Ce document constitue un outil de documentation et n'engage pas la responsabilité des institutions

►**B**

DÉCISION DE LA COMMISSION

du 15 mars 2002

fixant les modalités d'application de la directive 91/492/CEE du Conseil en ce qui concerne les limites maximales et les méthodes d'analyse de certaines biotoxines marines dans les mollusques bivalves, les échinodermes, les tuniciers et les gastéropodes marins

[notifiée sous le numéro C(2002) 1001]

(Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE)

(2002/225/CE)

(JO L 75 du 16.3.2002, p. 62)

Rectifiée par:

►**C1** Rectificatif, JO L 46 du 20.2.2003, p. 32 (2002/225/CE)

▼B

DÉCISION DE LA COMMISSION

du 15 mars 2002

fixant les modalités d'application de la directive 91/492/CEE du Conseil en ce qui concerne les limites maximales et les méthodes d'analyse de certaines biotoxines marines dans les mollusques bivalves, les échinodermes, les tuniciers et les gastéropodes marins

[notifiée sous le numéro C(2002) 1001]

(Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE)

(2002/225/CE)

LA COMMISSION DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES,

vu le traité instituant la Communauté européenne,

vu la directive 91/492/CEE du Conseil du 15 juillet 1991 fixant les règles sanitaires régissant la production et la mise sur le marché des mollusques bivalves vivants ([1]), modifiée en dernier lieu par la directive 97/79/CE ([2]), et en particulier les paragraphes 3 et 5 du chapitre V de son annexe,

considérant ce qui suit:

(1) Le point 7 du chapitre V de l'annexe de la directive 91/492/CEE dispose que les méthodes d'analyse biologiques habituelles ne doivent pas donner de réaction positive en ce qui concerne la présence de *Diarrhetic Shellfish Poisoning* (DSP) dans les parties comestibles des mollusques (corps entier ou toute partie consommable séparément).

(2) Il est démontré scientifiquement que certaines biotoxines marines, telles que celles du complexe *Diarrhetic Shellfish Poisoning* (DSP) [acide okadaïque (AO) et dinophysistoxines (DTX)], ainsi que les yessotoxines (YTX), les pecténotoxines (PTX) et les azaspiracides (AZA), représentent un danger grave pour la santé humaine lorsqu'elles dépassent certaines limites dans les mollusques bivalves, les échinodermes, les tuniciers ou les gastéropodes marins.

(3) À la lumière d'études scientifiques récentes, il est à présent possible de définir des limites maximales et des méthodes d'analyse pour les biotoxines susmentionnées.

(4) Les limites maximales et les méthodes d'analyse doivent être harmonisées et mises en œuvre par les États membres afin de protéger la santé humaine.

(5) En plus des méthodes d'analyse biologiques, d'autres méthodes de détection, telles que des méthodes chimiques et des essais *in vitro*, doivent être acceptées s'il est démontré que les méthodes choisies ne sont pas moins efficaces que les méthodes biologiques et que leur application assure un degré équivalent de protection de la santé publique.

(6) Les limites maximales proposées sont basées sur des données provisoires et devront être réévaluées lorsque de nouvelles données scientifiques seront disponibles.

(7) Les mesures prévues dans la présente décision sont conformes à l'avis du comité vétérinaire permanent,

A ARRÊTÉ LA PRÉSENTE DÉCISION:

Article premier

La présente décision fixe les limites maximales pour les biotoxines marines du complexe *Diarrhetic Shellfish Poisoning* (DSP) (acide

([1]) JO L 268 du 24.9.1991, p. 1.
([2]) JO L 24 du 30.1.1998, p. 31.

▼B

okadaïque et dinophysistoxines), les yessotoxines, les pecténotoxines et les azaspiracides ainsi que les méthodes d'analyse à employer pour leur détection. Elle s'applique aux mollusques bivalves, aux échinodermes, aux tuniciers et aux gastéropodes marins destinés directement à la consommation humaine ou à un traitement préalable à la consommation.

Article 2

La limite maximale globale pour l'acide okadaïque, les dinophysistoxines et les pecténotoxines dans les animaux visés à l'article 1er (corps entier ou toute partie consommable séparément) est de 160 microgrammes en équivalent-acide okadaïque par kilogramme. Les méthodes d'analyse sont définies à l'annexe.

