

Centre de Nantes  
Programme Dynamique, Evaluation et Surveillance des Ecosystèmes Côtiers (DESECO)  
Département Environnement, Microbiologie et Phycotoxines (EMP)

**ifremer**

Avril 2009

---

# Journées REPHY 2009

Nantes, 1er et 2 avril 2009

Compilation des interventions

Ces Journées REPHY 2009 sont dédiées à **Jean Paul Berthomé**, fondateur du REPHY et décédé quelques mois après ces Journées.



## Participants aux Journées REPHY 2009



# Journées REPHY, 1er et 2 avril 2009

## Centre Ifremer de Nantes

---

Session environnementale, surveillance et recherche

Animation de la session : Michel Marchand, responsable du programme DESECO

---

Ouverture des Journées	Luçay Han-Ching Directeur du centre de Nantes
La Directive européenne Cadre sur l'EAU (DCE)	Caroline Bagot, MEEDDAT / DEB
DCE. Elément phytoplancton : résultats de l'évaluation 2002 - 2007	Catherine Belin et Dominique Soudant, Ifremer Nantes
DCE. Hydrologie : résultats de l'évaluation 2002 - 2007	Anne Daniel, Ifremer Brest
Caractérisation des événements phytoplanctoniques en zones côtières par cytométrie en flux (CytoSense Benchtop) : premières actions et perspectives	L. Felipe Artigas, ULCO
Automatisation du suivi des communautés phytoplanctoniques. Utilisation du FlowCAM couplé au logiciel PhytoImage. Post doctorat en cours	Alina Tunin-Ley, Ifremer Arcachon
Utilisation des données REPHY en écophysiologie des mollusques	Stéphane Pouvreau, Ifremer Argenton
Le phytoplancton, élément de l'Etat Initial et du Bon Etat Ecologique de la DSM (Directive Stratégie marine)	Patrick Camus, Ifremer La Trinité
Modélisation Previmer "temps réel" de la présence de <i>Pseudo-nitzschia</i> et du risque de production d'acide domoïque dans les eaux côtières bretonnes	Alain Ménesguen, Ifremer Brest
Imagerie satellitaire chlorophylle : perspectives à deux ans pour la DCE	Francis Gohin, Ifremer Brest
Projet HAEDAT / ParamMaps : visualisation cartographique d'épisodes liés aux efflorescences phytoplanctoniques dans le monde	Alain Le Magueresse, Ifremer Nantes
La prévision des blooms d'algues toxiques : résultats du projet Interreg Final	Annie Chapelle, Ifremer Brest

## Transition entre les deux sessions

---

Point d'information : nouveau découpage géographique en zones marines dans Quadrigé <sup>2</sup>	Catherine Belin, Ifremer Nantes
Comment concilier surveillance sanitaire et environnementale. Optimisation du REPHY et perspectives à 4 ans	Michel Marchand, Ifremer Nantes

## 25 ans du REPHY

---

Rétrospective des grandes mutations du REPHY. Interventions des principaux fondateurs et acteurs de l'évolution du REPHY	Patrick Lassus, Ifremer Nantes Jean-Paul Berthomé, Ifremer Nantes Bruno Barnouin, Ifremer Issy Catherine Belin, Ifremer Nantes
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

---

## Session sanitaire, surveillance et recherche

Animation de la session : Philipp Hess, responsable du département EMP

---

Plan de surveillance DGAL pour les phycotoxines et actualités	Myriam Carpentier, MAP / DGAL
Méthodes phycotoxines et essais d'aptitude	Ronel Biré, LNR / Afssa
Bilan phycotoxines 2006 à 2008. Programmation REPHY sanitaire pour 2009	Catherine Belin, Ifremer Nantes
Toxines ASP dans les coquilles St Jacques, et présence de <i>Pseudo-nitzschia</i> , dans le Finistère	Claude Le Bec & Dominique Le Gal, Ifremer Concarneau
Contribution à l'étude de la toxicité de <i>Pseudo-nitzschia</i> : mécanismes régulateurs de production de toxines amnésiantes et développement de capteurs de détection. Thèse en cours	Guillaume Calu, Ifremer Nantes / Université Nantes
Nouveaux tests de détection d' <i>Alexandrium minutum</i>	Fabienne Gas, CEA / Direction des Sciences du Vivant, Marcoule
Toxicité atypique Arcachon. Etat d'avancement du programme national	Ronel Biré, LNR / Afssa
Contribution des données des réseaux de surveillance dans l'élaboration de modèles décrivant la cinétique de détoxification de mollusques bivalves contenant des phycotoxines. Thèse en cours	Marielle Gueguen, Ifremer Nantes
Résultat obtenus dans le projet européen BIOTOX sur la décontamination de moules contenant des dinophysistoxines	Claire Marcaillou, Ifremer Nantes
Projet COMSAUMOL. Etat d'avancement.	Joel Haure, Ifremer Bouin
Problématique <i>Ostreopsis</i> en Méditerranée : surveillance, recherche et perspectives	Hubert Grossel, Ifremer Toulon & Zouher Amzil, Ifremer Nantes

# Session environnementale

Animation de la session : Michel Marchand, responsable du programme DESECO

Bureau des milieux marins 



Journées  
REPHY  
2009

LA DIRECTIVE CADRE SUR L'EAU



Présent pour l'avenir

Bureau des milieux marins 

LA DIRECTIVE CADRE SUR L'EAU



- Les objectifs de la DCE
- Les étapes de la mise en œuvre
- Le programme de surveillance
- Le calendrier de la DCE

Présent pour l'avenir

Bureau des milieux marins 

LA DIRECTIVE CADRE SUR L'EAU

## Les objectifs de la DCE

- Bon état des eaux
- Non détérioration
- Zones protégées
- Substances prioritaires

  
Présent pour l'avenir

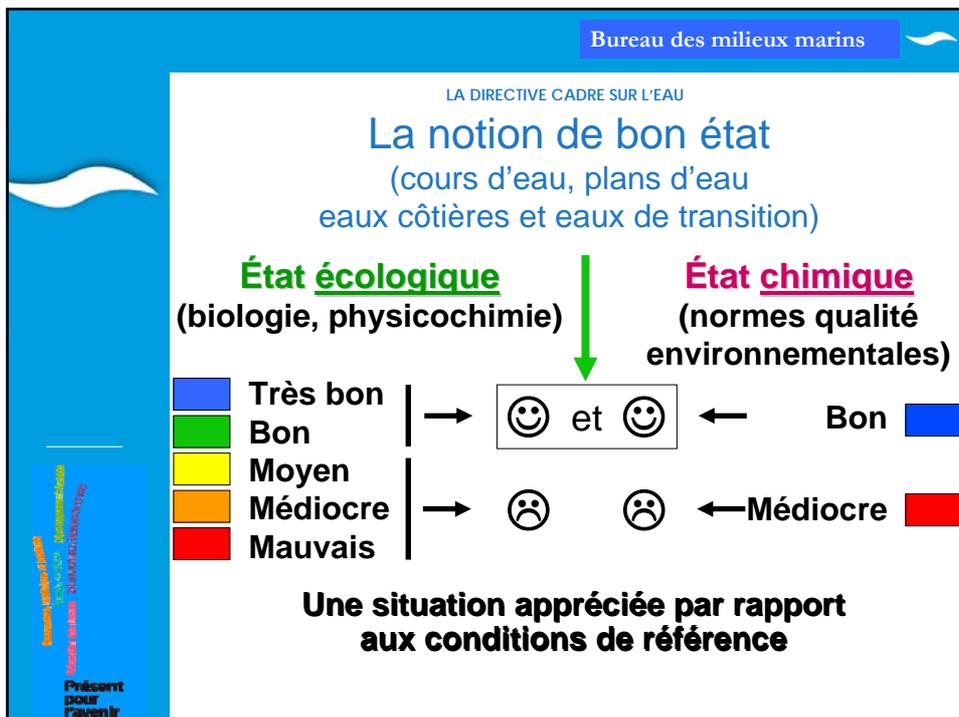
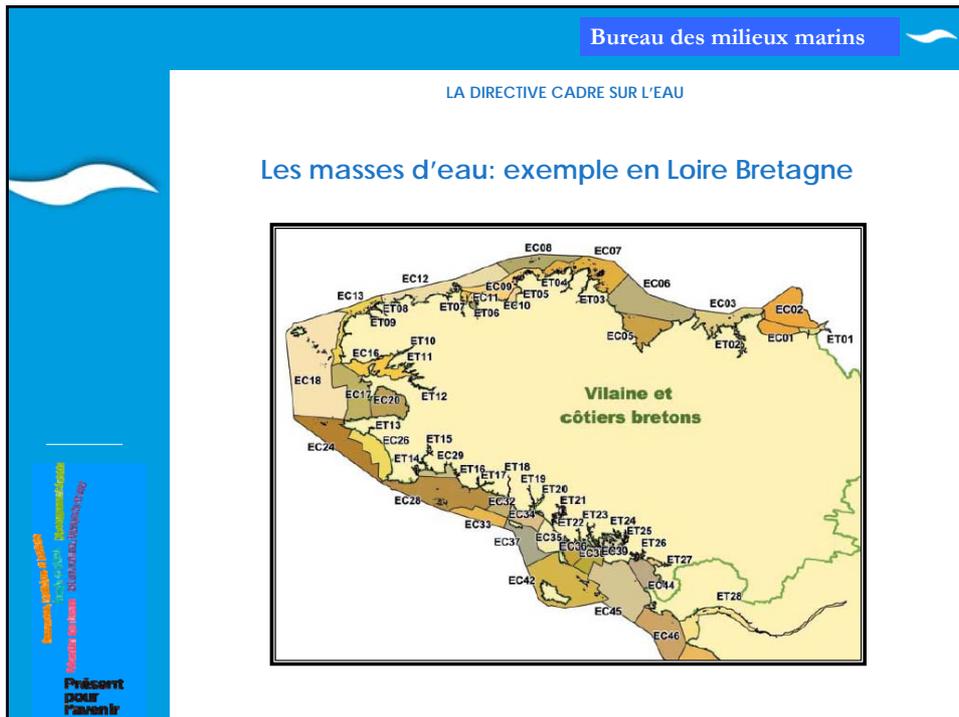
Bureau des milieux marins 

LA DIRECTIVE CADRE SUR L'EAU

## Les Masses d'eaux « littorales »

- La DCE porte sur des masses d'eau :
- *Eaux côtières* : eaux situées à moins de un mille marin de la ligne de base servant pour la mesure de la largeur des eaux territoriales.
- *Eaux de transition* : eaux situées à proximité des embouchures de rivières, qui sont partiellement salines en raison de leur proximité aux eaux côtières mais qui restent fondamentalement influencées par des courants d'eau.
- Dans chaque catégorie de masse d'eau de surface sont distingués des types « homogènes » sur la base de critères physiques et physico-chimiques : salinité, profondeur, vitesse du courant, exposition à la houle, temps de résidence,...
- Sont distinguées, si besoin :
  - ✓ des masses d'eau fortement modifiées
  - ✓ des masses d'eau artificielles
- Les masses d'eau sont délimitées

  
Présent pour l'avenir



Bureau des milieux marins

LA DIRECTIVE CADRE SUR L'EAU

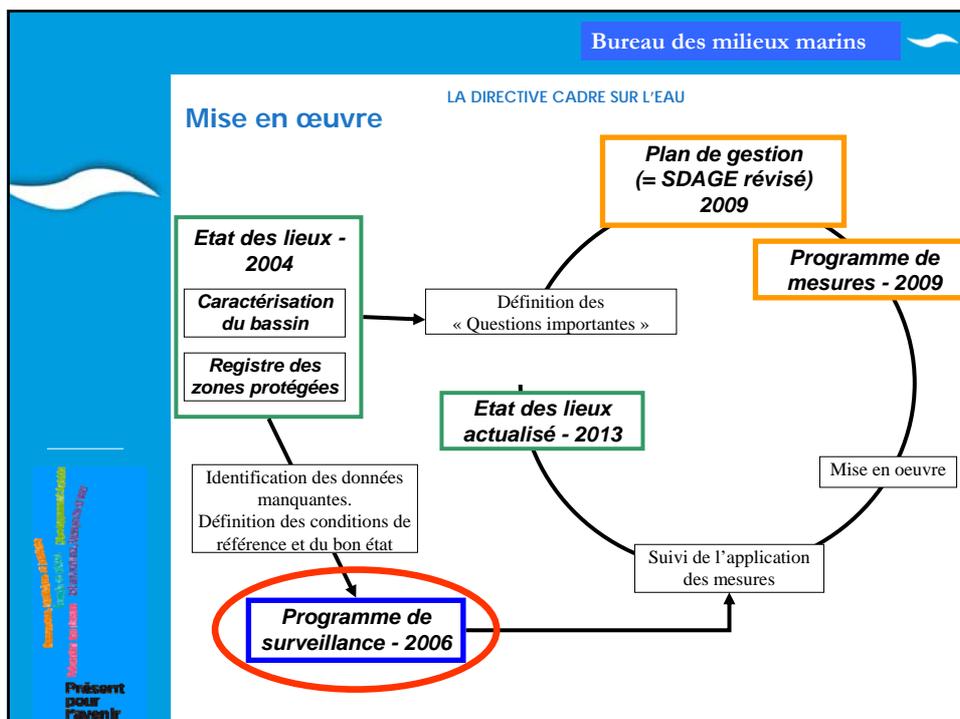
**Bon état des masses d'eau** (et bon potentiel des masses d'eau fortement modifiées et artificielles) :

- atteint en 2015, sauf reports ou dérogations
- évalué à l'échelle des masses d'eau
- composé d'un état écologique et d'un état chimique
- Non détérioration de l'état (ou du potentiel) des masses d'eau

**Ces objectifs nécessitent :**

- d'établir un système de classification de l'état (du potentiel) des masses d'eau
- d'établir une surveillance de l'état (du potentiel) des masses d'eau
- de mettre en œuvre des « programmes de mesure », visant à prévenir la détérioration ou restaurer le bon état (bon potentiel) des masses d'eau

Présent pour l'avenir



Bureau des milieux marins 

LA DIRECTIVE CADRE SUR L'EAU

**Le programme de surveillance:**

**Le contrôle de surveillance:**  
Circulaire DCE 2007/20 du 5 mars 2007

**Les contrôles opérationnels:**  
Circulaire DCE 2007/25 du 27 décembre 2007

**Les contrôles d'enquête**  
à mettre en œuvre en cas de pollutions accidentelle,  
lorsque les causes de dégradation d'une masse d'eau  
sont inconnues.

**Les contrôles additionnels**  
requis pour les zones protégées.

  
Présent pour l'avenir

Bureau des milieux marins 

LA DIRECTIVE CADRE SUR L'EAU

**Le contrôle de surveillance:**

**Objectifs**  
**Assurer un suivi des eaux littorales sur le long terme**, notamment pour évaluer les conséquences des modifications des conditions naturelles (changement climatique, par exemple) et des activités anthropiques largement répandues. Ce contrôle ne poursuit pas un objectif de « suivi de pollution » mais de « connaissance de l'état général des eaux ».

  
Présent pour l'avenir

Bureau des milieux marins 

LA DIRECTIVE CADRE SUR L'EAU

**Le contrôle de surveillance:**

**Définition du réseau**

- réseau de sites pérennes,
- répartis sur l'ensemble du territoire (métropole et DOM) : les sites sont positionnés dans certaines masses d'eau, sélectionnées par type national, en tenant compte :
  - du nombre de masses d'eau par type ;
  - des catégories de pressions ;

  
Présent pour l'avenir

Bureau des milieux marins 

LA DIRECTIVE CADRE SUR L'EAU

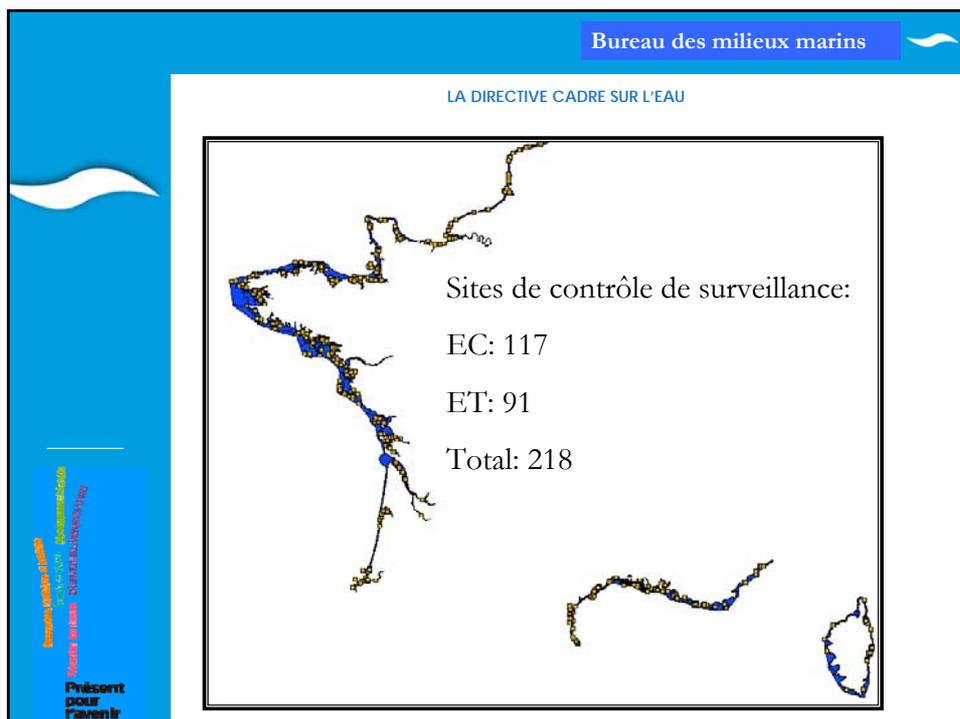
**Le contrôle de surveillance:**

Les points des réseaux pré-existants qui sont pertinents sont inclus dans la surveillance DCE.

Parmi ces réseaux, pour le paramètre phytoplancton:

- certains points du REPHY sont aussi des points DCE ;
- Suivi régional des Nutriments (SRN) NPdC
- Réseau hydrologique du Littoral Normand (RHLN)
- Arcachon hydrologie (ARCHYD) Arcachon
- Réseau de Suivi lagunaire

  
Présent pour l'avenir



Bureau des milieux marins

LA DIRECTIVE CADRE SUR L'EAU

### Calendrier

⊕ Rapportage **22 Mars 2010** à la CE qui comprend :

- ❑ les programmes de mesures (art 11)
- ❑ Plan de gestion du district hydrographique (art.13):
  - Carte avec les masses d'eau
  - Carte indiquant les écorégions et types de Masse d'eau
  - Identification des conditions de référence pour les types de ME
  - Carte des réseaux de surveillance ainsi qu'une représentation cartographique des résultats des programmes de surveillance pour l'état (écologique & chimique) des eaux de surface et des zones protégées.

