poissons associées à une grande quantité d'histidine :

— qualité satisfaisante lorsque les exigences suivantes sont remplies :

1. la valeur moyenne observée est  $\leq m$  ;

2. un maximum de  $c/n$  valeurs se situe entre  $m$  et  $M$  ;

3. aucune valeur observée ne dépasse la limite de  $M$  ;

— qualité insatisfaisante lorsque la valeur moyenne observée dépasse  $m$ , ou plus de  $c/n$  valeurs se situent entre  $m$  et  $M$ , ou lorsqu'une ou plusieurs valeurs observées sont supérieures à  $M$ .

## CHAPITRE II - CRITERES D'HYGIENE DES PROCEDES

| Catégorie de denrées alimentaires                                       | Microorganismes                            | Plans d'échantillonnage <sup>(1)</sup> |   | Limites   |             | Méthode d'analyse de référence <sup>(2)</sup> | Stade d'application du critère | Action en cas de résultats insatisfaisants |
|---|--|--|---|-----------|-------------|---|--------------------------------|--|
|   |  | n                                      | c | m         | M           |   |                                |  |
| Produits décortiqués et décoquillés de crustacés et de mollusques cuits | <i>E. coli</i>                             | 5                                      | 2 | 1 ufc/g   | 10 ufc/g    | ISO/ TS 16649-3                               | Fin du procédé de fabrication  | Améliorations de l'hygiène de production   |
|   | <i>Staphylococcus à coagulase positive</i> | 5                                      | 2 | 100 ufc/g | 1 000 ufc/g | EN/ISO 6888-1                                 | Fin du procédé de fabrication  | Améliorations de l'hygiène de production   |

(1) n = nombre d'unités constituant l'échantillon; c = nombre maximal de résultats pouvant présenter des valeurs comprises entre m et M, pour le nombre d'échantillons n réalisé.

(2) Il convient d'utiliser l'édition la plus récente de la norme.

## 1. INTERPRETATION DES RESULTATS DES ANALYSES

Les limites indiquées s'appliquent à chaque unité d'échantillon analysée et les résultats des analyses révèlent la qualité microbiologique du procédé contrôlé.

*E. coli* et Staphylocoques à coagulase positive dans les produits décortiqués et décoquillés de crustacés et de mollusques cuits :

- qualité satisfaisante lorsque toutes les valeurs observées sont  $\leq m$ ,
- qualité acceptable lorsqu'un maximum de  $c/n$  valeurs se situe entre  $m$  et  $M$ , et que le reste des valeurs observées est  $\leq m$ ,
- qualité insatisfaisante lorsqu'une ou plusieurs valeurs observées sont  $> M$  ou lorsque plus de  $c/n$  valeurs se situent entre  $m$  et  $M$ .

## CHAPITRE III - REGLES GENERALES DE PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS A ANALYSER

En l'absence de règles concernant le prélèvement des échantillons à analyser, il convient de définir une procédure en se référant aux normes correspondantes de l'ISO (International Organisation for Standardization) et aux lignes directrices du Codex Alimentarius.

## **ANNEXE II : CRITERES CHIMIQUES POUR LE CONTROLE DE CERTAINS CONTAMINANTS DANS LES MOLLUSQUES BIVALVES ET LES PRODUITS DE LA PECHE**

### CHAPITRE I - TENEURS MAXIMALES EN METAUX LOURDS

Le respect des teneurs maximales est établi en se fondant sur les teneurs déterminées dans les échantillons de laboratoire en analysant le corps entier des mollusques bivalves et des poissons s'ils sont normalement consommés en entier.

Dans le cas des produits de la pêche qui sont séchés, dilués, transformés ou composés de plus d'un ingrédient, la teneur maximale applicable pour les métaux lourds est celle fixée dans le présent arrêté compte tenu, le cas échéant, des proportions relatives des ingrédients dans le produit, dans la mesure où aucune teneur maximale spécifique n'est fixée pour ces types de produits.