Article 3

La limite maximale pour les yessotoxines dans les animaux visés à l'article 1er (corps entier ou toute partie consommable séparément) est de 1 milligramme en équivalent-yessotoxine par kilogramme. Les méthodes d'analyse sont définies à l'annexe.

Article 4

La limite maximale pour les azaspiracides dans les animaux visés à l'article 1er (corps entier ou toute partie consommable séparément) est de 160 microgrammes en équivalent-azaspiracide par kilogramme. Les méthodes d'analyse sont définies à l'annexe.

Article 5

Lorsque les résultats des analyses font apparaître des écarts entre les différentes méthodes, le dosage biologique sur souris doit être considéré comme la méthode de référence.

Article 6

Les États membres sont destinataires de la présente décision.

▼B

ANNEXE

MÉTHODES DE DÉTECTION

Méthodes biologiques

Une série de procédures de dosage biologique sur souris, différant par la fraction à analyser (hépatopancréas ou corps entier) et par les solvants utilisés pour les phases d'extraction et de purification, peuvent être appliquées pour détecter les toxines mentionnées à l'article 1er. Leur sensibilité et leur sélectivité dépendent du choix des solvants utilisés pour l'extraction et la purification et il y a lieu d'en tenir compte au moment du choix de la méthode, afin de couvrir la gamme complète des toxines.

Un seul bio-essai sur souris avec extraction à l'acétone peut être utilisé pour détecter l'acide okadaïque, les dinophysistoxines, les pecténotoxines et les yessotoxines. Ce test peut être complété au besoin par des phases de séparation liquide/liquide avec de l'acétate d'éthyle/eau ou du dichlorométhane/eau afin d'éliminer les interférences potentielles. La détection des azaspiracides, aux niveaux réglementaires, par cette procédure requiert l'utilisation du corps entier comme fraction à analyser.

Trois souris doivent être utilisées pour chaque test. La mort d'au moins deux souris sur trois dans les 24 heures suivant l'inoculation dans chacune d'elles d'un extrait équivalent à 5 g d'hépatopancréas ou 25 g de corps entier doit être considérée comme critère de la présence d'une ou plusieurs toxines mentionnées à l'article 1er à des niveaux dépassant ceux fixés aux articles 2, 3 et 4.

Un bio-essai sur souris avec extraction à l'acétone suivie d'une séparation liquide/liquide avec de l'éther diéthylique peut être utilisé ►C1 pour détecter l'acide okadaïque, les dinophysistoxines, les pecténotoxines et les azaspiracides mais il ne peut être utilisé pour les yessotoxines, ◄ des pertes de ces toxines pouvant survenir au cours de la phase de séparation. Trois souris doivent être utilisées pour chaque test. La mort d'au moins deux souris sur trois dans les 24 heures suivant l'inoculation dans chacune d'elles d'un extrait équivalent à 5 g d'hépatopancréas ou 25 g de corps entier ►C1 doit être considérée comme critère de la présence d'acide okadaïque, de dinophysistoxines, pecténotoxines et les azaspiracides à des niveaux dépassant ceux fixés aux articles 2 et 4. ◄

Le bio-essai sur rat peut détecter l'acide okadaïque, les dinophysistoxines et les azaspiracides. Trois rats doivent être utilisés pour chaque test. Une réaction diarrhéïque chez l'un des trois rats est considérée comme critère de la présence d'acide okadaïque, de dinophysistoxines et d'azaspiracides à des niveaux dépassant ceux mentionnés aux articles 2 et 4.

Méthodes de détection alternatives

Une série de méthodes, telles que la chromatographie liquide haute performance (CLHP) avec détection fluorimétrique, la chromatographie liquide (CL) couplée à la spectrométrie de masse (SM), les immuno-essais et des tests fonctionnels, tels que l'essai d'inhibition des protéines phosphatases, peuvent être utilisées comme méthodes alternatives ou complémentaires aux méthodes biologiques à condition que, seules ou combinées, ►C1 elles permettent de détecter au moins les analogues suivants, qu'elles ne soient pas moins efficaces que les méthodes biologiques et que leur application assure un degré équivalent de protection de la santé publique: ◄

— acide okadaïque et dinophysistoxines: une phase d'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. ►C1 Des critères 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 agréé à l'échelle internationale.