Présent pour l'avenir

Bureau des milieux marins 

LA DIRECTIVE CADRE SUR L'EAU

Pour en savoir plus

Les sites internet :

[www.eaufrance.fr](http://www.eaufrance.fr)

[www.developpement-durable.gouv.fr](http://www.developpement-durable.gouv.fr)

[www.ifremer.fr/DCE/](http://www.ifremer.fr/DCE/)

  
Présent pour l'avenir

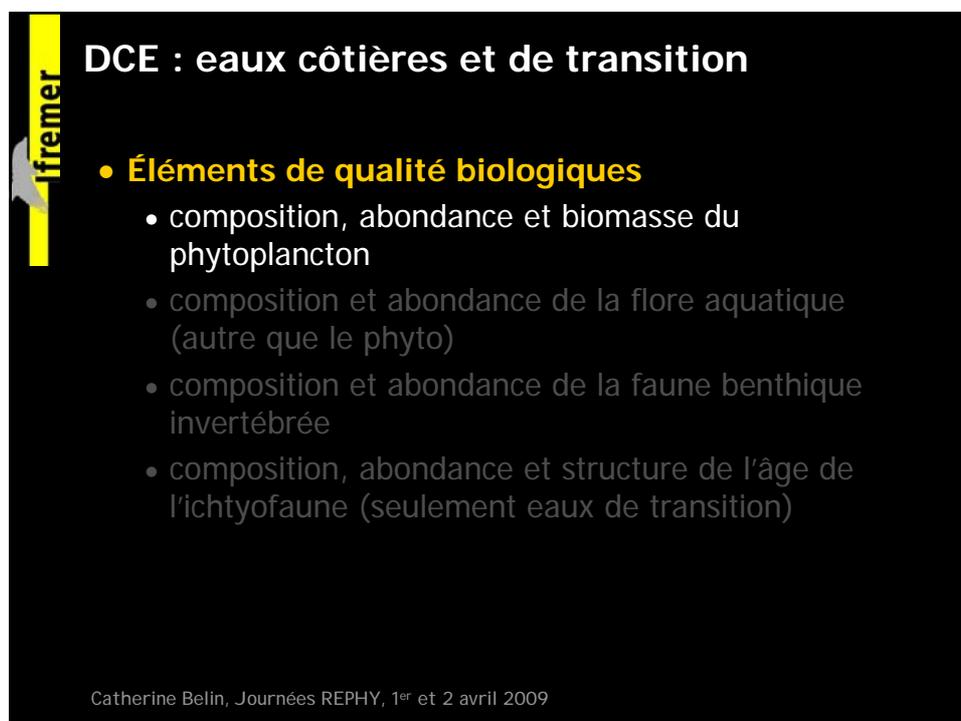
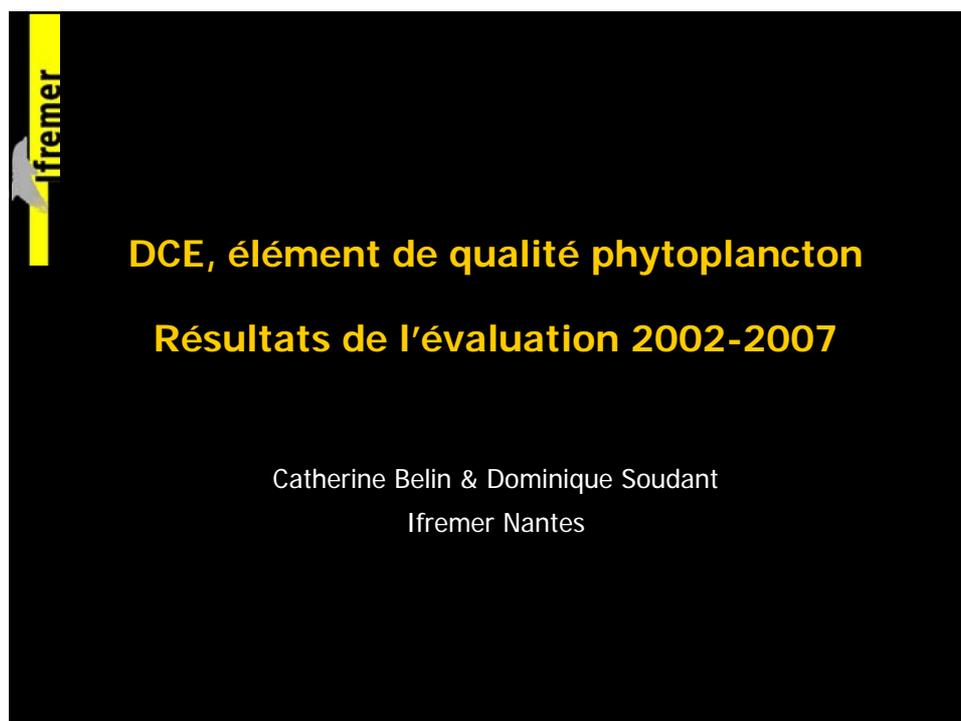
Bureau des milieux marins 

LA DIRECTIVE CADRE SUR L'EAU

MERCI DE VOTRE ATTENTION  
& BONNE JOURNÉE !



  
Présent pour l'avenir



## Définitions

Indices	Paramètres	Métriques	Zones
Biomasse	Chlorophylle-a	Percentile 90	Toutes
Abondance	Blooms phyto toutes espèces / dénombrements floristiques	% d'échantillons avec blooms (> 100 000 cells/L)	Toutes sauf lagunes
	Concentrations en nano et pico-phyto / cytométrie en flux	Percentile 90	Lagunes méditerranéennes
Composition	Blooms phyto nuisible	% d'échantillons avec blooms nuisibles (> 1 million cells/L)	Toutes

## Traitement des données

- Application des métriques sur chaque paramètre
- Calcul des EQRs pour chacune des métriques
  - EQR = valeur de référence / valeur de la métrique
    - varie entre 0 (le pire) et 1 (le meilleur)
    - valeur de référence = valeur « naturelle » ou située dans classe TB
- Combinaison des EQRs des métriques
  - pour chacun des trois indices
- Combinaison des EQRs des trois indices pour le calcul de l'indicateur phyto
  - = moyenne des EQRs des 3 indices constitutifs

Catherine Belin, Journées REPHY, 1<sup>er</sup> et 2 avril 2009



**Chlorophylle**  
Percentile 90 chlorophylle *a* ( $\mu\text{g.l}^{-1}$ )

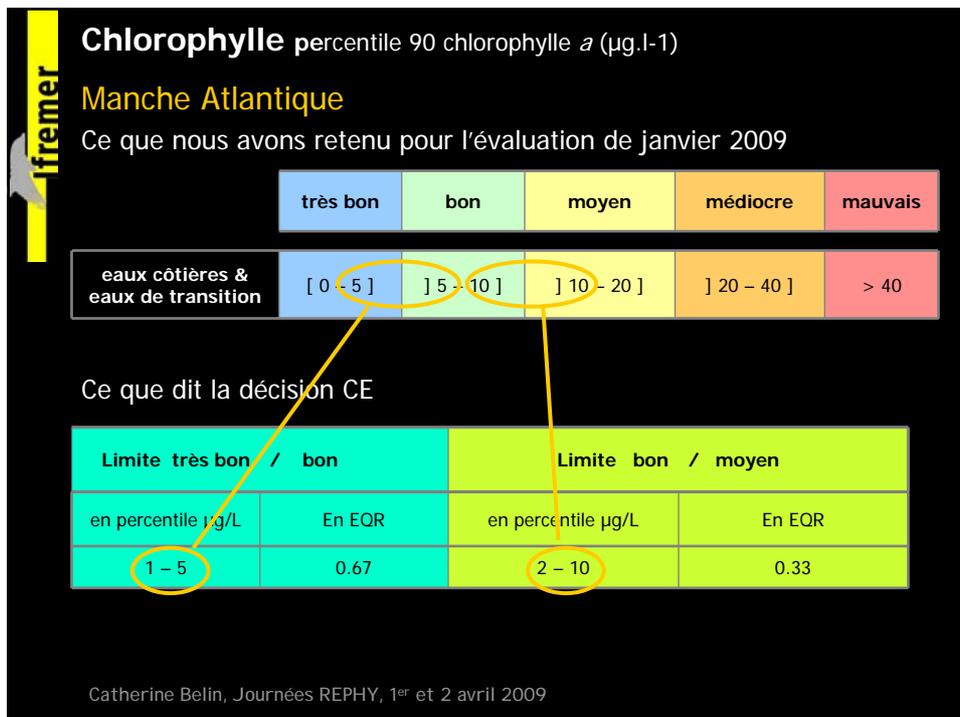
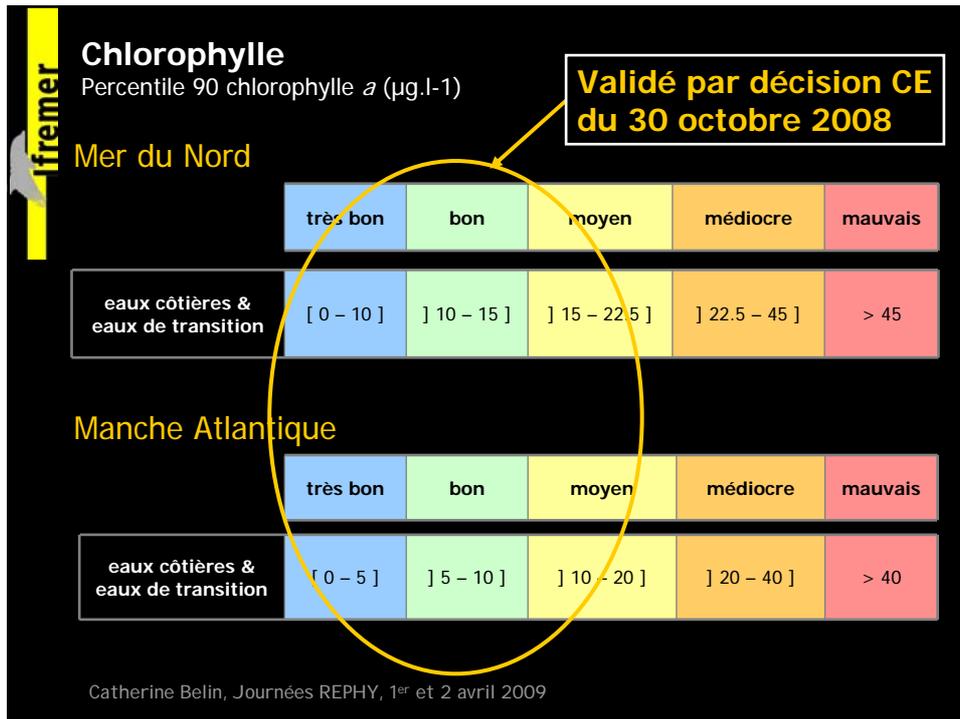
**Mer du Nord**

	très bon	bon	moyen	médiocre	mauvais
eaux côtières & eaux de transition	[ 0 – 10 ]	] 10 – 15 ]	] 15 – 22.5 ]	] 22.5 – 45 ]	> 45

**Manche Atlantique**

	très bon	bon	moyen	médiocre	mauvais
eaux côtières & eaux de transition	[ 0 – 5 ]	] 5 – 10 ]	] 10 – 20 ]	] 20 – 40 ]	> 40

Catherine Belin, Journées REPHY, 1<sup>er</sup> et 2 avril 2009



**Chlorophylle** percentile 90 chlorophylle *a* (µg.l-1)

Ce que dit la décision CE

Limite très bon / bon		Limite bon / moyen	
en percentile µg/L	En EQR	en percentile µg/L	En EQR
1 - 5	0.67	2 - 10	0.33

Ce que nous pouvons en déduire pour la valeur de référence

(valeur de référence = EQR TB-B X limite TB-B)

→ la valeur de référence est égale à **3.35** (0.67 x 5)

Catherine Belin, Journées REPHY, 1<sup>er</sup> et 2 avril 2009

**Chlorophylle**  
Percentile 90 chlorophylle *a* (µg.l-1)

Méditerranée

	très bon	bon	moyen	médiocre	mauvais
eaux côtières type 1	[ 0 - 5 ]	] 5 - 10 ]	] 10 - 20 ]	] 20 - 40 ]	> 40
eaux côtières type 2 A	[ 0 - 2.4 ]	] 2.4 - 3.6 ]	] 3.6 - 7.2 ]	] 7.2 - 14.4 ]	> 14.4
eaux côtières type 3 W	[ 0 - 1.1 ]	] 1.1 - 1.8 ]	] 1.8 - 3.6 ]	] 3.6 - 7.2 ]	> 7.2
eaux de transition type estuarien	[ 0 - 5 ]	] 5 - 10 ]	] 10 - 20 ]	] 20 - 40 ]	> 40
eaux de transition type lagunes	[ 0 - 5 ]	] 5 - 10 ]	] 10 - 20 ]	] 20 - 40 ]	> 40

Catherine Belin, Journées REPHY, 1<sup>er</sup> et 2 avril 2009

**Chlorophylle**  
Percentile 90 chlorophylle *a* ( $\mu\text{g.l}^{-1}$ )

**Méditerranée**

**Validé par décision CE du 30 octobre 2008**

	très bon	bon	moyen	médiocre	mauvais
eaux côtières type 1	[ 0 – 5 ]	] 5 – 10 ]	] 10 – 20 ]	] 20 – 40 ]	> 40
eaux côtières type 2 A	[ 0 – 2.4 ]	] 2.4 – 3.6 ]	] 3.6 – 7.2 ]	] 7.2 – 14.4 ]	> 14.4
eaux côtières type 3 W	[ 0 – 1.1 ]	] 1.1 – 1.8 ]	] 1.8 – 3.6 ]	] 3.6 – 7.2 ]	> 7.2
eaux de transition type estuarien	[ 0 – 5 ]	] 5 – 10 ]	] 10 – 20 ]	] 20 – 40 ]	> 40
eaux de transition type lagunes	[ 0 – 5 ]	] 5 – 10 ]	] 10 – 20 ]	] 20 – 40 ]	> 40

Catherine Belin, Journées REPHY, 1<sup>er</sup> et 2 avril 2009

**Abondance**  
Pourcentage d'échantillons pour lesquels un taxon dépasse 100 000 cellules par litre (toutes espèces)

**Toutes zones, sauf lagunes**

très bon	bon	moyen	médiocre	mauvais
[ 0 – 20% [	[ 20 % – 40 % [	[ 40 % – 70 % [	[ 70 % – 90 % ]	> 90 %

Catherine Belin, Journées REPHY, 1<sup>er</sup> et 2 avril 2009

**Abondance**  
 Pourcentage d'échantillons pour lesquels un taxon dépasse 100 000 cellules par litre (toutes espèces)

Toutes zones, sauf lagunes

**Validé par décision CE du 30 octobre 2008 pour Manche Atlantique**

très bon	bon	moyen	médiocre	mauvais
[ 0 - 20% [	[ 20 % - 40 % [	[ 40 % - 70 % [	[ 70 % - 90 % ]	> 90 %

Catherine Belin, Journées REPHY, 1<sup>er</sup> et 2 avril 2009

**Abondance**  
 Percentile 90 des concentrations en nano et pico-phytoplancton (en millions de cellules par litre)

Lagunes méditerranéennes

	très bon	bon	moyen	médiocre	mauvais
nano-phytoplancton	[ 0 - 6 ]	] 6 - 15 ]	] 15 - 30 ]	] 30 - 150 ]	> 150
pico-phytoplancton	[ 0 - 30 ]	] 30 - 75 ]	] 75 - 150 ]	] 150 - 750 ]	> 750

Indice d'abondance = combinaison de ces deux métriques = minimum de leurs EQRs

Catherine Belin, Journées REPHY, 1<sup>er</sup> et 2 avril 2009

**Composition**  
Pourcentage d'échantillons pour lesquels un taxon **nuisible** dépasse 1 million de cellules par litre

**Toutes zones**

très bon	bon	moyen	médiocre	mauvais
[ 0 – 10% [	[ 10 % – 17 % ]	] 17 % – 35 % ]	] 35 % – 80 % ]	> 80 %

Catherine Belin, Journées REPHY, 1<sup>er</sup> et 2 avril 2009

**Résultats des évaluations - 1**

**Rapport juillet 2007**  
C. Belin, G. Durand, A. Daniel & A. Pellouin-Grouhel  
DCE, indicateurs phytoplancton, chlorophylle et hydrologie. Comparaison des classement obtenus avec différents critères.

**Rapports novembre 2008 en six tomes**  
C. Belin & D. Soudant  
DCE : évaluation provisoire de la qualité des masses d'eaux côtières et de transition pour l'élément phytoplancton, 2000-2007. Etat des lieux complet du littoral français basé sur les données chlorophylle et phytoplancton disponibles dans Quadrigé.

[http://www.ifremer.fr/dce/2\\_extranet/index.htm](http://www.ifremer.fr/dce/2_extranet/index.htm)  
rubrique qualification des masses d'eau

Catherine Belin, Journées REPHY, 1<sup>er</sup> et 2 avril 2009



## Résultats des évaluations - 2

# Rapports janvier 2009 en six tomes

D. Soudant & C. Belin

Evaluation DCE décembre 2008. Elément de qualité phytoplancton

[http://www.ifremer.fr/dce/2\\_extranet/index.htm](http://www.ifremer.fr/dce/2_extranet/index.htm)  
rubrique qualification des masses d'eau

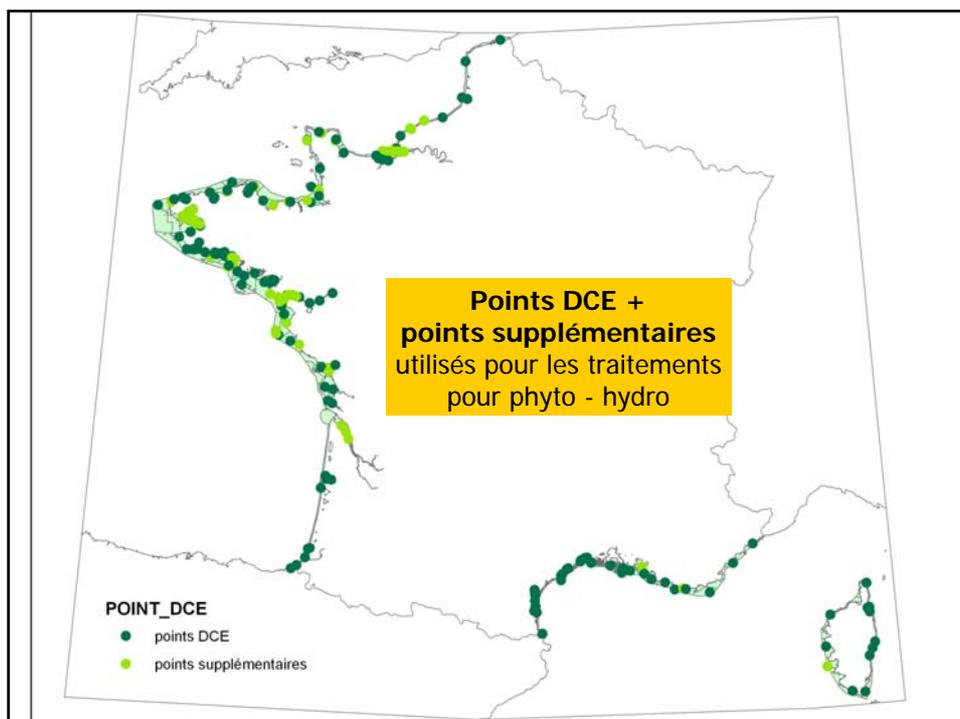
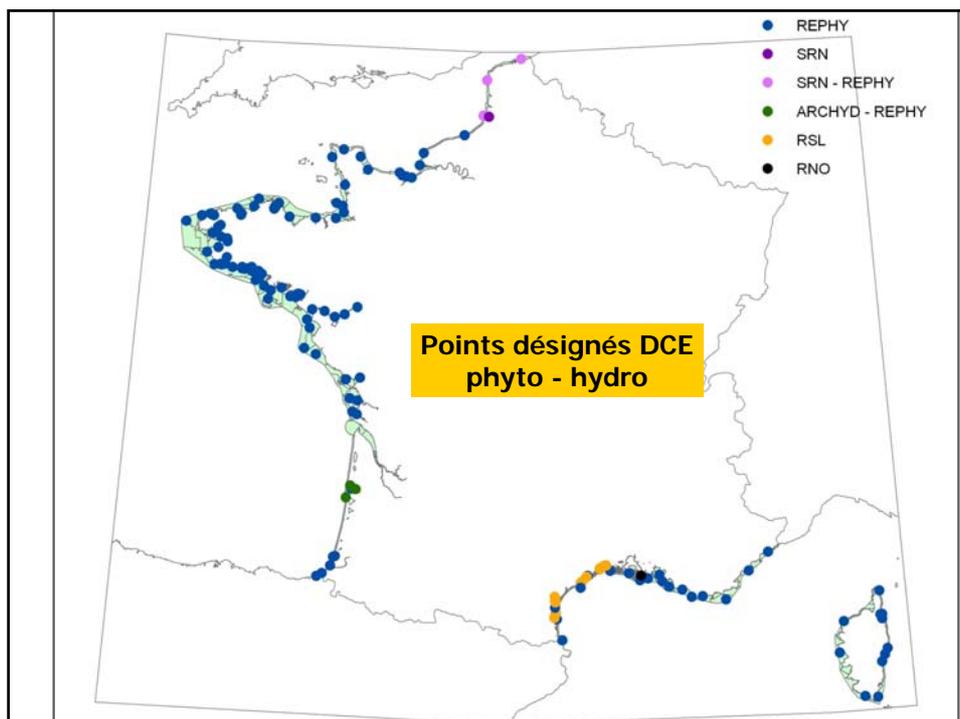
Catherine Belin, Journées REPHY, 1<sup>er</sup> et 2 avril 2009