## 1. PLOMB (Pb)

| Catégorie de denrées alimentaires  | Teneurs maximales (mg/kg de poids à l'état frais) |
|--|---|
| 1.1. Chair musculaire de poisson telle que définie dans les catégories a), b) et c) de la liste A, à l'exclusion des espèces de poissons répertoriées au point 1.1.1   | 0,2   |
| 1.1.1. Chair musculaire de:<br>Bonite ( <i>Sarda sarda</i> ), sar à tête noire ( <i>Diplodus vulgaris</i> ), mullet lippu ( <i>Mugil labrosus labrosus</i> ), grondeur ( <i>Pomadasys benneti</i> ), chinchard ( <i>Trachurus species</i> ), sardine ( <i>Sardina pilchardus</i> ), bar tacheté ( <i>Dicentrarchus punctatus</i> ), cèteau ( <i>Dicologlossa cuneata</i> ) | 0,4   |
| 1.2. Crustacés, à l'exception de la chair brune de crabe et à l'exception de la tête et de la chair des crustacés de grande taille (ex. Palinuridae)   | 0,5   |
| 1.3. Mollusques bivalves   | 1,5   |
| 1.4. Céphalopodes (sans viscères)  | 1,0   |

### Liste A – Catégories de poissons :

a) Poissons frais ou réfrigérés : aiguillats (*Squalus acanthias*) et roussettes (*Scyliorhinus spp.*), anchois (*Engraulis encrasicolis*) boudoirs (*Lophius spp.*), bogues (*Boops boops*), castagnoles (*Brama spp.*), dorades grises (*Spondyliosoma cantharus*), dorades royales (*Sparus aurata*), grondins (*Trigla spp.*), maquereaux (*Scomber scombrus* et *Scomber japonicus*), merlus (*Merluccius merluccius*), mulets (*Mugil spp.*), picarels (*Spicara spp.*), plies ou carrelets (*Pleuronectes platessa*), raies (*Raya spp.*), rouget barbet (*Mullus surmuletus*) et rouget de roche (*Mullus barbatus*), seiches (*Sepia officinalis* et *Rossia macrosoma*), soles (*Solea spp.*), thons blancs ou germons (*Thunnus allalunga*), thons rouges (*Thunnus thynnus*).

b) Poissons congelés : Merlus (*Merluccius merluccius*), dorades de mer (*Dentex dentex* et *Pagellus spp.*), espadon (*Xiphias gladius*).

c) Poissons entiers, vidés, étêtés (autres qu'en filets ou sous diverses formes de chair) destinés à la fabrication industrielle (préparation et conserves de poissons) : thons blancs ou germons (*Thunnus allalunga*) à l'exception des thons frais ou réfrigérés, thons à nageoires jaunes (*Thunnus albacores*), listaos ou bonites à ventre rayé (*Katsuwonus pelamis*), thons rouges (*Thunnus thynnus*) à l'exception des thons frais ou réfrigérés, autres espèces de genres *Thunnus* et *Euthynnus* à l'exception des thons frais ou réfrigérés.

## 2. CADMIUM (Cd)

| Catégorie de denrées alimentaires   | Teneurs maximales (mg/kg de poids à l'état frais) |
|---|---|
| 2.1. Chair musculaire de poisson, telle que définie dans les catégories a), b) et c) de la liste A, à l'exclusion des espèces de poissons répertoriées au point 2.1.1.  | 0,05  |
| 2.1.1. Chair musculaire de :<br>Bonite ( <i>Sarda sarda</i> ), sar à tête noire ( <i>Diplodus vulgaris</i> ), anchois ( <i>Engraulis encrasicolis</i> ), mullet lippu ( <i>Mugil labrosus labrosus</i> ), chincharde ( <i>Trachurus species</i> ), sardine ( <i>Sardina pilchardus</i> ), thon ( <i>Thunnus</i> et <i>Euthynnus species</i> ), cèteau ( <i>Dicologlossa cuneata</i> ) | 0,1   |
| 2.1.2. Chair musculaire de d'espadon ( <i>Xiphias gladius</i> )   | 0,3   |
| 2.2. Crustacés, à l'exception de la chair brune de crabe et à l'exception de la tête et de la chair des crustacés de grande taille (ex. <i>Palinuridae</i> )  | 0,5   |
| 2.3. Mollusques bivalves  | 1,0   |
| 2.4. Céphalopodes (sans viscères)   | 1,0   |

## 3. MERCURE

|  |     |
|--|-----|
| 3.1. Mollusques bivalves, produits de la pêche et chair musculaire de poisson, sauf ceux visés au point 3.1.1  | 0,5 |
| 3.1.1. Chair musculaire de :<br>Baudroies ou lottes ( <i>Lophius species</i> ), bonite ( <i>Sarda sarda</i> ), marlin ( <i>Makaira species</i> ), mullet ( <i>Mugil species</i> ) palomète ( <i>Orcynopsis unicolor</i> ), pailona commun ( <i>Centroscymnes coelolepis</i> ), raies ( <i>Raja species</i> ), voilier de l'Atlantique ( <i>Istiophorus platypterus</i> ), sabre argent ( <i>Lepidopus caudatus</i> ), sabre noir ( <i>Aphanopus carbo</i> ), dorade, pageot ( <i>Pagellus species</i> ), requins (toutes espèces), escolier noir ou stromaté ( <i>Lepidocybium flavobrunneum</i> ), rouvet ( <i>Ruvettus pretiosus</i> ), espadon ( <i>Xiphias gladius</i> ), thon ( <i>Thunnus species</i> , <i>Euthynnus species</i> , <i>Katsuwonus pelamis</i> ) | 1,0 |

## CHAPITRE II - METHODES DE PRELEVEMENT D'ECHANTILLONS POUR LE CONTROLE OFFICIEL DES TENEURS EN METAUX LOURDS

### 1. OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION

Les échantillons destinés au contrôle officiel des teneurs en plomb, cadmium, mercure dans les mollusques bivalves vivants et les produits de la pêche sont à prélever conformément aux méthodes décrites ci-dessous. Les échantillons ainsi obtenus sont considérés comme représentatifs des lots sur lesquels ils sont prélevés.

### 2. DISPOSITIONS GENERALES

#### 2.1. Personnel

Le prélèvement doit être effectué par une personne qualifiée, mandatée à cet effet.

#### 2.2. Produit à échantillonner

Tout lot à analyser fait l'objet d'un échantillonnage séparé.

#### 2.3. Précautions à prendre

Au cours de l'échantillonnage et de la préparation des échantillons de laboratoire, des précautions doivent être prises afin d'éviter toute altération pouvant modifier la teneur en plomb, cadmium, mercure ou affecter les analyses ou la représentativité des échantillons globaux.

#### 2.4. Echantillons élémentaires

Dans la mesure du possible, les échantillons élémentaires sont prélevés en divers points du lot ou sous-lot.

#### 2.5. Echantillon global

L'échantillon global est obtenu en rassemblant tous les échantillons élémentaires. Il doit peser au moins 1 kg, à moins que ce ne soit pas possible.

#### 2.6. Subdivision de l'échantillon global en échantillon de laboratoire à des fins de contrôle, de recours et d'arbitrage

Les échantillons de laboratoire destinés à des fins de contrôle, de recours et d'arbitrage sont prélevés sur l'échantillon global homogénéisé et la taille des échantillons doit être suffisante pour permettre au moins une double analyse.



## 2.7. Conditionnement et envoi des échantillons globaux et de laboratoire

Chaque échantillon global ou de laboratoire est placé dans un récipient propre, en matériau inerte, le protégeant convenablement contre tout facteur de contamination, toute perte de substance à analyser par adsorption sur la paroi interne du récipient et tout dommage pouvant résulter du transport. Toutes les précautions nécessaires doivent être prises pour éviter que la composition des échantillons ne se modifie au cours du transport ou du stockage.

## 2.8. Fermeture et étiquetage des échantillons de laboratoire

Chaque échantillon officiel est scellé sur le lieu de prélèvement et identifié sans ambiguïté par une étiquette indiquant la date et le lieu d'échantillonnage ainsi que toute information supplémentaire pouvant être utile à l'analyste.

## 3. ECHANTILLONNAGE

Idéalement, le prélèvement est effectué sur les points de prélèvement fixés dans les zones de production de coquillages ou au moment où le produit à analyser entre dans la chaîne alimentaire et où un lot distinct devient identifiable. La méthode de prélèvement appliquée doit assurer que l'échantillon global est représentatif du lot à contrôler.

### 3.1. Nombre d'échantillons élémentaires

Dans le cas de produits liquides, à base de produits de la mer, pour lesquels on peut supposer une distribution homogène du contaminant en question à l'intérieur d'un lot donné, il est suffisant de prélever un échantillon élémentaire par lot (indiquer le numéro du lot), qui constitue l'échantillon global.