## Rapports janvier 2009

- **Données utilisées**
  - exclusivement Quadrige<sup>2</sup>
  - 2002-2007
  - des ME désignées pour le contrôle de surveillance
  - des points retenus DCE + points supplémentaires

Catherine Belin, Journées REPHY, 1<sup>er</sup> et 2 avril 2009



**Rapports  
janvier 2009**

**Fiche par  
masse d'eau**

**FRGC16 – Rade de Brest**

**Description de la masse d'eau**

Ecotype	EC manche atlantique 1/26a
ME de surveillance	Oui
ME de référence	Non
ME d'intercalibration	Oui
ME turbide	Non

**Évaluation de l'élément de qualité**

Phytoplancton	EQR [IC]	0.66 [0.52;0.83]
	Grille	(0.1 - 0.15 - 0.28 - 0.55)
	Classe	1
	Confiance	90-10-0-0

**Évaluations des paramètres de l'élément de qualité**

Biomasse	N	68 (48)
	Indice	3.2
	Grille de l'indice	(5 - 10 - 20 - 40)
	EQR [IC]	1 [0.88;1]
	Grille	(0.08 - 0.17 - 0.33 - 0.67)
	Classe	1
Abondance	N	59 (72)
	Indice	28.8
	Grille de l'indice	(20 - 40 - 70 - 90)
	EQR [IC]	0.58 [0.42;0.90]
	Grille	(0.19 - 0.24 - 0.42 - 0.83)
	Classe	2
Composition	N	59 (72)
	Indice	3.4
	Grille de l'indice	(10 - 17 - 35 - 80)
	EQR [IC]	0.41 [0.12;0.82]
	Grille	(0.02 - 0.04 - 0.08 - 0.14)
	Classe	2

N : nombre d'observations disponibles (nombre d'observations attendues)  
 Indice : résultat du calcul de la métrique dans l'unité de paramètre.  
 Grille de lecture de l'indice de finissant les 5 classes d'état.  
 EQR : Ecological Quality Ratio, indice ramené sur l'intervalle [0 ; 1], 0 étant le pire et 1 le meilleur.  
 IC : Intervalle de confiance à 95% de l'EQR.  
 Grille : grille de lecture de l'EQR définissant les 5 classes d'état du pire au meilleur.  
 Classe : état de la masse d'eau au regard de l'EQR.  
 Confiance : probabilité d'appartenance de la masse d'eau à chacune des 5 classes d'état au regard de la masse d'eau, de la meilleure à la pire.

**Commentaire**

Les effectifs observés de Biomasse, Abondance et Composition sont différents de plus de 10% des effectifs attendus.

## Confiance et précision

### Confiance

«Probabilité, exprimée comme un pourcentage, que la vraie valeur d'un paramètre statistique est incluse dans un intervalle.»

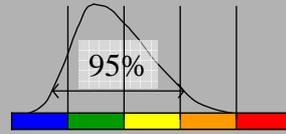
### Précision

«Mesure de l'incertitude statistique égale à la moitié de la longueur de l'intervalle de confiance.»

Extrait de D. Soudant, juin 2008

[http://www.cemagref.fr/Informations/Actualites/colloque/08/aquaref/seminaire/interventions\\_seminaire/Session%204%20-%20Th%EBmes%20transversaux/Aquaref\\_juin08-session4-Soudant.pdf](http://www.cemagref.fr/Informations/Actualites/colloque/08/aquaref/seminaire/interventions_seminaire/Session%204%20-%20Th%EBmes%20transversaux/Aquaref_juin08-session4-Soudant.pdf)

## Confiance et précision



Classe d'état	Probabilité de la classe
Très bon	10%
Bon	50%
Moyen	25%
Médiocre	10%
Mauvais	5%

Extrait de D. Soudant, juin 2008

[http://www.cemagref.fr/Informations/Actualites/colloque/08/aquaref/seminaire/interventions\\_seminaire/Session%204%20-%20Th%E8mes%20transversaux/Aquaref\\_juin08-session4-Soudant.pdf](http://www.cemagref.fr/Informations/Actualites/colloque/08/aquaref/seminaire/interventions_seminaire/Session%204%20-%20Th%E8mes%20transversaux/Aquaref_juin08-session4-Soudant.pdf)

## Rapports janvier 2009

### Éléments suppl. d'expertise

#### Point(s) contributif(s)

##### Biomasse

Identifiant point	Libellé point	Nombre de mesures	Statut
18038012	Lanvéoc large	7	DCE
18038025	Lanvéoc	41	Supplémentaire
18038205	Roscanvel (b)	10	Supplémentaire
18038206	Poulmic (a)	10	Supplémentaire

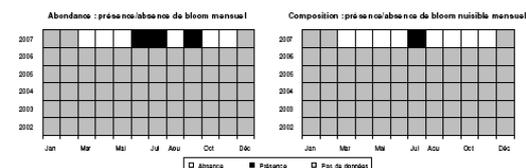
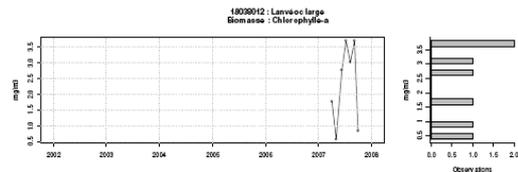
##### Abondance

Identifiant point	Libellé point	Nombre de mesures	Statut
18038012	Lanvéoc large	9	DCE
18038025	Lanvéoc	50	Supplémentaire

##### Composition

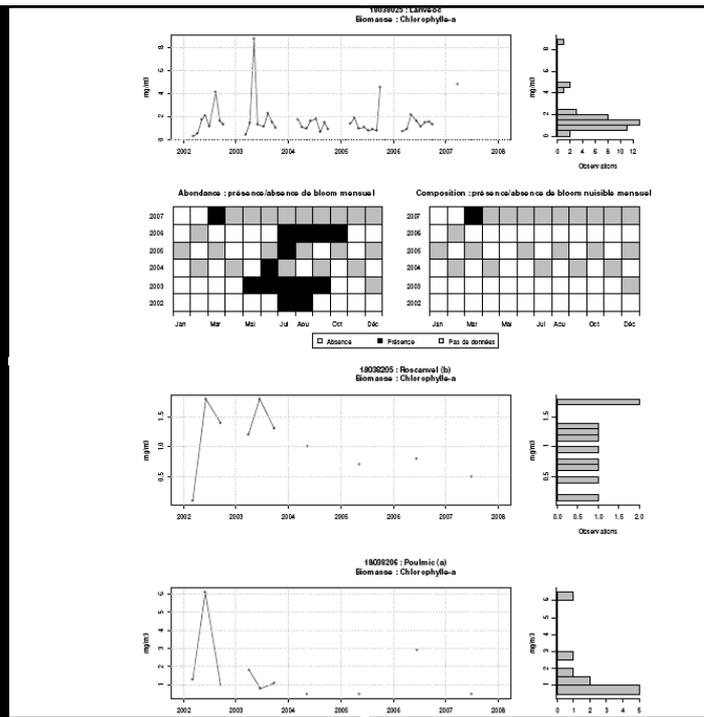
Identifiant point	Libellé point	Nombre de mesures	Statut
18038012	Lanvéoc large	9	DCE
18038025	Lanvéoc	50	Supplémentaire

#### Graphique(s)



Rapports  
janvier 2009

Éléments  
suppl.  
d'expertise



Rapports  
janvier 2009

Éléments  
suppl.  
d'expertise

Taxons des blooms	
Abondance	Composition
Chaetoceros socialis + radians (6)	Skeletonema costatum (2)
Chaetoceros (3)	
Chaetoceros curvisetus + debilis + pseudocurvisetus (2)	
Gymnodinium chlorophorum (2)	
Leptocylindrus danicus + curvatulus (2)	
Skeletonema costatum (2)	
Cerataulina pelagica (1)	
Guinardia delicatula (1)	
Karenia mikimotoi (1)	
Pseudo-nitzschia, groupe des fines, complexe delicatissima (1)	
Thalassionema nitzschioides (1)	
Thalassiosira + Porosira (1)	

## Evaluation janvier 2009 : résultats -1

- **110 ME désignées (dont 14 ME de référence)**
  - dont 104 non turbides
- **Parmi ces 104 ME**
  - seules 6 ME respectent les conditions d'évaluation
  - 90 ME sont évaluées pour au moins un indice
  - 73 ME sont évaluées pour l'élément de qualité phyto

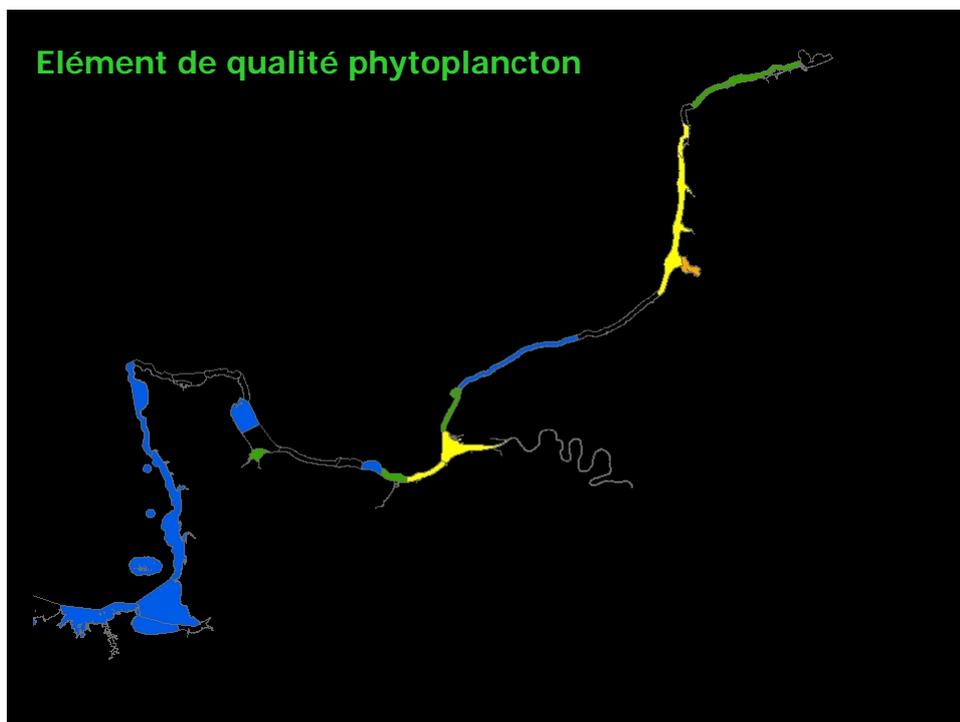
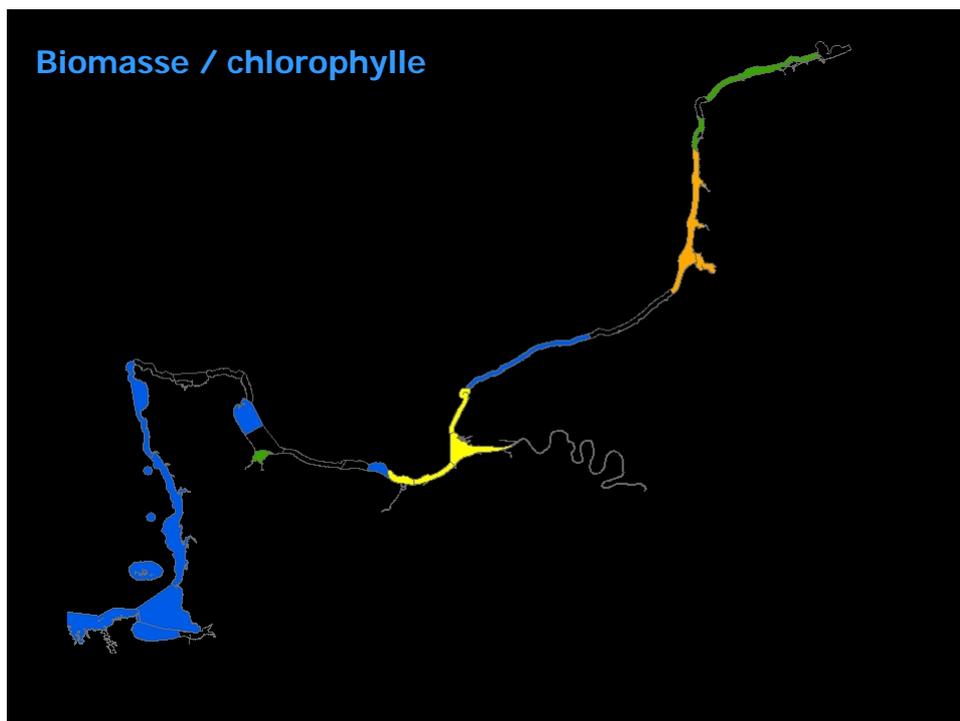
Catherine Belin, Journées REPHY, 1<sup>er</sup> et 2 avril 2009

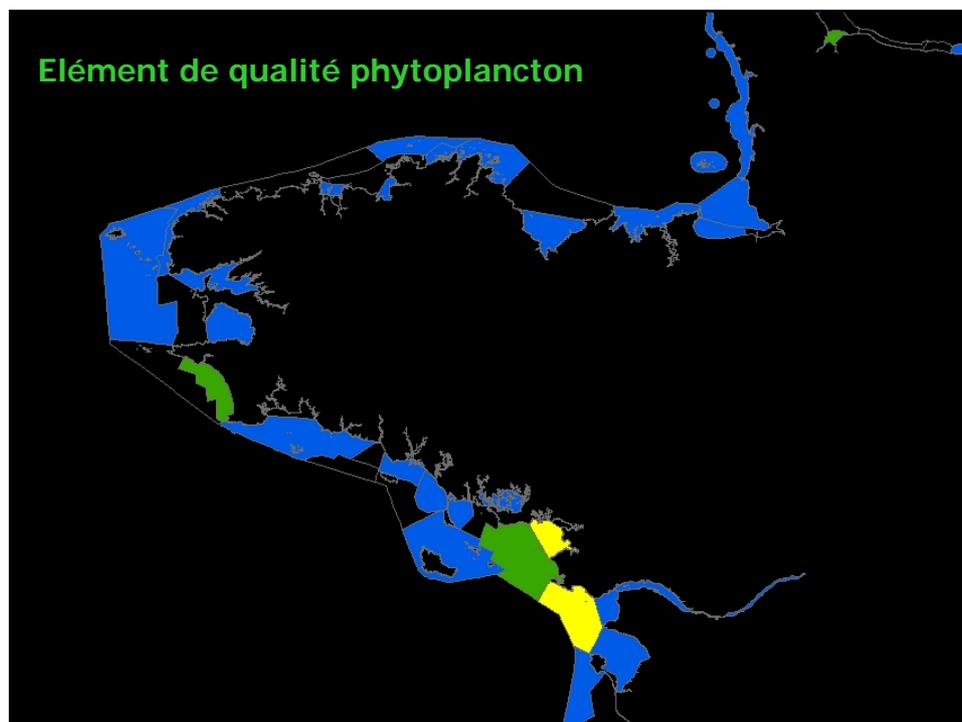
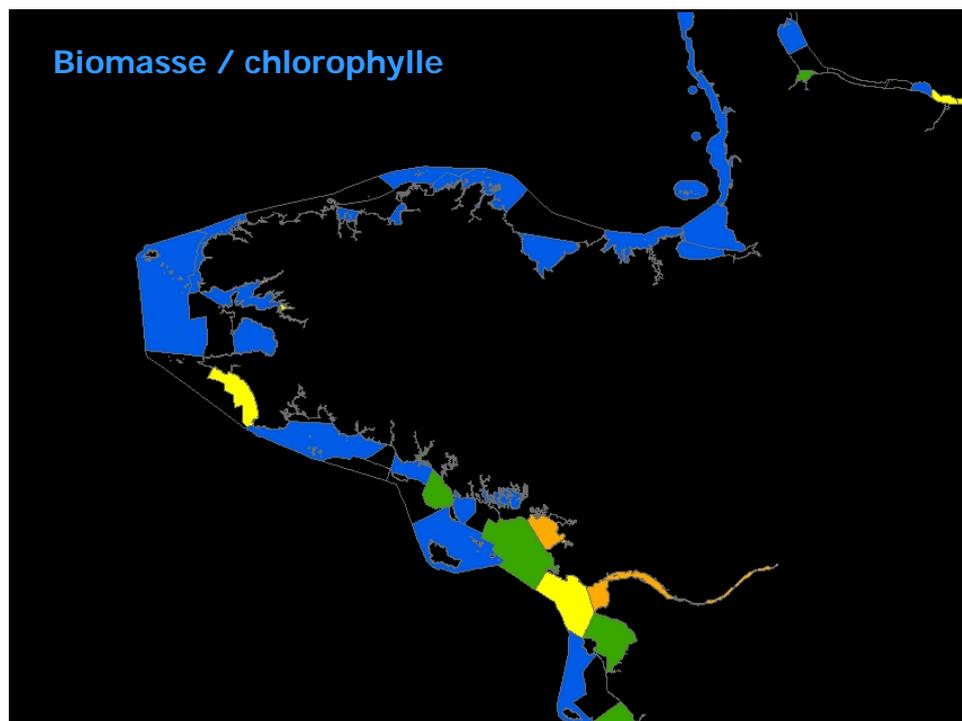
## Evaluation janvier 2009 : résultats -2