Pour les autres produits, le nombre minimal d'échantillons élémentaires à prélever du lot est indiqué dans le tableau 1. Les échantillons élémentaires doivent avoir un poids semblable. Toute dérogation à cette règle est à signaler sur l'étiquette prévue au point 3.8. Si le lot se présente en emballages distincts, le nombre d'emballages (échantillons élémentaires) à prélever pour former l'échantillon global est indiqué dans le tableau 2.

Tableau 1: Nombre minimal d'échantillons élémentaires à prélever sur le lot

| Poids du lot (en kg) | Nombre minimal d'échantillons élémentaires à prélever |
|----------------------|---|
| <50                  | 3   |
| 50 à 500             | 5   |
| > 500                | 10  |

Tableau 2 : Nombre d'emballages à prélever pour former l'échantillon global

| Nombre d'emballages ou d'unités compris dans le lot | Nombre minimal d'emballages ou d'unités à prélever |
|---|--|
| 1 à 25  | 1 emballage ou unité                               |
| 26 à 100  | 5 % environ, au moins 2 emballages ou unités       |
| > 100   | 5 % environ, un maximum de 10 emballages ou unités |

#### 4. CONFORMITE DU LOT OU SOUS-LOT AUX SPECIFICATIONS

A des fins de contrôle, le laboratoire procède au moins à deux analyses indépendantes de l'échantillon de laboratoire et calcule la moyenne des résultats. Si cette moyenne correspond à la teneur maximale fixée dans le présent arrêté le lot est accepté. Il est rejeté si cette moyenne dépasse la teneur maximale fixée dans le présent arrêté.

### CHAPITRE III - PREPARATION DES ECHANTILLONS ET METHODES D'ANALYSE UTILISEES POUR LE CONTROLE OFFICIEL DES TENEURS EN METAUX LOURDS

#### 1. PROCEDURES SPECIFIQUES DE PREPARATION DES ECHANTILLONS POUR LE PLOMB, LE CADMIUM ET LE MERCURE

Il s'agit d'obtenir un échantillon de laboratoire représentatif et homogène sans y introduire de contamination secondaire.

Les procédures, que décrit la norme EN 13804, «Produits alimentaires — Dosage des éléments trace — Critères de performance, généralités et préparation des échantillons» peuvent être utilisées ou tout autre procédure équivalente.

Pour toute procédure utilisée, le corps entier des mollusques bivalves, crustacés et petits poissons doit faire partie des matières à analyser s'ils sont normalement consommés en entier.

#### 2. METHODE D'ANALYSE A UTILISER PAR LE LABORATOIRE ET EXIGENCES DE CONTROLE

##### 2.1. Exigences spécifiques pour les analyses du plomb, du cadmium et du mercure

Il n'est pas prescrit de méthodes spécifiques de détermination de la teneur en plomb, en cadmium et en mercure. Les laboratoires doivent utiliser des méthodes de détermination de la teneur en

plomb, en cadmium et en mercure, validées ou reconnues sur le plan international, répondant aux exigences de la norme NF EN 13804 (Produits alimentaires - Dosage des éléments traces - Critères de performance, généralités et préparation des échantillons) ou d'une norme internationale équivalente.

Tableau 3: Critères de performance des méthodes d'analyse relatives au plomb, au cadmium et au mercure

| Paramètre                | Valeur / commentaire   |
|--------------------------|--|
| Limite de détection      | Pas plus du dixième de la valeur maximale (*)  |
| Limite de quantification | Pas plus du cinquième de la valeur maximale (*)                                      |
| Précision                | Valeurs HORRATr ou HORRATR inférieures à 1,5 lors de l'essai collectif de validation |
| Récupération             | 80 % - 120 % (comme indiqué dans l'essai collectif)                                  |
| Spécificité              | Pas d'interférences dues à la matrice ou spectrales                                  |

(\*) Valeur maximale indiquée dans le présent arrêté pour le plomb, le cadmium et le mercure

Dans la mesure du possible, la validation des méthodes utilisées inclura, dans les matériaux de test des essais collectifs, un matériau de référence certifié. Ces méthodes doivent également répondre aux critères de performance qui figurent dans le tableau 3.