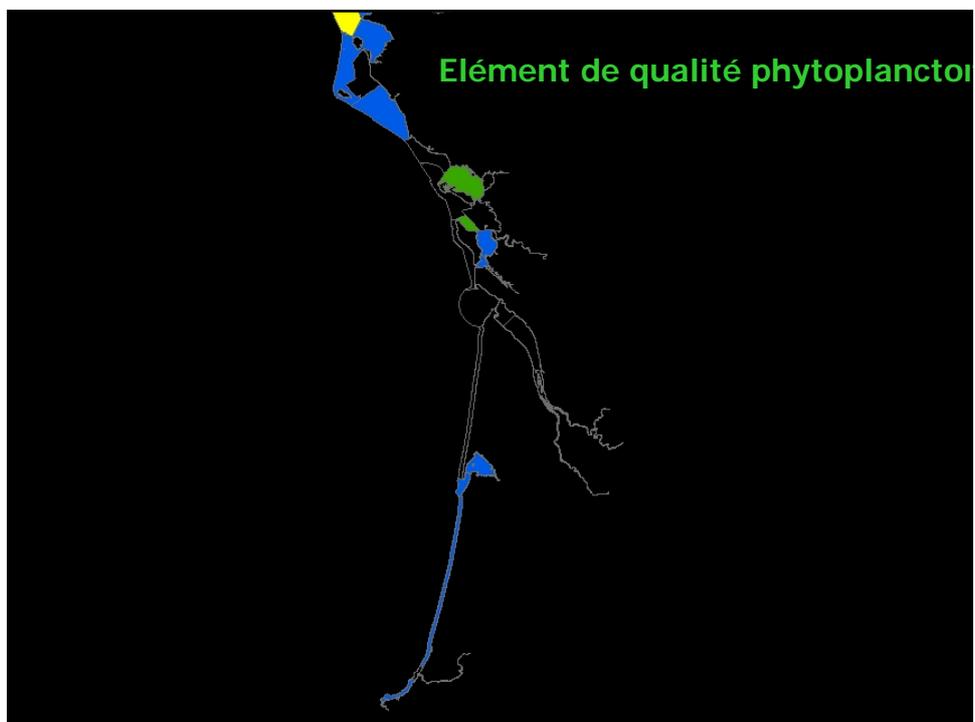
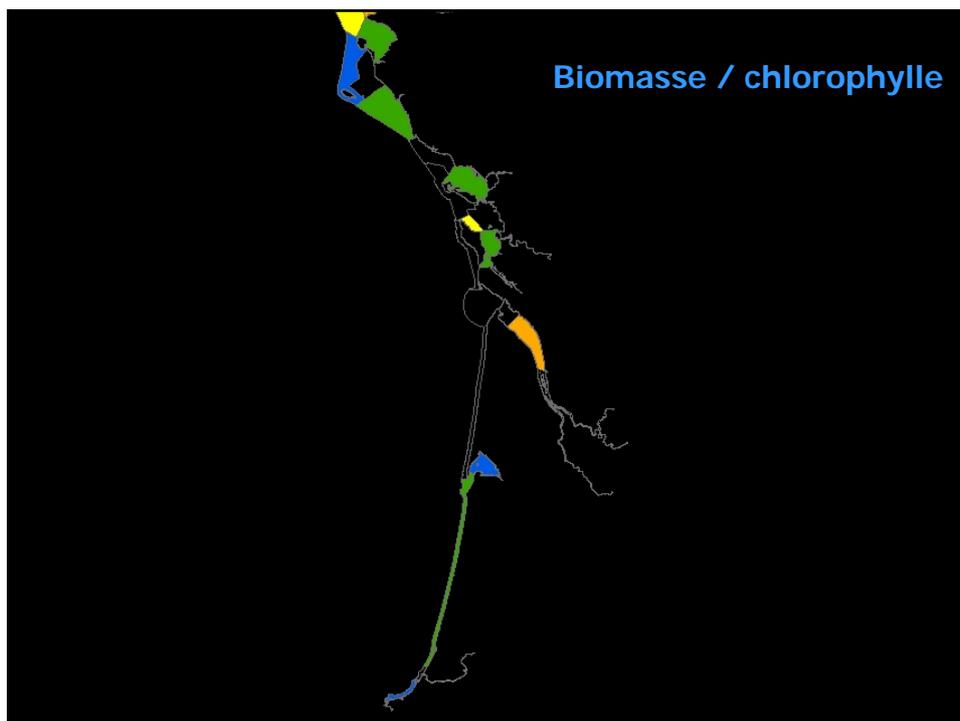
Pour les 73 ME évaluées sur l'élément de qualité phyto

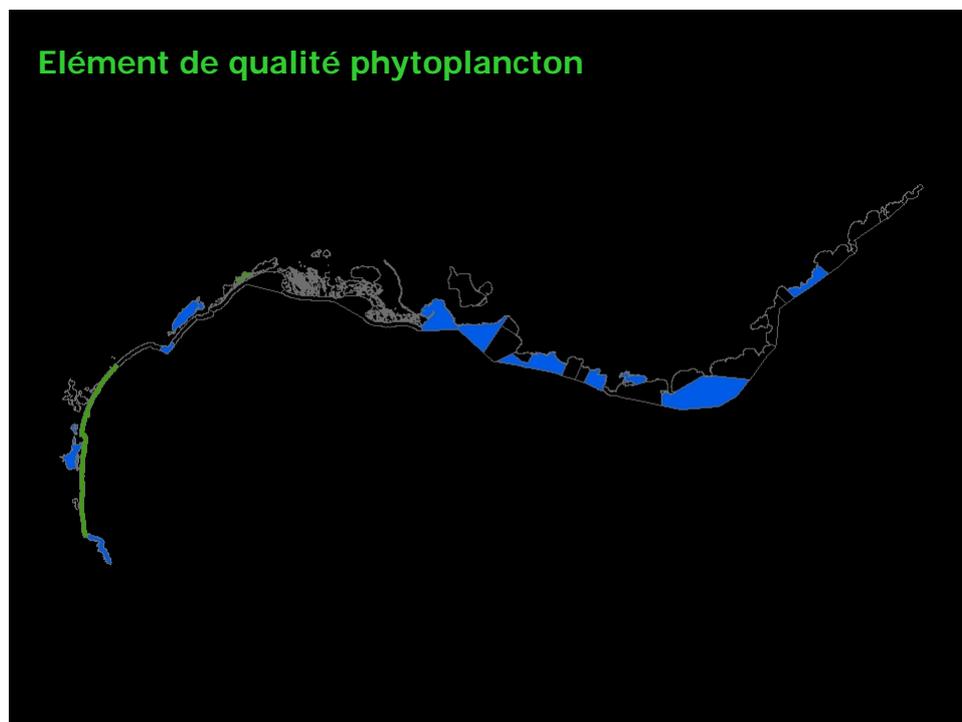
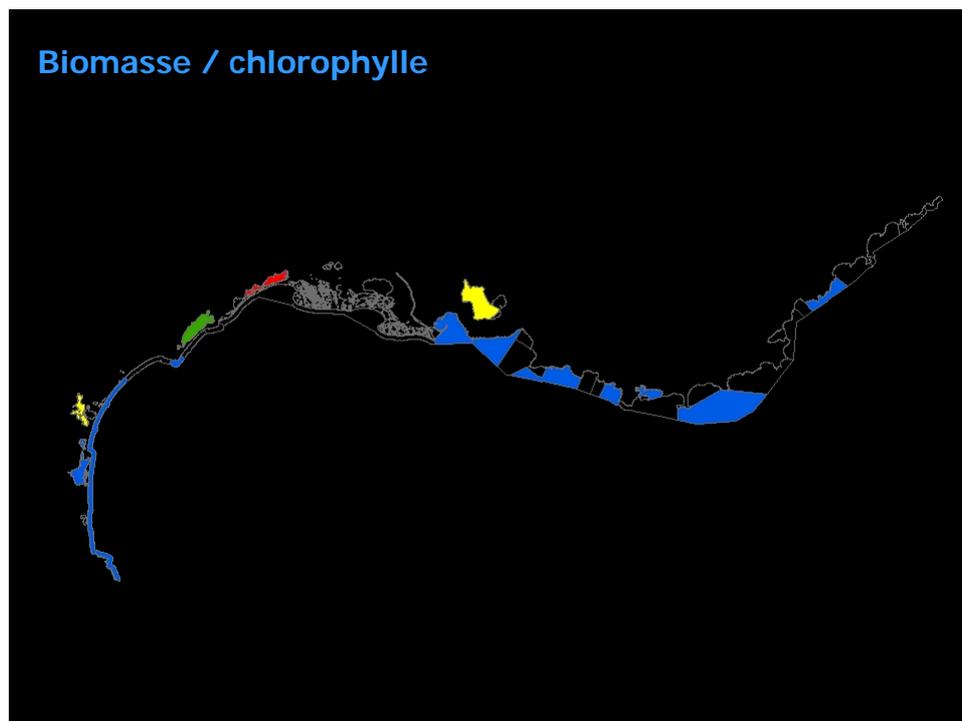
	très bon	bon	moyen	médiocre	mauvais
Phytoplancton	57	9	6	1	0
biomasse	49	12	7	4	1
abondance	30	27	13	2	1
composition	65	7	1	0	0

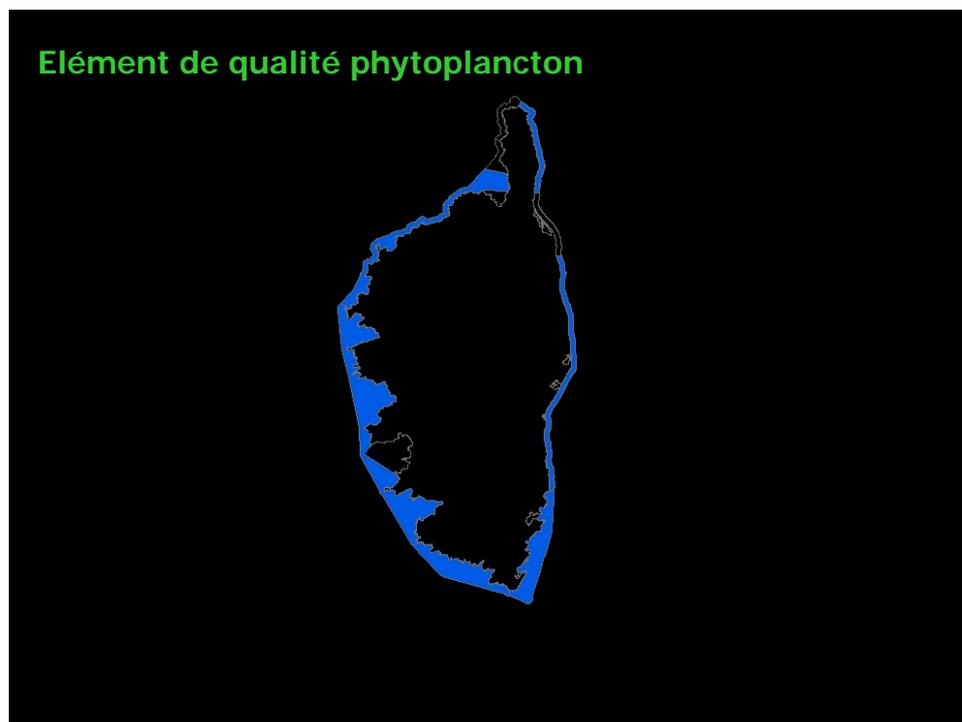
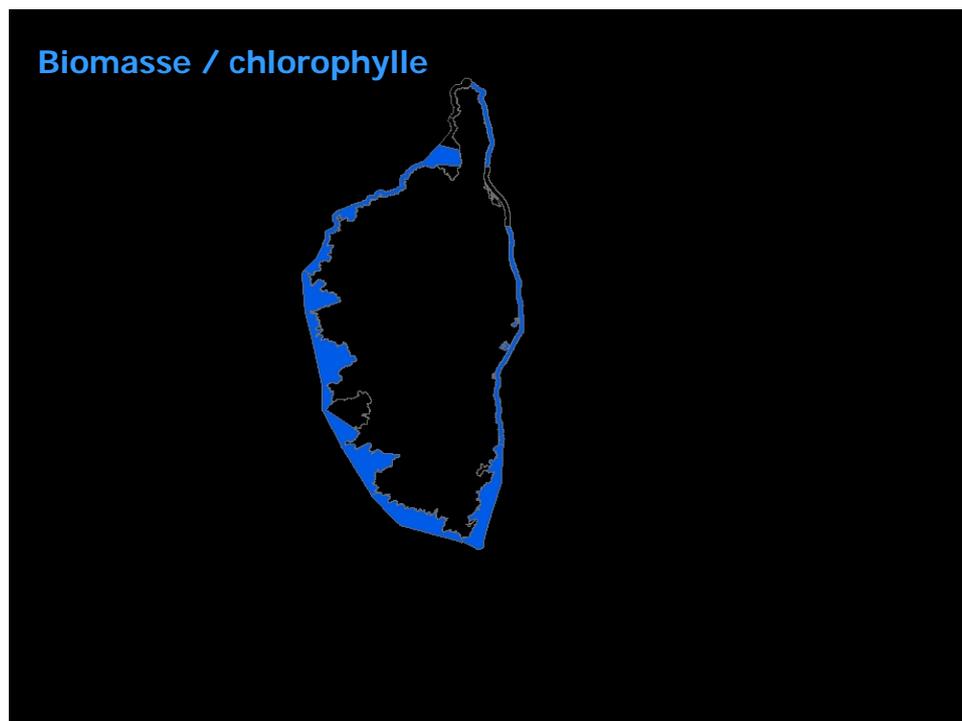
Catherine Belin, Journées REPHY, 1<sup>er</sup> et 2 avril 2009











## Evaluation janvier 2009 : discussion

- **Respect des conditions d'évaluation par 6 ME seulement**
  - effectifs inférieurs
  - effectifs supérieurs
- **Calcul EQR indicateur phyto par moyenne**
  - incompatible avec la règle du plus déclassant
- **Les résultats de confiance et précision peuvent confirmer, mettre en balance ou infirmer le classement : l'approche statistique est une aide à la décision pour le gestionnaire**

Catherine Belin, Journées REPHY, 1<sup>er</sup> et 2 avril 2009

## Conclusions : prochaine évaluation automne 2009

- **Données 2003-2008 au lieu de 2002-2007**
- **Données à récupérer dans les eaux de transition**
- **Indice composition à revoir**
- **Petits aménagements dans pré-traitements**
- **Valider ME de référence**

Catherine Belin, Journées REPHY, 1<sup>er</sup> et 2 avril 2009



**DCE / hydrologie : mise en œuvre, résultats  
évaluation mars 2009**

Anne Daniel  
Ifremer - DYNECO/PELAGOS



**Paramètres physico-chimiques pour DCE**

- Température
- Salinité
- Transparence (turbidité)
- Oxygène dissous
- Nutriments (ammonium, nitrate+nitrite, phosphate, silicate)

« ... les paramètres physico-chimiques sont considérés  
comme des paramètres de soutien aux éléments de  
qualité biologique... »

*extrait de la directive*

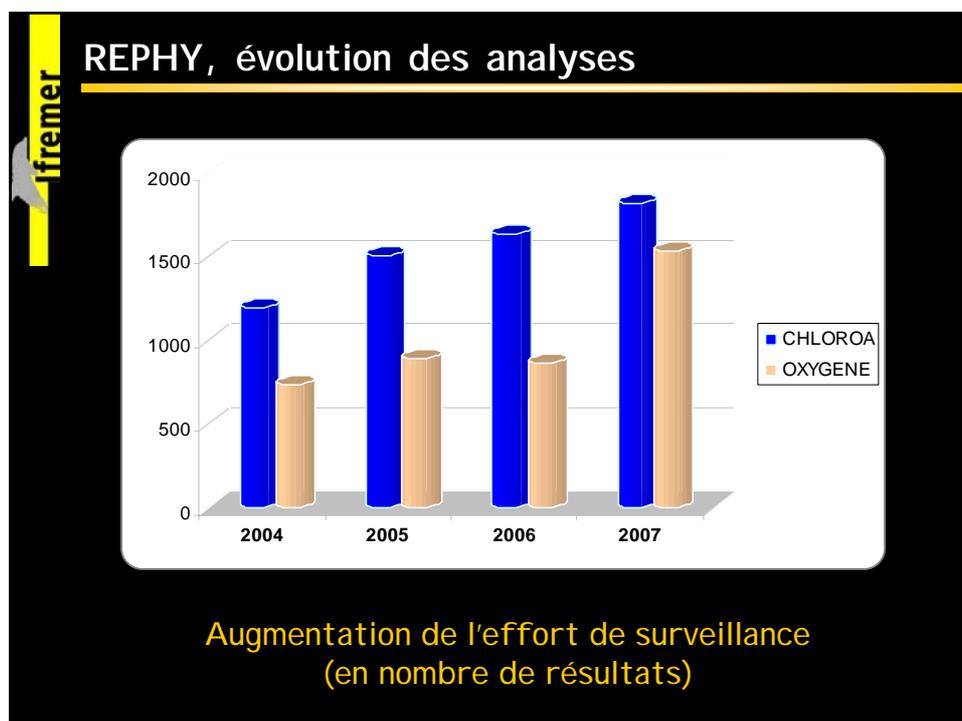
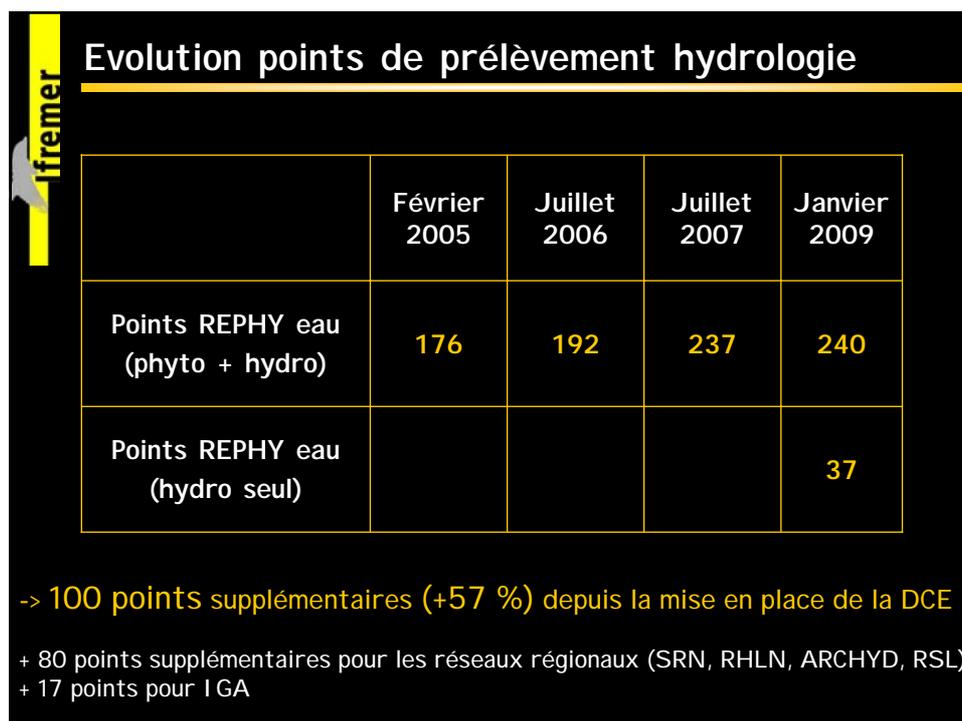
**Fréquence annuelle minimale préconisée par la directive**

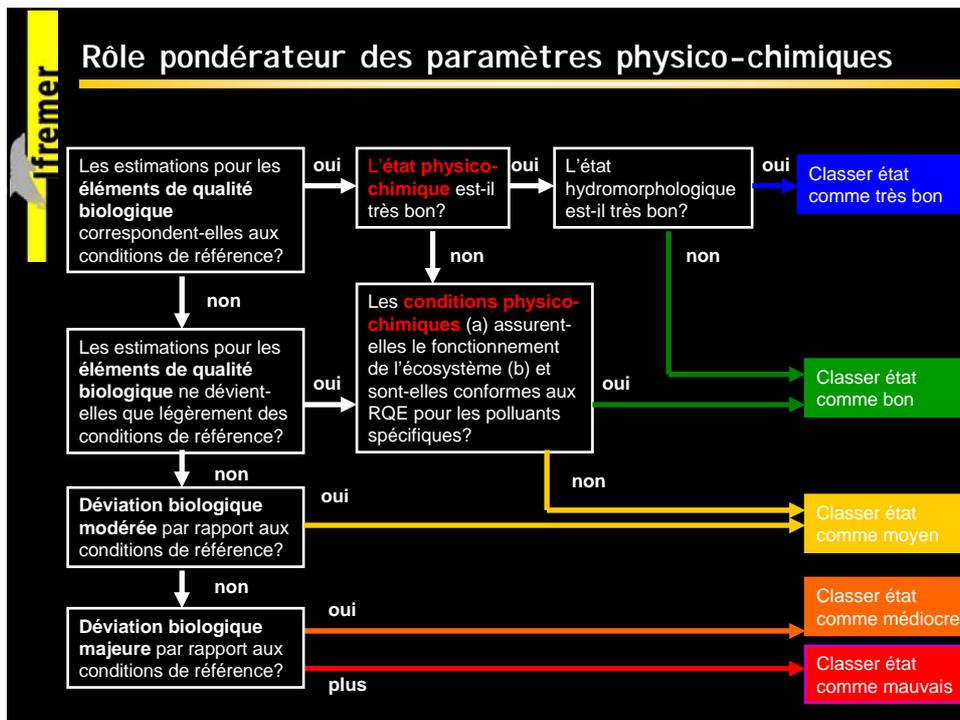
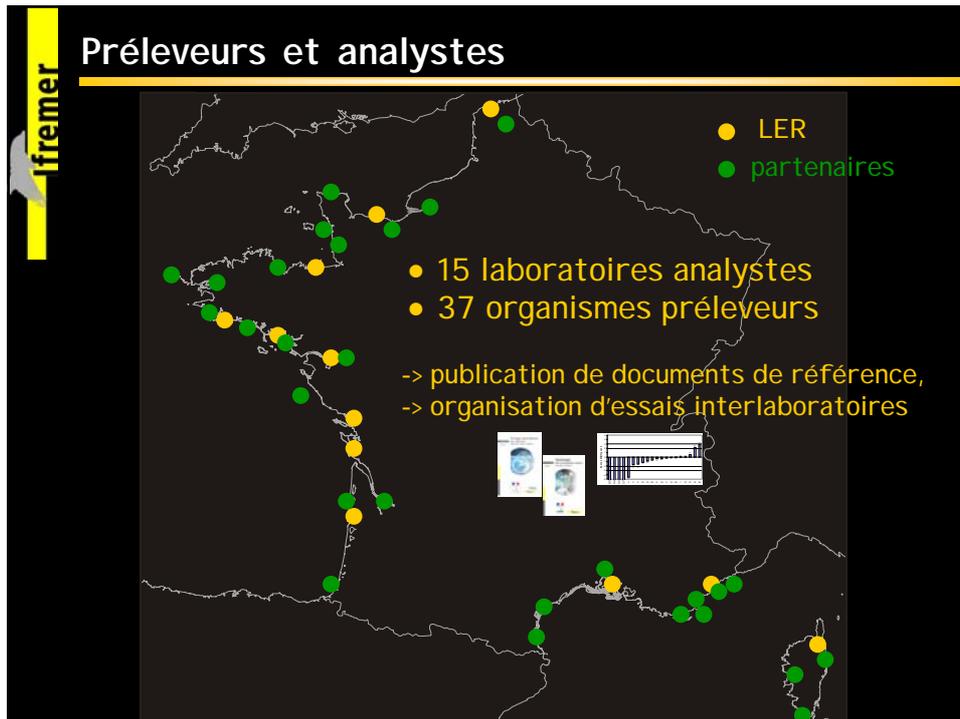
Elément de qualité	Eaux de transition	Eaux côtières
<i>Phytoplancton</i>	<i>6 mois</i>	<i>6 mois</i>
Température	<b>3 mois</b>	<b>3 mois</b>
Salinité	<b>3 mois</b>	/
Transparence	/	/
Bilan d'oxygène	<b>3 mois</b>	<b>3 mois</b>
Nutriments	<b>3 mois</b>	<b>3 mois</b>

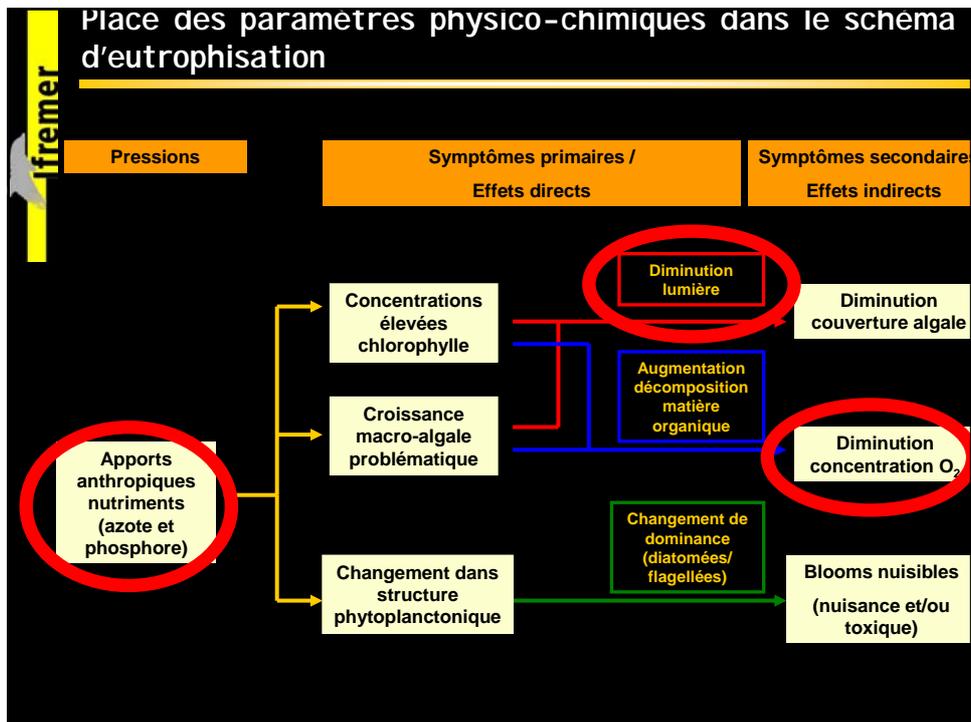
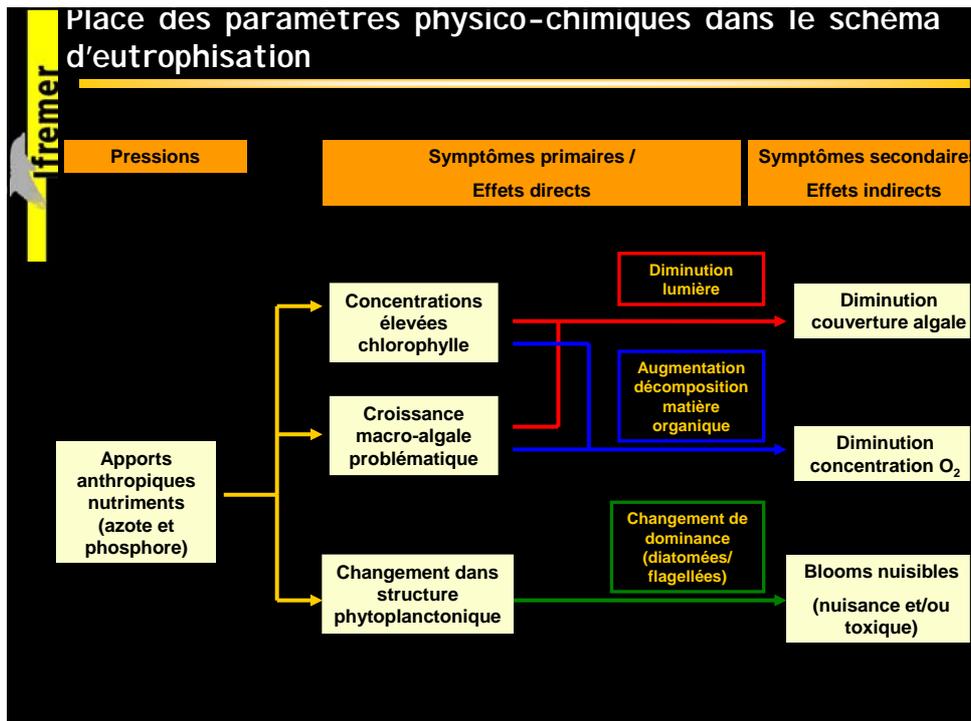
**Fréquence annuelle minimale préconisée par la circulaire**

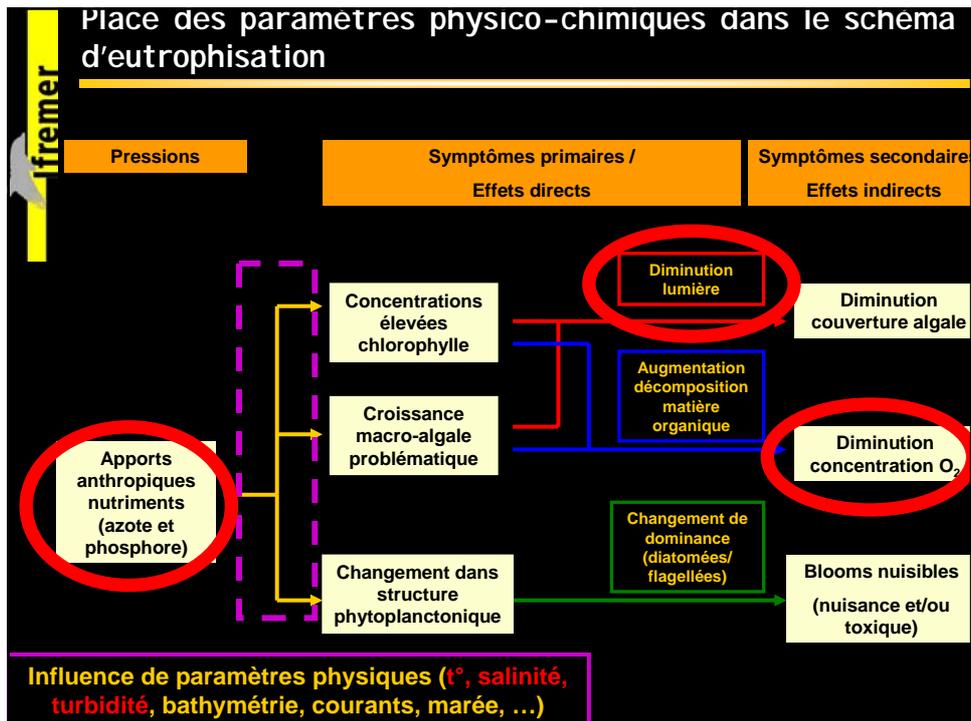
Elément de qualité	Eaux de transition		Eaux côtières	
	Manche / Atlantique	Méditerranée	Manche / Atlantique	Méditerranée
<i>Phytoplancton</i>	<i>8 chloro*</i> <i>12 flores*</i>	<i>3 ou 12 chloro</i> <i>12 flores</i>	<i>8 chloro*</i> <i>12 flores*</i>	<i>12 chloro</i> <i>12 flores</i>
Température Salinité, Turbidité	Mesures effectuées pour toute mesure de phyto, O <sub>2</sub> et nutriments			
Bilan d'oxygène	4 (juin-sept)	3 (juin-août)	4 (juin-sept)	4 (juin-sept)
Nutriments	4 (nov-fév)	3 (juin-août)	4 (nov-fév)	12

*\* Sauf dans ME où non pertinent*









### Indicateur bilan oxygène

			très bon	bon	moyen	médiocre	mauvais
<b>Percentile 10 oxygène dissous (mg/L)</b>							
MEC et MET Mer du Nord MEC et MET Manche – Atlantique MEC Méditerranée	Juin-sept.	1/mois	> 5,0	3 – 5	2 – 3	1 – 2	< 1
MET Méditerranée	Juin-Août	1/mois	> 5,0	3 – 5	2 – 3	1 – 2	< 1

*Seuils MET en étude au CEMAGREF*

## Indicateur bilan oxygène

**Conditions idéales pour détecter les anoxies :**

- en été
- après bloom phytoplanctonique (dégradation de la matière organique respiration/nitrification)
- au fond de la colonne d'eau
- lors de stratification de la colonne d'eau
- dans les zones à faible renouvellement des eaux (lagunes, baies à faible courant résiduel)

$$(\text{CH}_2\text{O})_{106}(\text{NH}_3)_{16}\text{H}_3\text{PO}_4 + 106\text{O}_2 \longrightarrow 106\text{CO}_2 + 106\text{H}_2\text{O} + 16\text{NH}_3 + \text{H}_3\text{PO}_4$$

$$16\text{NH}_3 + 32\text{O}_2 \longrightarrow 16\text{HNO}_3 + 16\text{H}_2\text{O}$$

## Indicateur bilan oxygène

### FRHC09 – Anse de Saint-Vaast-la-Hougue

**Description de la masse d'eau**

Région: IEC manche atlantique 1/20a  
 ME de surveillance: Oui  
 ME de référence: Non  
 ME d'intercalibration: Non  
 ME turbide: Non

**Évaluation de l'élément de qualité**

Oxygène	N	24 (24)
	Indice	7.1
	Grille de l'indice	(1 - 2 - 3 - 5)
	EQR (IC)	(0.85 - 0.83 - 0.91)
	Grille	(0.12 - 0.24 - 0.36 - 0.46)
	Classe	3
	Confiance	100.0-10.00

N: nombre d'observations disponibles (nombre d'observations attendues)  
 Indice: résultat du calcul de la moyenne dans l'unité du paramètre.  
 Grille de lecture de l'indice définissant les 5 classes d'état.  
 EQR: Ecological Quality Ratio, indice ramené sur l'intervalle [0; 1], 0 étant le pire et 1 le meilleur.  
 IC: Intervalle de confiance à 95% de l'EQR.  
 Grille: grille de lecture de l'EQR définissant les 5 classes d'état du pire au meilleur.  
 Classe: état de la masse d'eau au regard de l'EQR.  
 Confiance: probabilité d'appartenance de la masse d'eau à chacune des 5 classes d'état au regard de la masse d'eau, de la meilleure à la pire.

**Commentaire**  
 En dessous de 10 observations disponibles, la pertinence de RC et confiance est discutable.

**Point(s) contributif(s)**

**Oxygène**

Identifiant point	Libellé point	Nombre de mesures	Statut
07015029	St Vaast Sud	12	Supplémentaire
07015031	La Hougue	12	DCE

**Graphique(s)**

- > sur 110 ME désignées pour contrôle de surveillance, seules 39 ont pu être évaluées
- > 2ME ont 1 état inférieur à « bon »
- > seules 7 ME sur 39 ont un nombre de données égal au seuil attendu
- > la confiance et la précision ne peuvent être estimées de façon cohérente du fait du plan d'échantillonnage actuel (18 ou 24 données/ 6 ans)

## Température, salinité, turbidité

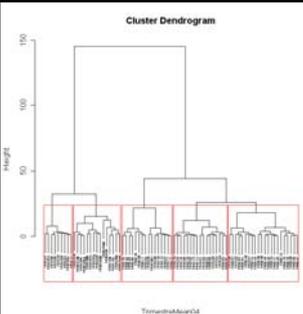
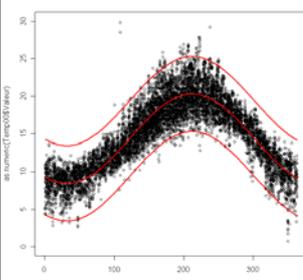
très bon
bon
moyen
médiocre
mauvais

Température, salinité, turbidité		très bon	bon	moyen	médiocre	mauvais
MEC	année			?		

- Représentativité des données ponctuelles pour observation de dessalures ou de rejets d'eau en milieu marin?

## Indicateur température

- Répartition des masses d'eau côtières par une approche de classification hiérarchique ascendante (moyennes et écart-types trimestriels 1980-2007)
  
- Détermination de l'enveloppe sinusoidale 1<sup>er</sup>-3<sup>ème</sup> quartile sur l'année

## Indicateur température

**FRGC28 – Concarneau (large)**

**Description de la masse d'eau**

Ecosype 3  
 NIE de surveillance Oui  
 NIE de référence Non  
 NIE d'intercalibration Oui  
 NIE turbide Non

**Évaluation de l'élément de qualité**

Temp	N	70 (72)
	Indice	0
	Grille de l'indice	(0)
	EQR (IC)	1 (1-1)
	Grille	(0,90)
	Classe	1
	Confiance	100,0

N : nombre d'observations disponibles (nombre d'observations attendues)  
 résultat du calcul de la moyenne dans l'unité du paramètre  
 Grille de lecture de l'indice définissant les 5 classes d'état.  
 EQR : Ecological Quality Ratio, indice ramené sur l'intervalle [0-1], 0 étant le pire et 1 le meilleur.  
 IC : Intervalle de confiance à 90% de l'EQR.  
 Grille : grille de lecture de l'EQR définissant les 5 classes d'état du pire au meilleur.  
 Classe : état de la masse d'eau au regard de l'EQR.  
 Confiance : probabilité d'appartenance de la masse d'eau à chacune des 5 classes d'état au regard de la masse d'eau, de la meilleure à la pire.