## 2.2. Estimation de l'exactitude de l'analyse et calcul du taux de récupération

Dans la mesure du possible, l'exactitude de l'analyse est estimée en incluant, dans la série d'analyses, des matériaux de référence certifiés et adaptés. Il est dûment tenu compte des directives élaborées sous l'égide de l'IUPAC/ISO/AOAC (Harmonised Guidelines for the Use of Recovery Information in Analytical Measurement. *Edited* MichaelThompson, Steven L R Ellison, Ales Fajgelj, Paul Willetts and Roger Wood, Pure Appl. Chem., 1999, no 71, 337-348).

Le résultat de l'analyse est enregistré sous forme corrigée ou non. La façon d'enregistrer et le taux de récupération doivent être consignés.

## 2.3. Expression des résultats

A des fins de contrôle officiel des teneurs en métaux lourds, le laboratoire procède au moins à deux analyses indépendantes de l'échantillon de laboratoire et calcule la moyenne des résultats. Si cette moyenne correspond à la teneur maximale fixée dans le présent arrêté le lot est accepté. Il est rejeté si cette moyenne dépasse la teneur maximale fixée dans le présent arrêté.

Les résultats doivent être exprimés dans les mêmes unités que les teneurs maximales figurant dans le présent arrêté.

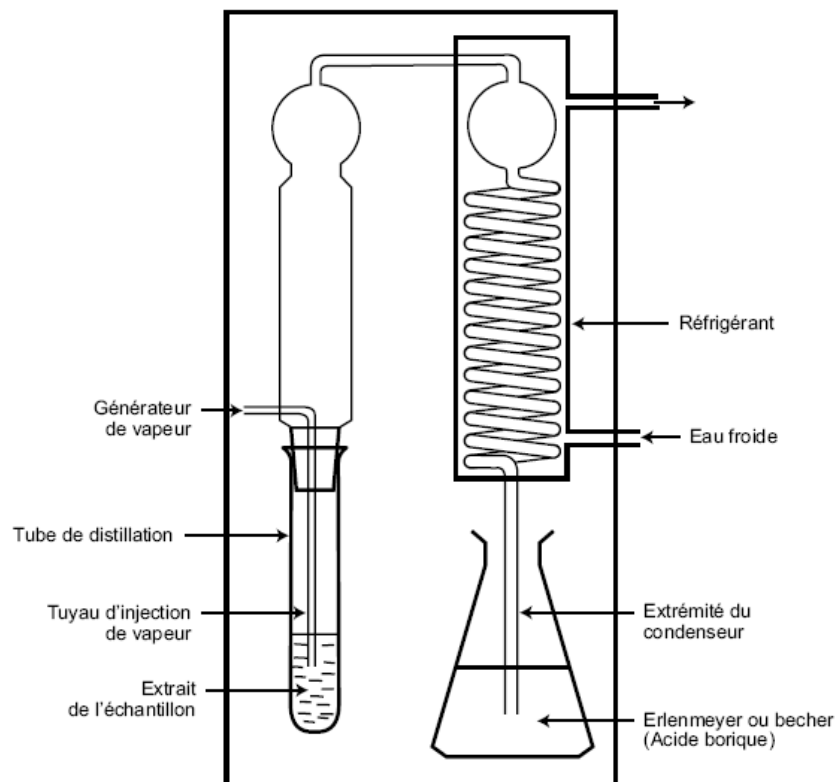
## CHAPITRE IV - TENEUR MAXIMALE EN AZOTE BASIQUE VOLATIL TOTAL (ABVT) ET METHODES D'ANALYSE A UTILISER

Les produits de la pêche non transformés appartenant aux catégories d'espèces mentionnées par la réglementation en vigueur sont considérés comme impropres à la consommation humaine lorsque l'évaluation organoleptique suscite un doute sur leur fraîcheur et que le contrôle chimique montre que les limites suivantes en ABVT sont dépassées :

- i) 25 mg d'azote/100 g de chair pour les espèces telles que *Sébastes spp.*, *Helicolenus dactylopterus*, *Sébastichthys capensis* ;
- ii) 30 mg d'azote/100 g de chair pour les espèces appartenant à la famille des *Pleuronectidae* ;
- iii) 35 mg d'azote/100 g de chair pour les espèces appartenant à la famille des *Merlucciidae* et des *Gadidae*.