**Commentaire**

**Point(s) contributif(s)**

**Température**

Identifiant point	Libellé point	Nombre de mesures	Statut
21041003	Men Du	12	Supplémentaire
21043016	Concarneau large	56	DCE

**Graphique(s)**

Diffusion du rapport de la première évaluation début avril

## Indicateur nutriments

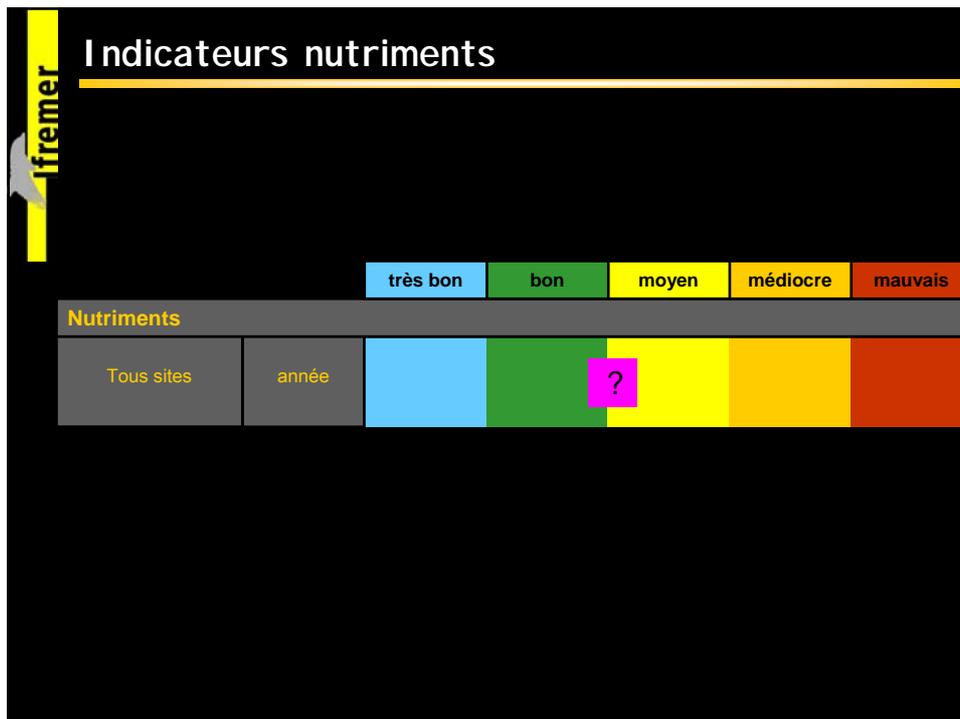
J F M A M J J A S O N D

nutriments  
t° eau  
ensoleillement  
biomasse

**lien difficile à établir entre enrichissement en nutriments et eutrophisation en zone côtière :**

1- déphasage temporel,  
 3- concentration en MES,  
 5- relation salinité-nutriments

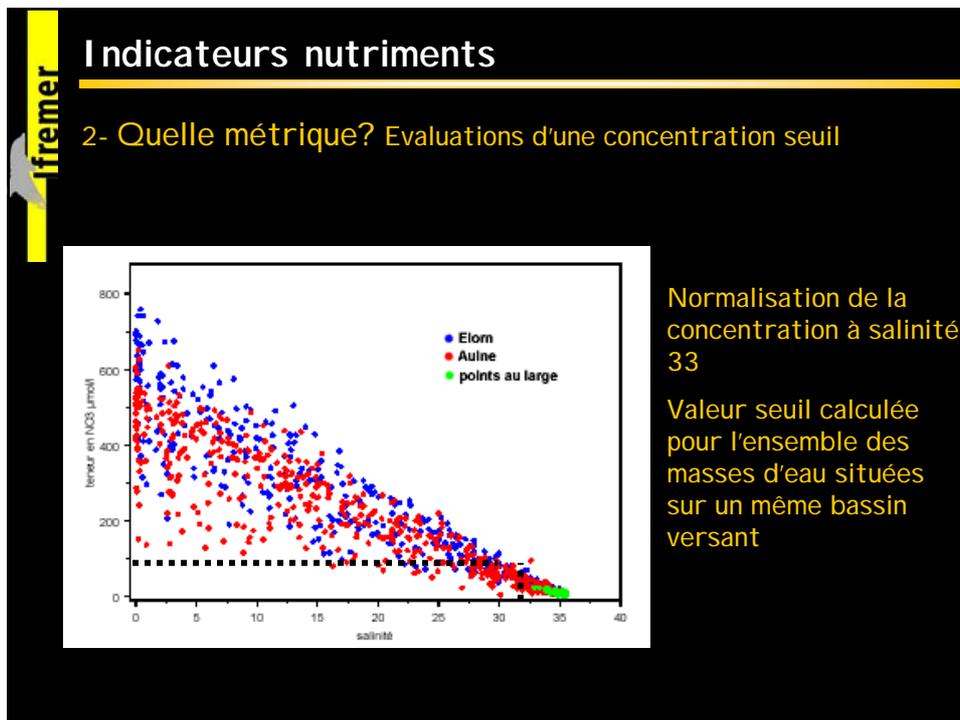
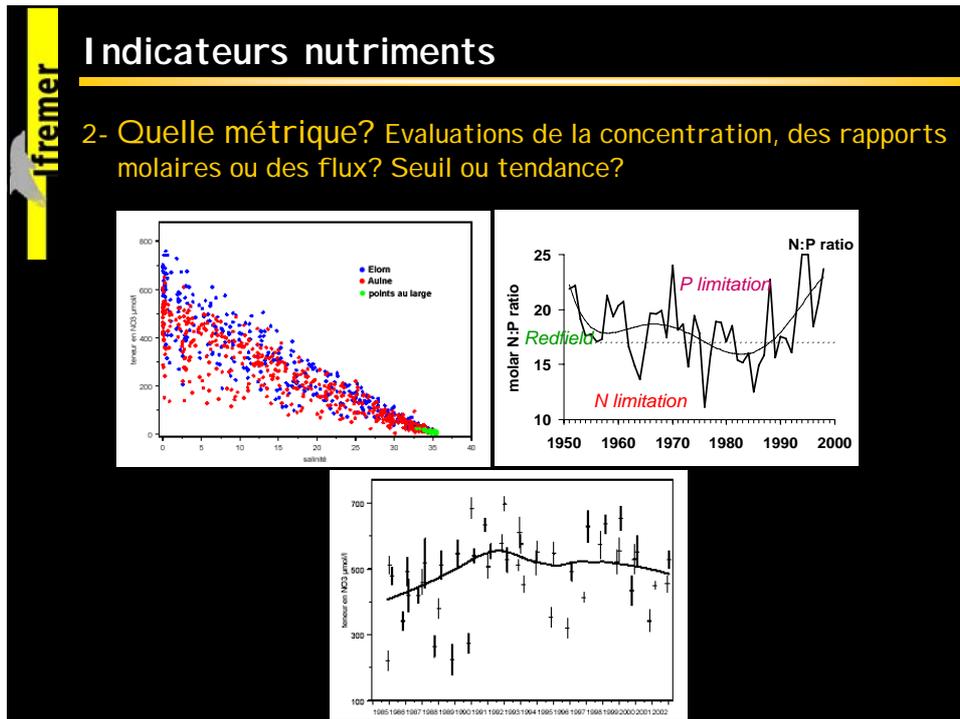
2- hydrodynamisme de la zone,  
 4- nature du sédiment,  
 6- limitation de la croissance phytoplanctonique,

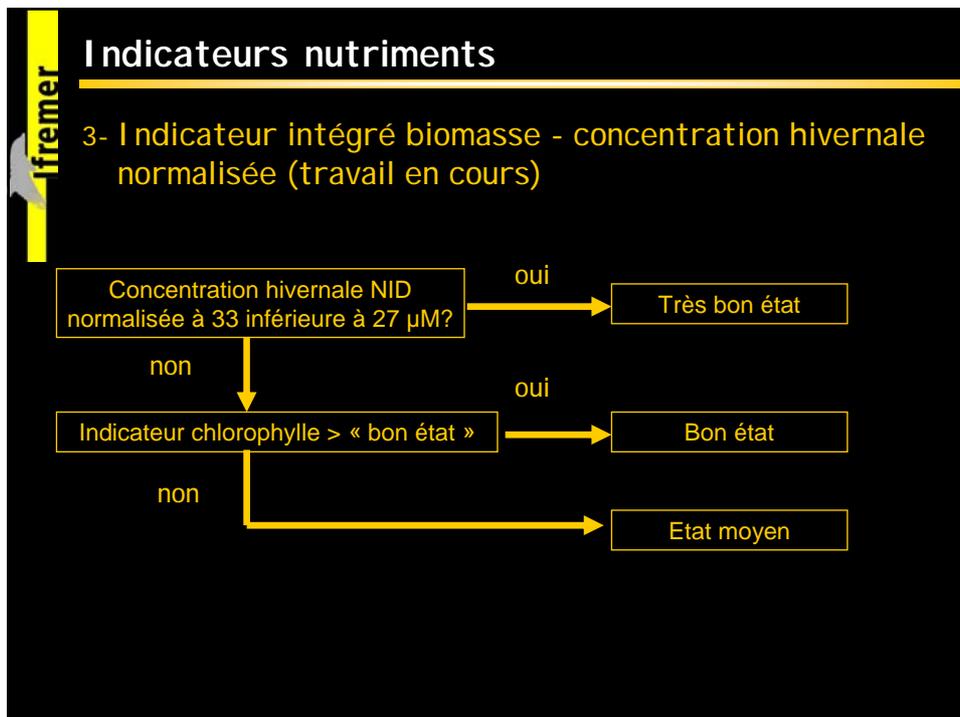
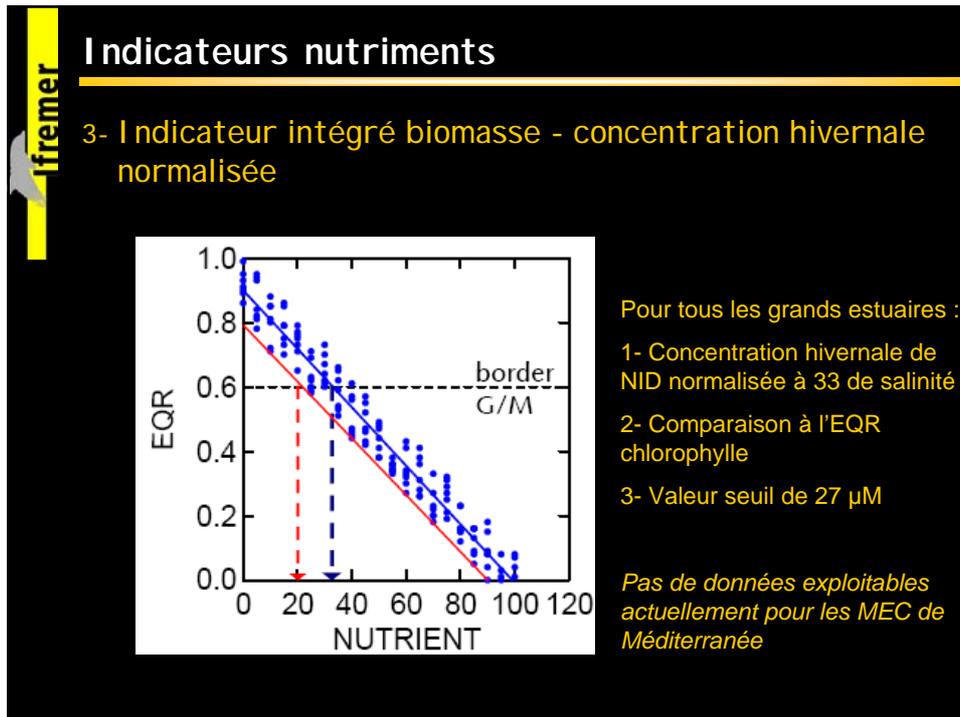


### Indicateurs nutriments

1- Quel(s) nutriment(s) et quelle combinaison?

- NID ( $\text{NO}_3 + \text{NO}_2 + \text{NH}_4$ ),
- $\text{NO}_3$ ,
- $\text{PO}_4$ ,
- PT,
- NT





## Bilan

- Surveillance opérationnelle avec début de la surveillance physico-chimique en Méditerranée en 2009
- Première évaluation des indicateurs oxygène, température et azote inorganique dissous
- Besoin d'intercalibration européenne
- Révision des fréquences et périodes d'échantillonnage pour le prochain plan de gestion?

**L. Felipe Artigas, ULCO**

Caractérisation des événements phytoplanctoniques en zones côtières par cytométrie en flux (CytoSense Benchtop) : premières actions et perspectives

AGENCE DE L'EAU  
OCÉAN-PYRÉNÉES

Projet cofinancé par  
l'Union Européenne - FEDER

**Journées REPHY – IFREMER**  
1<sup>er</sup> au 2 avril 2009

**Caractérisation des événements  
phytoplanctoniques en zones côtières  
par cytométrie en flux (CytoSense) :  
premières actions et perspectives**

*L. Felipe Artigas, Natacha Guiselin, Xavier Mériaux, Laurent Ricquiers, Guillaume Wacquet, Pierre-Alexandre Hébert, Emilie Caillault, Denis Hamad*

Université du Littoral  
Côte d'Opale

USTL

mren

L.A.S.L.  
Laboratoire d'Analyse du  
Signal du Littoral (EA 2600)

LOG  
Laboratoire d'Océanologie et de  
Générations - UMR LOG 818

## PLAN

- Introduction : cytométrie en flux et phytoplancton
- Etude à haute fréquence du phytoplancton par cytométrie en flux : de la méthode manuelle vers une méthode semi-automatisée (fin de thèse N. Guiselin)
- Méthode manuelle pour le suivi du nano- et picoplancton (Master de L. Ricquiers et thèse de M. Thyssen)
- Vers une classification automatisée des signaux cytométriques (Master de G. Wacquet et début de thèse)
- Perspectives de l'automatisation : prise en compte combinée des attributs et des signaux (Caillault et al., 2009)
- Perspectives et collaborations en cours et prévues

## La cytométrie en flux

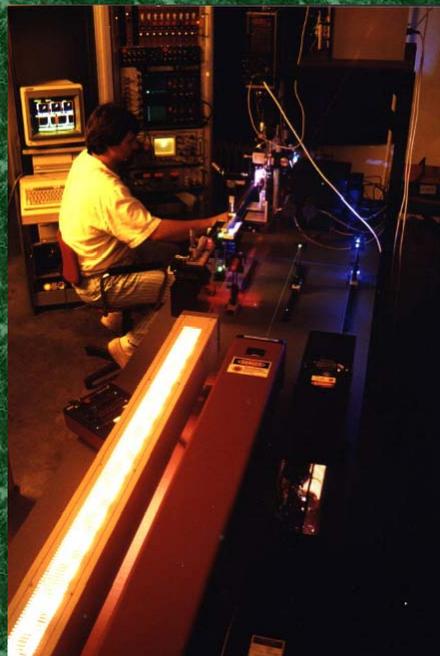
- Outil de mesures permettant d'obtenir certaines propriétés physiques des particules par un écoulement à grande vitesse devant le faisceau d'un laser
- Analyse de la diffusion et de la fluorescence des particules afin de classer la population suivant plusieurs critères ou combinaison de critères
- Les premiers cytomètres en flux ont été inventés dans les années 1950.

3/28

Optical Plankton Analyser : premier prototype cytométrique dédié à l'analyse du phytoplancton

Caractéristiques :

- large spectre de taille des particules
- réponse linéaire dans ce spectre
- liquide gaine entraîné à plus faible vitesse
- pompage volumétrique



**L. Felipe Artigas, ULCO**

Caractérisation des événements phytoplanctoniques en zones côtières par cytométrie en flux (CytoSense Benchtop) : premières actions et perspectives

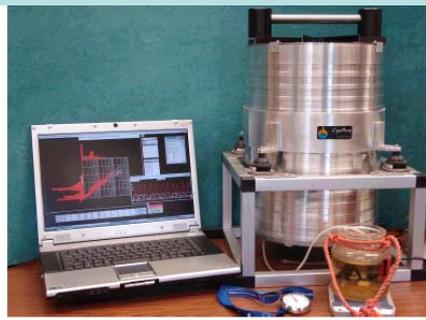


EurOPA, son successeur avec à la fois capacité de scanning et de prise et analysed' image (Netherlands Rijkswaterstaat)

Fluorimètre médical standard, avec possibilité de tri cellulaire

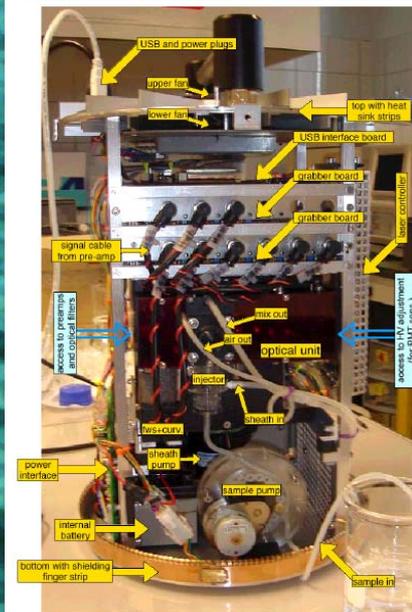


**Cytomètre en flux:  
CytoSense Benchtop (CytoBuoy BV, NL)**



- Analyse toutes les 10 min
- Jusqu'à 5 mL
- Particules de 1 à 5000 µm

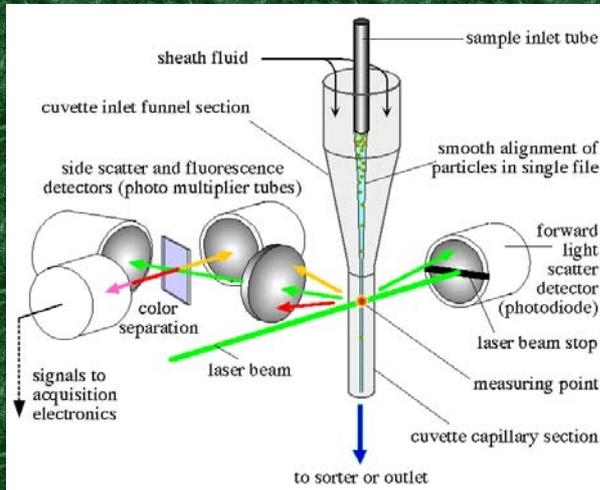
*CytoBuoy*  
flow cytometers for the environment



## L. Felipe Artigas, ULCO

Caractérisation des événements phytoplanctoniques en zones côtières par cytométrie en flux (CytoSense Benchtop) : premières actions et perspectives

### PRINCIPE GENERAL DE LA CYTOMETRIE EN FLUX



Analyse et comptage de particules individuelles dans un fluide d'entraînement. Rapide et une par une.

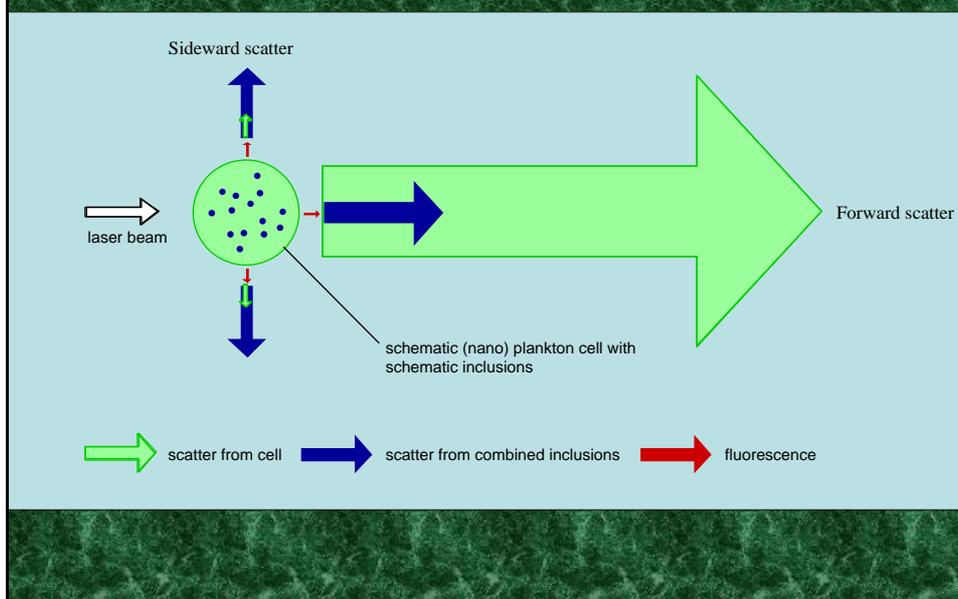
Diffusion et fluorescence. Les cellules sont acheminées à travers un faisceau laser à grande vitesse.

Les signaux optiques détectés à chaque passage de la particule sont digitalisés et représentés en plusieurs dimensions (corrélations).

Si dispositif de tri associé, alors possibilité de tri selon les propriétés optiques.