Le dispositif de distillation à la vapeur de l'ABVT utilisé doit être conforme au schéma suivant :

DISPOSITIF DE DISTILLATION À LA VAPEUR DE L'ABVT



## CHAPITRE V - METHODES D'ANALYSE POUR LA DETERMINATION DE LA CONCENTRATION EN AZOTE BASIQUE VOLATIL TOTAL (ABVT)

### 1. METHODES DE ROUTINE

a). Les méthodes de routine utilisables pour le contrôle de la valeur limite en ABVT sont :

- la microdiffusion, décrite par Conway et Byrne (1933),
- la distillation directe, décrite par Antonacopoulos (1968),
- la distillation d'un extrait déprotéinisé par l'acide trichloracétique (comité du Codex Alimentarius pour les poissons et les produits de la pêche, 1968).

En cas de doute ou de litige concernant les résultats de l'analyse effectuée par l'une des méthodes de routine, seule la méthode de référence peut être utilisée pour vérifier ces résultats.

b). L'échantillon doit consister en 100 grammes de chair environ, prélevés en trois endroits différents au moins et mélangés par broyage.

### 2. METHODE DE REFERENCE

#### 2.1. **Objet et champ d'application**

La présente méthode décrit la procédure de référence utilisée par les laboratoires officiels en routine pour la détermination de la concentration en ABVT dans les poissons et les produits de la pêche. Elle s'applique à des concentrations comprises entre 5 mg/100 g et 100 mg/100 g au moins.

#### 2.2. **Définition**

Par «concentration en ABVT», on entend la teneur en azote des bases azotées volatiles telle que déterminée par la procédure décrite. Elle s'exprime en mg/100 g.

Les bases azotées volatiles sont extraites d'un échantillon au moyen d'une solution d'acide perchlorique à 0,6 mol/l. Après alcalinisation, l'extrait est soumis à une distillation à la vapeur et les constituants basiques volatils sont absorbés par un récepteur acide. La concentration en ABVT est déterminée par titrage des bases absorbées.

#### 2.3. **Substances chimiques**

Sauf indication contraire, il convient d'utiliser des produits chimiques ayant la qualité de réactifs. L'eau utilisée doit être distillée ou déminéralisée et de pureté au moins équivalente. Sauf indication contraire, on entend par «solution» une solution aqueuse répondant aux caractéristiques suivantes :

- a) solution d'acide perchlorique = 6 g/100 ml.

- b) solution d'hydroxyde de potassium = 20 g/100 ml.
- c) solution standard d'acide chlorhydrique à 0,05 mol/l (0,05 N).  
Note: avec un appareil de distillation automatique, le titrage doit se faire avec une solution standard d'acide chlorhydrique à 0,01 mol/l (0,01 N).
- d) solution d'acide borique = 3 g/100 ml.
- e) agent antimoissant à base de silicone.
- f) solution de phénolphtaléine = 1 g/100 ml d'éthanol à 95 %.
- g) indicateur (Tashiro Mixed Indicator): dissoudre 2 g de rouge de méthyle et 1 g de bleu de méthylène dans 1 000 ml d'éthanol à 95 %.

#### 2.4. Instruments et accessoires

- a) Hachoir donnant un hachis de poisson suffisamment homogène.
- b) Mélangeur à grande vitesse, dont la vitesse de rotation est comprise entre 8 000 et 45 000 tours/minute.
- c) Filtre plissé de 150 mm de diamètre à filtrage rapide.
- d) Burette de 5 ml graduée en centième de millilitre.
- e) Dispositif de distillation à la vapeur. Ce dispositif doit être muni d'un système permettant de réguler le débit de vapeur et de produire un volume de vapeur constant sur une période donnée. Il doit être conçu de telle sorte que pendant l'adjonction de substances alcalinisantes, les bases libres résultantes ne puissent s'échapper.

#### 2.5. Exécution

Avertissement : lors de la manipulation d'acide perchlorique, qui est très corrosif, il convient de prendre les précautions et mesures préventives qui s'imposent. Les échantillons doivent, dans la mesure du possible, être préparés dans les plus brefs délais après leur arrivée, conformément aux instructions suivantes :

##### a) Préparation de l'échantillon

Broyer soigneusement l'échantillon à analyser dans un hachoir conforme aux spécifications du point 2.4 a). Prélever 10 g + 0,1 g de l'échantillon broyé et placer le prélèvement dans un récipient adapté. Ce prélèvement est mélangé avec 90,0 ml d'une solution d'acide perchlorique conforme aux spécifications du point 2.3 a), homogénéisé pendant deux minutes au moyen d'un mélangeur conforme aux spécifications du point 2.4 b), puis filtré.