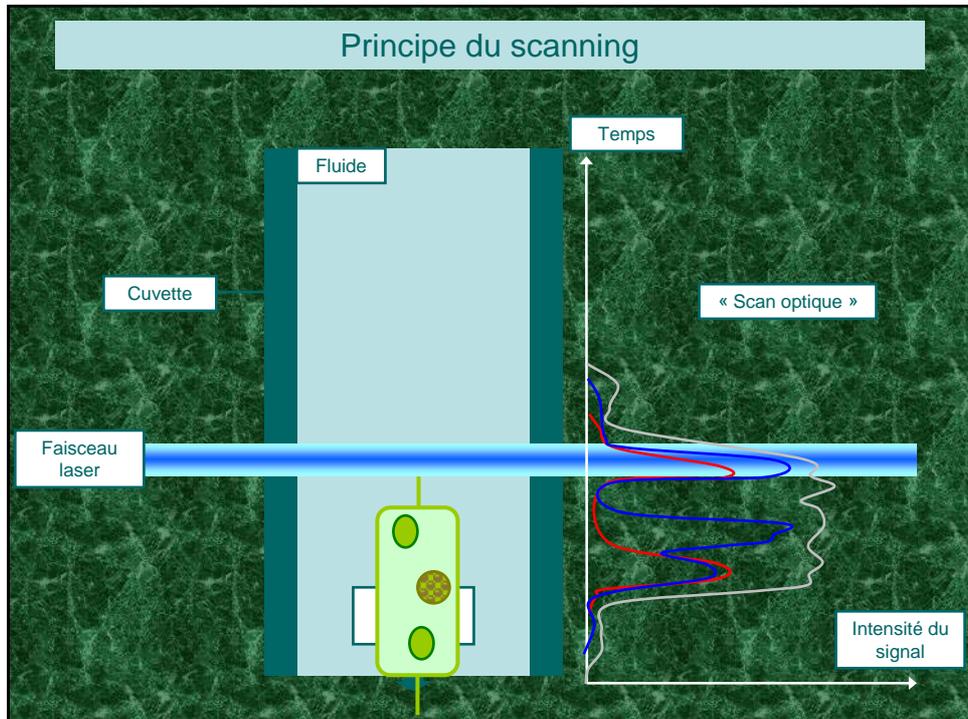
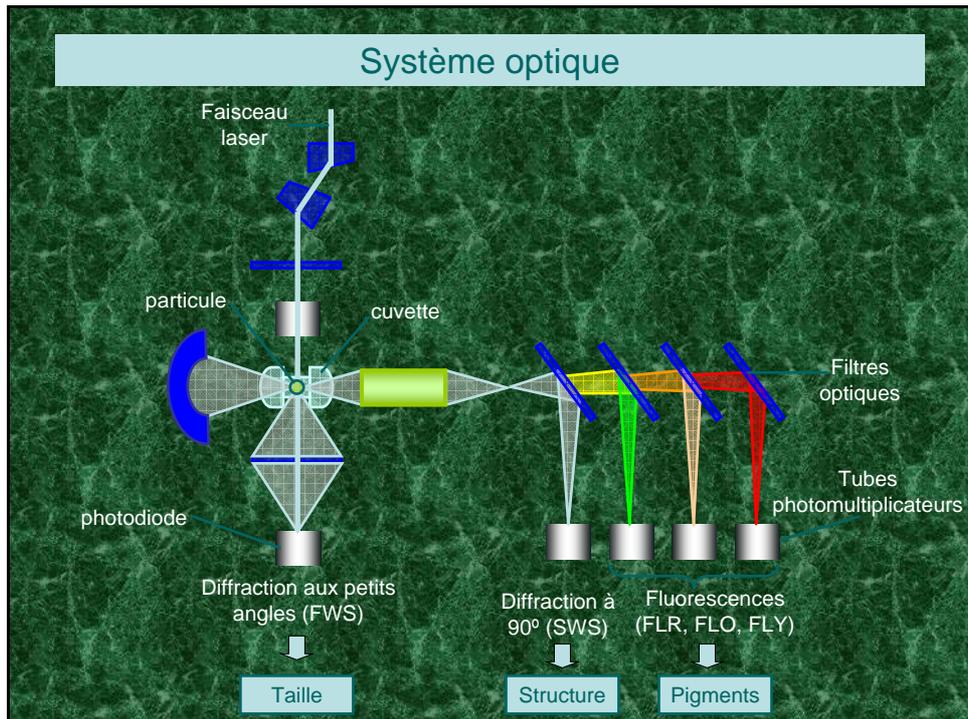
Possibilité d'y associer une caméra pour une prise et analyse d'images.

### INTENSITE RELATIVE DES PARAMETRES MESURES



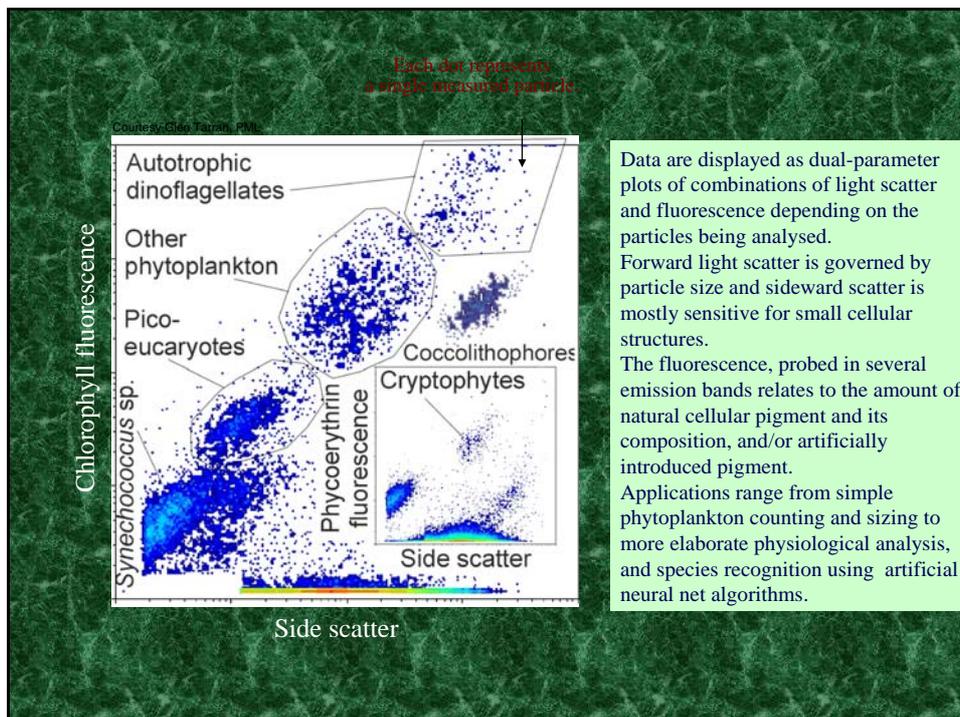
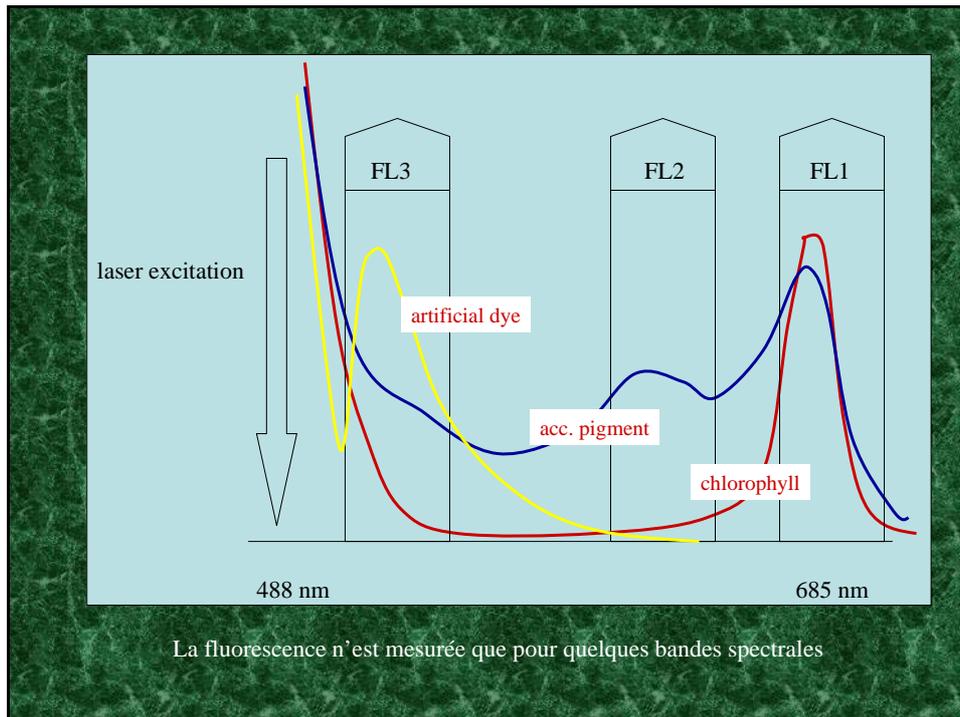
**L. Felipe Artigas, ULCO**

Caractérisation des événements phytoplanctoniques en zones côtières par cytométrie en flux (CytoSense Benchtop) : premières actions et perspectives



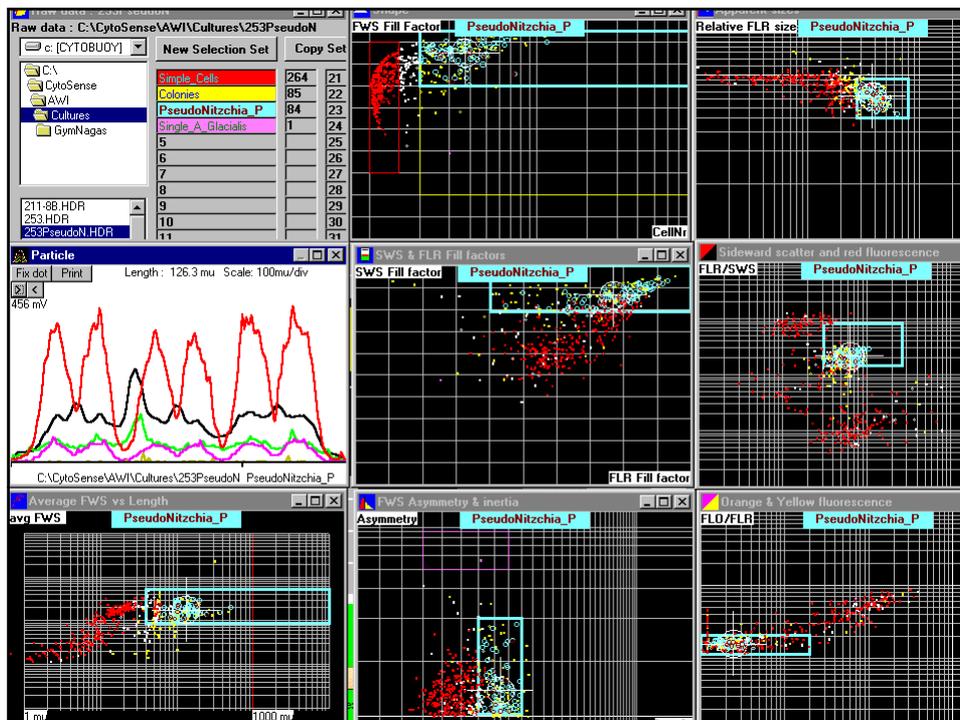
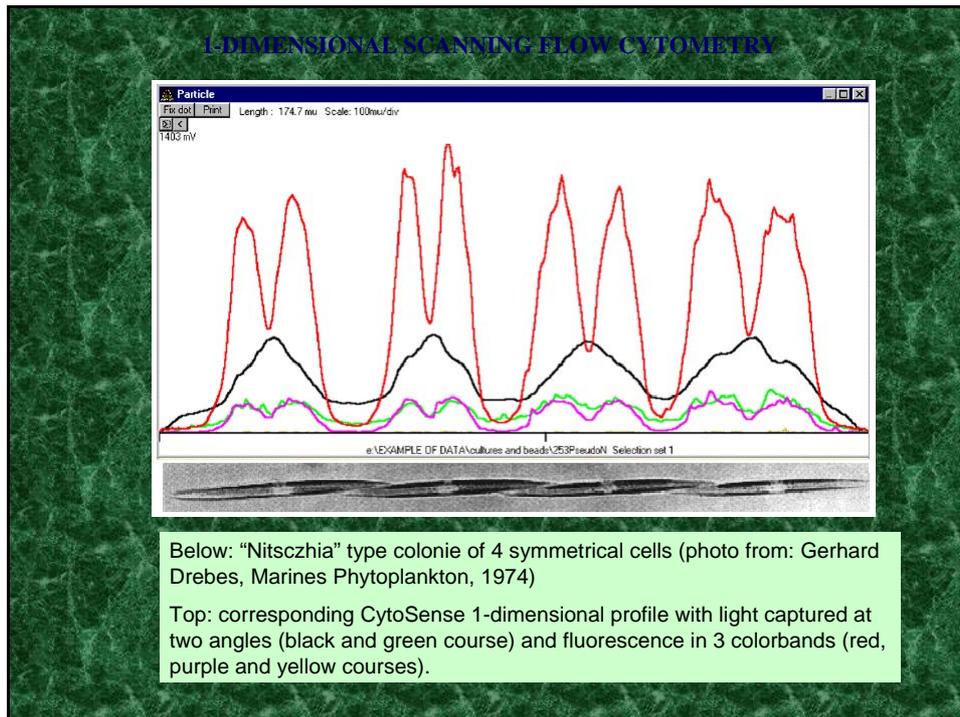
## L. Felipe Artigas, ULCO

Caractérisation des événements phytoplanctoniques en zones côtières par cytométrie en flux (CytoSense Benchtop) : premières actions et perspectives



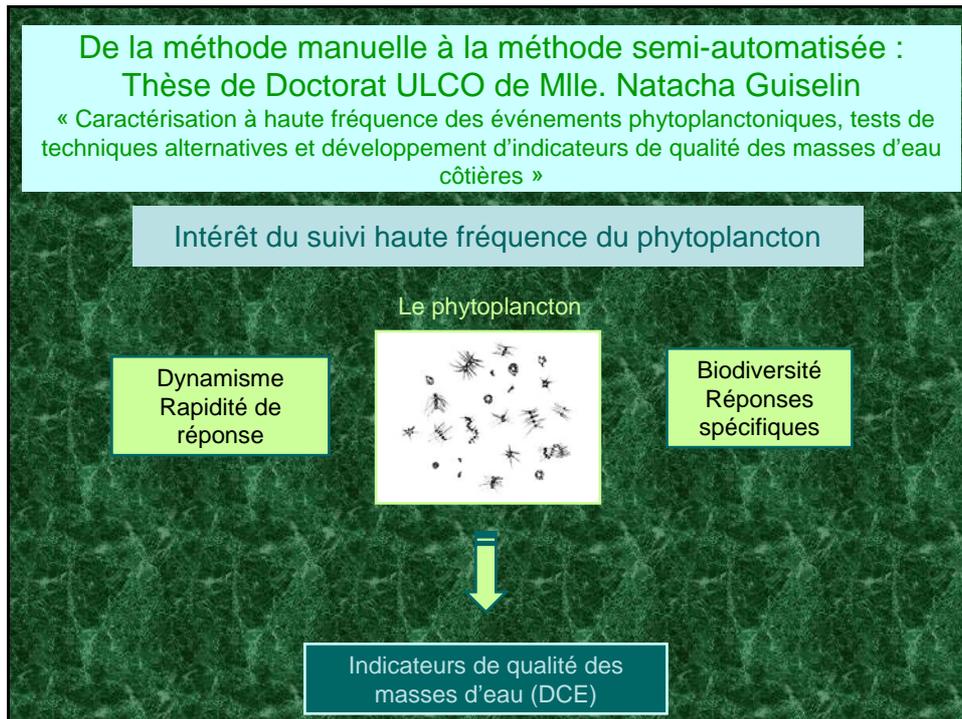
## L. Felipe Artigas, ULCO

Caractérisation des événements phytoplanctoniques en zones côtières par cytométrie en flux (CytoSense Benchtop) : premières actions et perspectives



**L. Felipe Artigas, ULCO**

Caractérisation des événements phytoplanctoniques en zones côtières par cytométrie en flux (CytoSense Benchtop) : premières actions et perspectives



**Intérêt du suivi haute fréquence du phytoplancton**

Forme

Diversité élevée

Mode de vie

Taille

Croissance

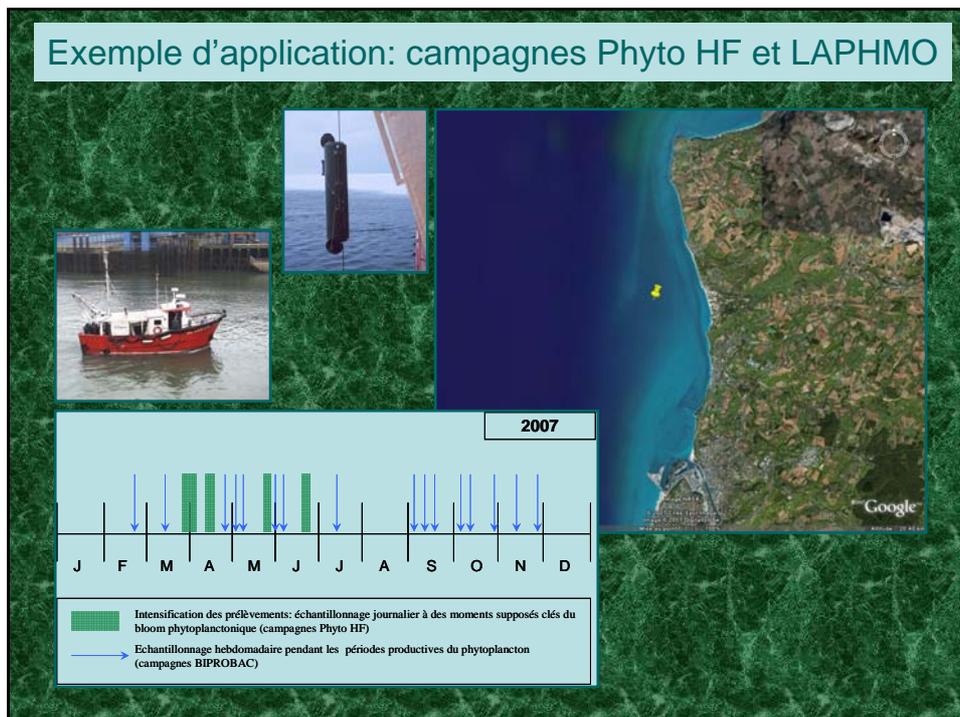
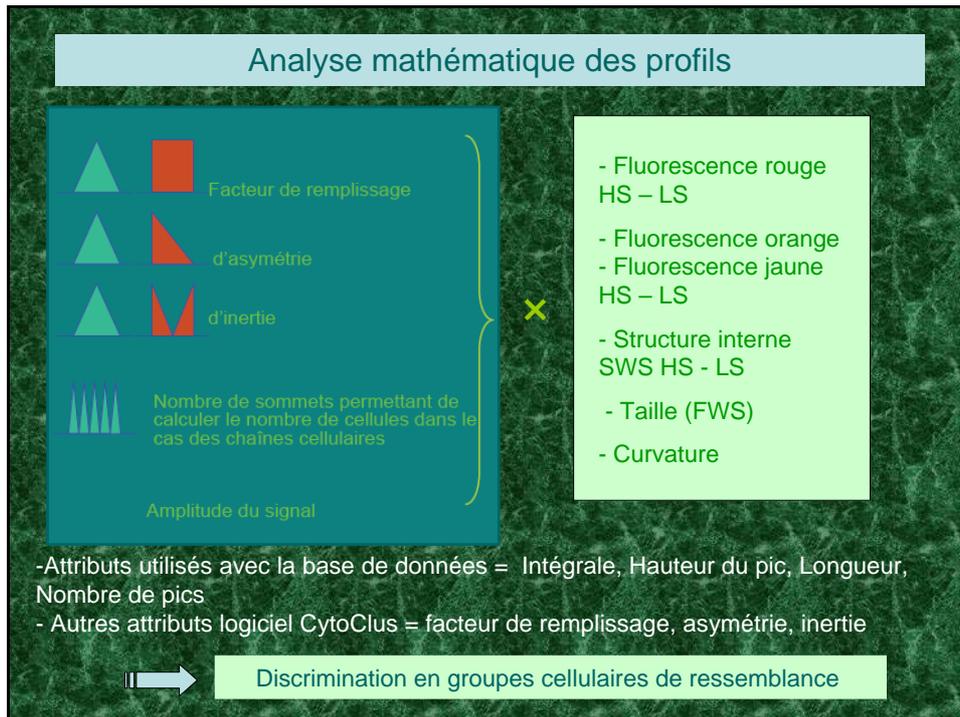
Division (Common Name)	Approx. No. of Living Species	Percent of Species Marine	General Size and Structure	Photosynthetic Pigments	Storage Products	Habit
Cyanobacteria (blue-green algae)	200	~75	Unicellular, procaryotic, nonflagellated, microscopic	Chlorophyll a Carotenes Phycobillins	Starch	Mostly benthic
Chrysophyta (golden-brown algae)	650	~20	Unicellular, often flagellated, microscopic	Chlorophyll a, c Xanthophylls Carotenes	Chrysolaminarin Oils	Planktonic and benthic
(coccolithophores)	200	96				
(silicoflagellates)	?	Most				
(diatoms)	6,000-10,000	30-50				
Dinophyta (dinophytes)	1,100+	93	Unicellular or colonial, flagellated, microscopic	Chlorophyll a, c Xanthophylls Carotenes	Starch Fats Oils	Planktonic