L'extrait ainsi obtenu peut être conservé pendant au moins sept jours à une température comprise entre + 2 et + 6 °C environ.

#### b) Distillation à la vapeur d'eau

Mettre 50,0 ml de l'extrait obtenu conformément au point a) dans un appareil de distillation à la vapeur (point 2.4 e). Pour une vérification ultérieure de l'alcalinisation de l'extrait, ajouter plusieurs gouttes de phénolphthaléine (point 2.3 f). Après adjonction de quelques gouttes d'agent antimoussant à base de silicone, ajouter à l'extrait 6,5 ml de solution de soude caustique (point 2.3 b) et commencer immédiatement la distillation à la vapeur.

Régler le dispositif de distillation de façon à obtenir environ 100 ml de distillat en 10 minutes. Immerger le tube d'écoulement du distillat dans un réceptacle contenant 100 ml d'une solution d'acide borique (point 2.3 d), à laquelle ont été ajoutées 3 à 5 gouttes d'indicateur [point 2.3 g)]. Arrêter la distillation après exactement 10 minutes. Enlever le tube d'écoulement du réceptacle et le rincer à l'eau. Les bases volatiles contenues dans la solution du réceptacle sont déterminées par titrage avec une solution standard d'acide chlorhydrique (point 2.3 c).

Le pH du point limite devrait être de  $5,0 \pm 0,1$ .

#### c) Titrage

Les analyses doivent être effectuées en double. La méthode appliquée est correcte si la différence entre les deux analyses ne dépasse pas 2 mg/100 g.

#### d) Essai à blanc

Effectuer un essai à blanc conformément au point b). A la place de l'extrait, utiliser 50,0 ml de solution d'acide perchlorique (point 2.3 a).

### 2.6. Calcul de la concentration en ABVT

Calculer la concentration en ABVT par titrage de la solution du réceptacle avec de l'acide chlorhydrique [point 3, c)] en appliquant l'équation suivante :

$$\text{ABVT (en mg/100 g)} = \frac{(V_1 - V_0) \times 0,14 \times 2 \times 100}{M}$$

-  $V_1$  = volume d'acide chlorhydrique à 0,01 mol/l en ml pour l'échantillon

-  $V_0$  = volume d'acide chlorhydrique à 0,01 mol/l en ml pour le témoin

-  $M$  = masse de l'échantillon en g.

Remarques :

i) Les analyses doivent être effectuées en double. La méthode appliquée est correcte si la différence entre les deux analyses ne dépasse pas 2 mg/100 g.

ii) Vérifier l'équipement en distillant des solutions de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  équivalent à 50 mg d'ABVT/100 g.

iii) Ecart type de reproductibilité  $S_r = 1,20 \text{ mg}/100 \text{ g}$ .  
Ecart type de comparabilité  $S_R = 2,50 \text{ mg}/100 \text{ g}$ .



## **ANNEXE III : CRITERES BIOTOXINES MARINES APPLICABLES AUX MOLLUSQUES BIVALVES ET METHODES RECONNUES**

### **CHAPITRE I - QUANTITE TOTALE DE BIOTOXINES MARINES A NE PAS DEPASSER**

La quantité totale de biotoxines marines (mesurées dans le corps entier ou dans toute partie comestible séparément) ne doit pas dépasser les limites suivantes :

- pour le «Paralytic Shellfish Poison» (PSP), 800 microgrammes par kilogramme,
- pour le «Amnesic Shellfish Poison» (ASP), 20 milligrammes d'acide domoïque par kilogramme,
- pour l'acide okadaïque, les dinophysistoxines et les pectenotoxines pris ensemble, 160 microgrammes d'équivalent-acide okadaïque par kilogramme,
- pour les yessotoxines, 1 milligramme déquivalent-yessotoxines par kilogramme,
- pour les azaspiracides, 160 microgrammes d'équivalent-azaspiracides par kilogramme.

### **CHAPITRE II - METHODES RECONNUES DE DETECTION D'ANALYSE DES BIOTOXINES MARINES**

#### **1. METHODE DE DETECTION D'ANALYSE DES TOXINES PARALYSANTES (PSP)**

1.1. La teneur en toxines paralysantes (paralytic shellfish poison — PSP) des parties comestibles des mollusques (corps entier ou toute partie consommable séparément) doit être déterminée conformément à la méthode d'analyse biologique ou à toute autre méthode reconnue au niveau international. La méthode d'analyse biologique peut être associée, en tant que de besoin, à une autre méthode de détection de la saxitoxine et de ses analogues, à condition qu'elle soit normalisée.

1.2. En cas de contestation des résultats, la méthode de référence est la méthode biologique : méthode AOAC n° 959.08, 1990.

#### **2. METHODE DE DETECTION D'ANALYSE DES TOXINES AMNESIANTES (ASP)**

La teneur totale en toxines amnésiantes (amnesic shellfish poison — ASP) des parties comestibles des mollusques (corps entier ou toute partie consommable séparément) doit être déterminée par chromatographie liquide haute performance (CLHP) ou par toute autre méthode reconnue.

En cas de contestation des résultats, la méthode de référence est la méthode de CLHP/UV selon la méthode Quilliam *et al.*, 1995.

### 3. METHODES DE DETECTION D'ANALYSE DES TOXINES LIPOPHILES

#### 3.1. Méthode biologique

Diverses procédures de dosage biologique sur souris, différant par la prise d'essai (hépatopancréas ou corps entier) et par les solvants utilisés pour l'extraction et la purification, peuvent être appliquées pour détecter les toxines marines. Leur sensibilité et leur spécificité dépendent du choix des solvants utilisés pour l'extraction et la purification et il convient d'en tenir compte au moment du choix de la méthode, afin de couvrir la gamme complète des toxines.

**Méthode de Yasumoto et al. (1984) modifiée** (d'après Yasumoto *et al.*, 1984. Seafood toxins, E. Ragelis, Ed., ACS, Whashington DC, 207-214) :

Le dosage biologique sur souris avec extraction à l'acétone suivie d'une séparation liquide/liquide avec du dichlorométhane peut être utilisé pour détecter les toxines lipophiles (acide okadaïque, dinophysistoxine, pecténotoxine, azaspiracides, yessotoxines et les neurotoxines à action rapide sur souris comme spirolides, gymnodimine). Trois souris doivent être utilisées pour chaque test. La mort d'au moins deux souris sur trois dans les vingt-quatre heures suivant l'inoculation d'un extrait équivalent à 5 g d'hépatopancréas ou 25 g de chair totale doit être considérée comme critère de la présence, dans des proportions supérieures aux limites fixées, d'une ou plusieurs de ces toxines lipophiles.

#### 3.2. Autres méthodes de détection

Une série de méthodes telles que la chromatographie liquide haute performance (CLHP) avec détection fluorimétrique, la chromatographie liquide (CL), la spectrométrie de masse (SM), les immuno-essais et les tests fonctionnels, tels que le test d'inhibition de la phosphatase, peuvent être utilisées en lieu et place des méthodes biologiques ou les compléter, sous réserve que, seules ou combinées, elles permettent de détecter au moins les analogues ci-après, elles ne soient pas moins efficaces que les méthodes biologiques et que leur mise en oeuvre assure un degré équivalent de protection de la santé publique :

- acide okadaïque et dinophysistoxines: une hydrolyse peut être nécessaire pour détecter la présence de DTX3,
- pecténotoxines: PTX1 et PTX2,
- yessotoxines: YTX, 45 OH YTX, Homo YTX et 45 OH Homo YTX,
- azaspiracides: AZA1, AZA2 et AZA3.

Si de nouveaux analogues importants pour la santé publique sont découverts, ils doivent être inclus dans l'analyse. Des normes devront être disponibles avant que l'analyse chimique puisse être réalisée. La toxicité totale sera calculée à l'aide de facteurs de conversion fondés sur les données de toxicité disponibles pour chaque toxine.

Les caractéristiques de performance de ces méthodes doivent être définies après validation selon un protocole reconnu au plan international.

Les méthodes biologiques seront remplacées par d'autres méthodes de détection dès lors que du matériel de référence concernant la détection des toxines mentionnées au présent chapitre sera facilement accessible, que ces méthodes auront été validées et que le présent chapitre aura été modifié en conséquence.