} **Diversité spécifique**

} **Complexité d'analyse à haute fréquence**  
 comptages microscopiques=méthodes traditionnelles non adaptées à haute fréquence

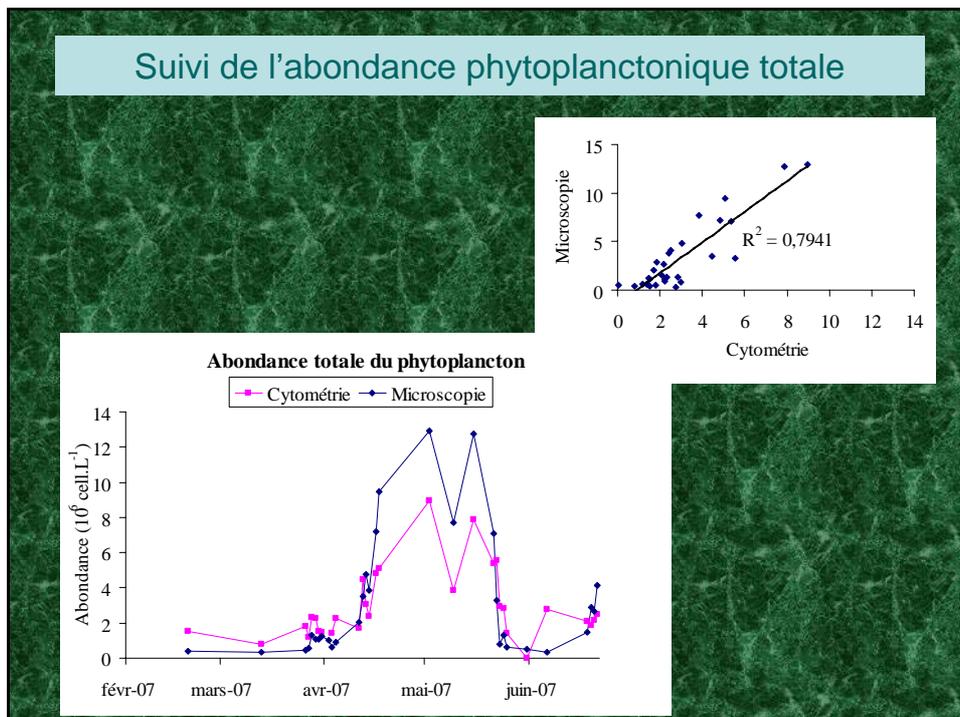
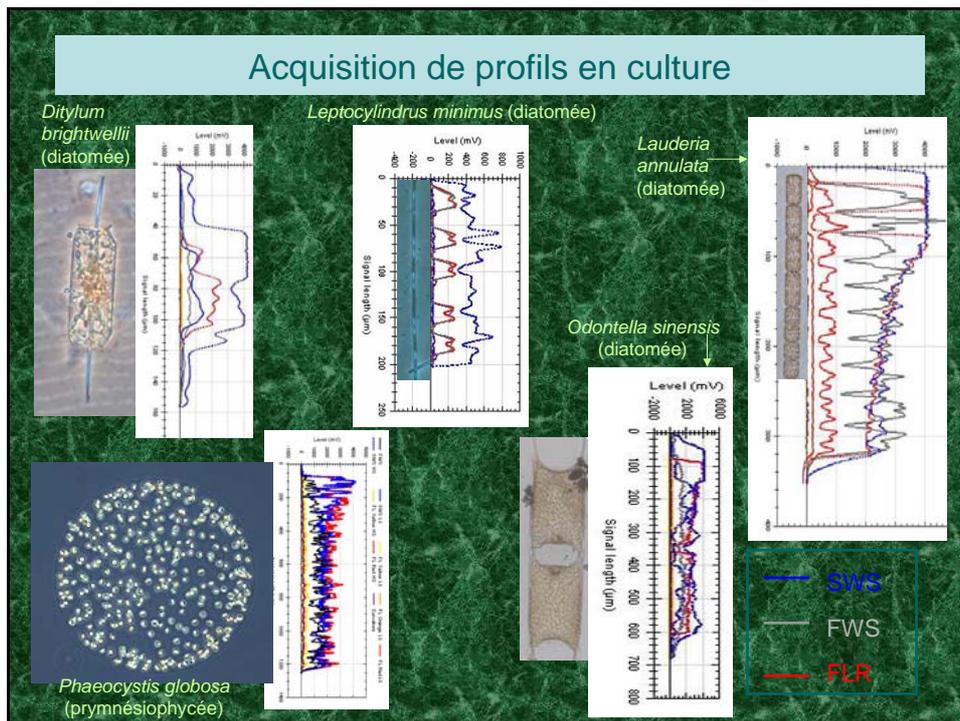
## L. Felipe Artigas, ULCO

Caractérisation des événements phytoplanctoniques en zones côtières par cytométrie en flux (CytoSense Benchtop) : premières actions et perspectives

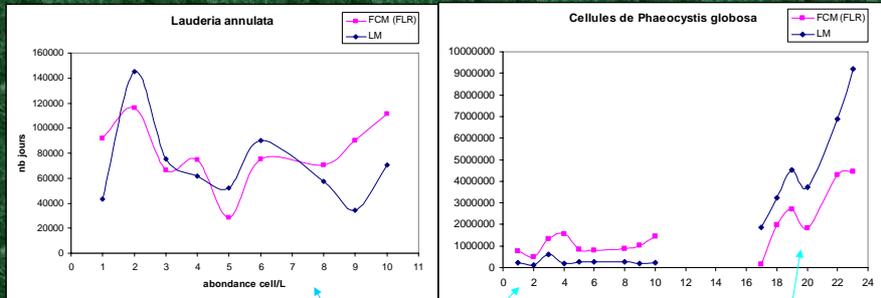


## L. Felipe Artigas, ULCO

Caractérisation des événements phytoplanctoniques en zones côtières par cytométrie en flux (CytoSense Benchtop) : premières actions et perspectives



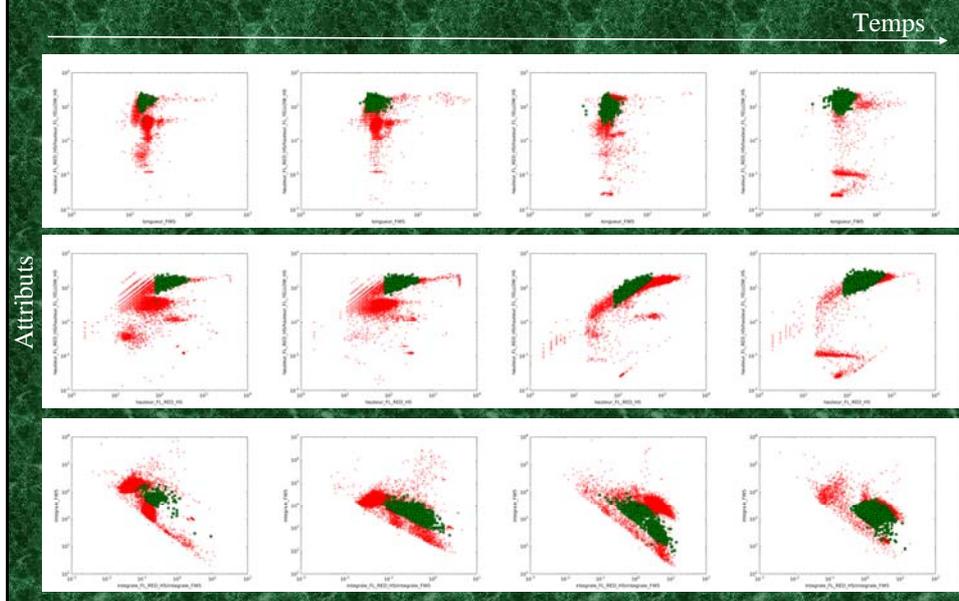
### Les premiers résultats : suivi spécifique



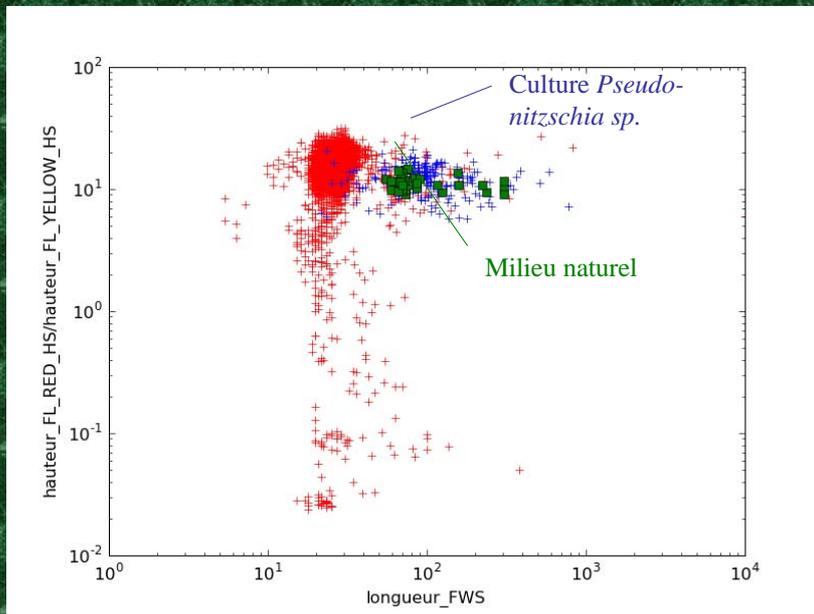
Pré-bloom

Phase exponentielle du bloom

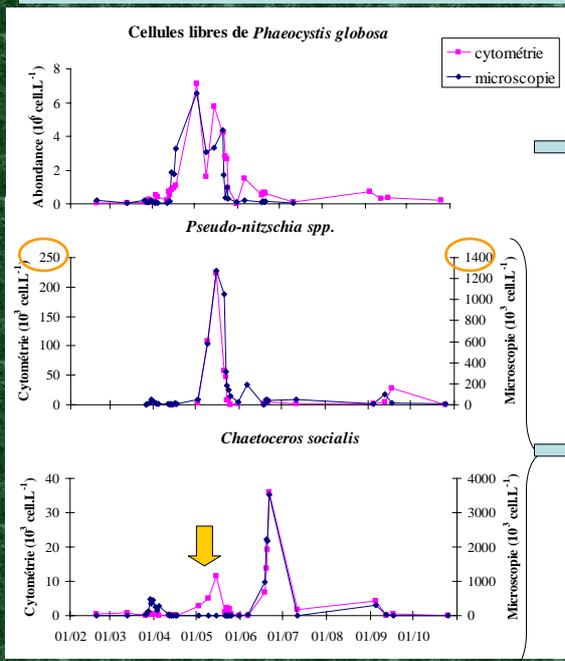
### Suivi temporel de groupes : approche non-supervisée (utilisation de différentes combinaisons d'attributs)



Utilisation des signaux obtenus à partir de cultures : outils pour sélectionner les critères discriminants



Suivi de l'abondance spécifique



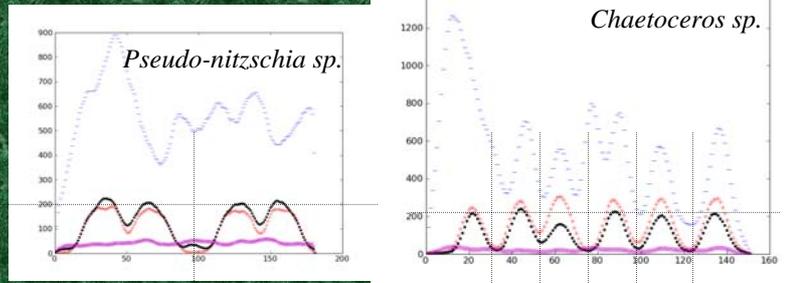
Bonne estimation de l'abondance car cellules solitaires

Evolution similaire mais problème d'estimation de l'abondance car :

- cellules en colonie
- espèces aux même propriétés optiques

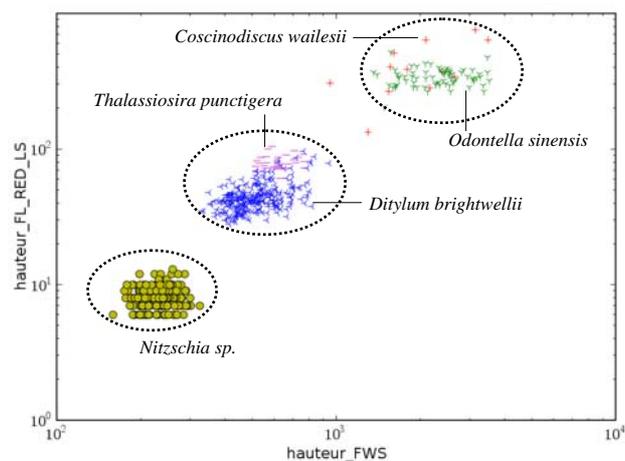
### Suivi de l'abondance spécifique

Niveau d'attribut?



Nombre de cellules ?

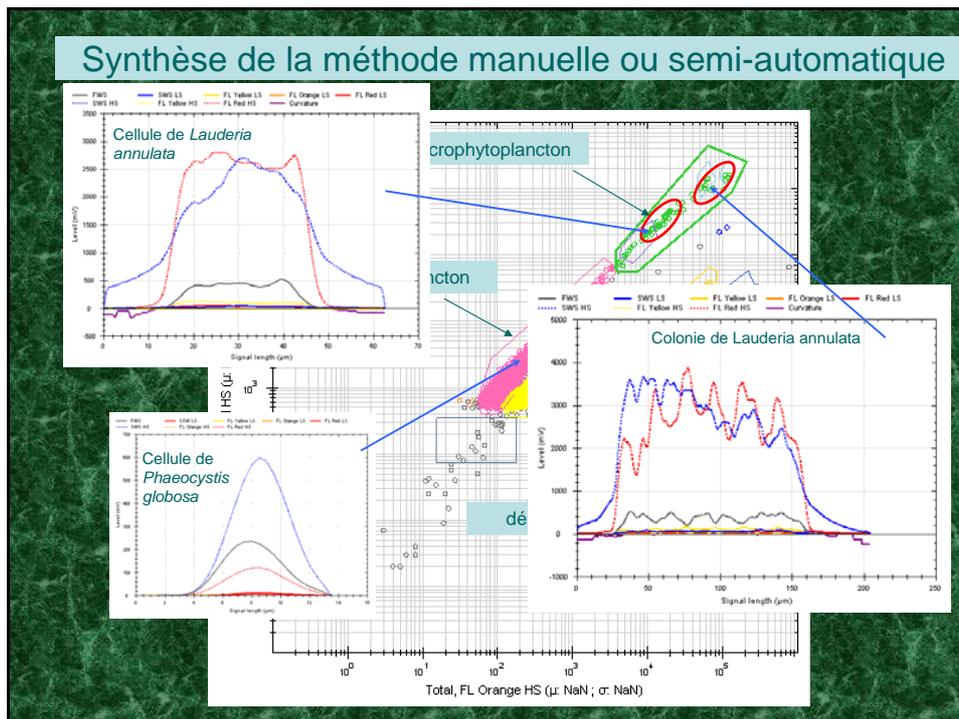
### Suivi de l'abondance spécifique : groupes fonctionnels



Définition de groupes fonctionnels d'espèces en fonction de leurs propriétés optiques (fluorescence des pigments, contenu cellulaire, taille)

## L. Felipe Artigas, ULCO

Caractérisation des événements phytoplanctoniques en zones côtières par cytométrie en flux (CytoSense Benchtop) : premières actions et perspectives



### Méthode manuelle et semi-automatique pour le suivi du nano- et picoplancton

Master 2 BECM USTL-ULCO Laurent Ricquiers (2008)

1) Assurer la mise au point méthodologique permettant, à l'aide du CytoSense, de caractériser et d'énumérer :

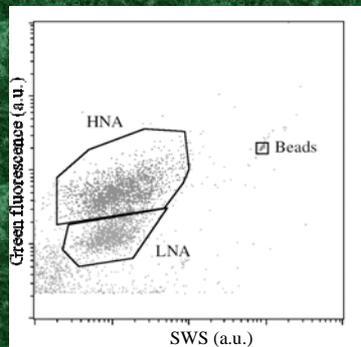
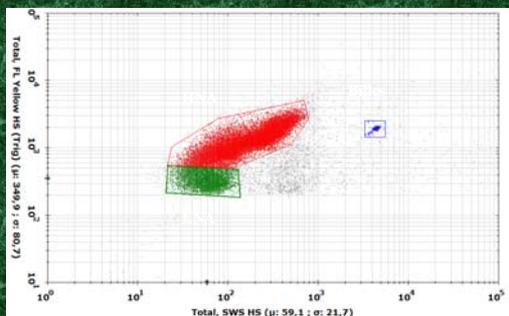
- les bactéries hétérotrophes (marquage avec fluorochrome)
- les cellules phototrophes inférieures à 50µm

2) Comprendre la dynamique de ces groupes en fonction des conditions environnementales au travers:

-d'un suivi à échelle journalière en milieu naturel pendant la phase de croissance de l'efflorescence phytoplanctonique

-d'un suivi à échelle journalière en microcosmes, simulant la dégradation du bloom de *Phaeocystis globosa*

**Caractérisation des clusters bactériens:**



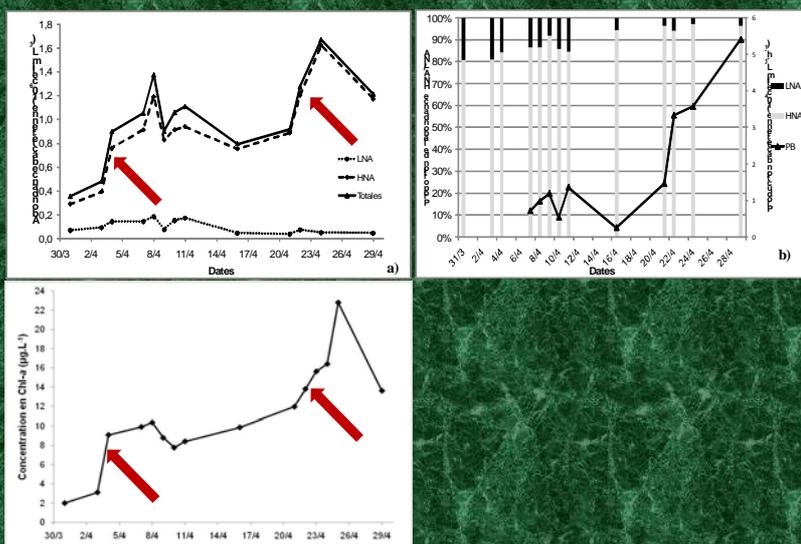
HNA: « High Nucleic Acid »  
 LNA: « Low Nucleic Acid »  
 Totale=HNA+LNA

Servais *et al.*, 2003

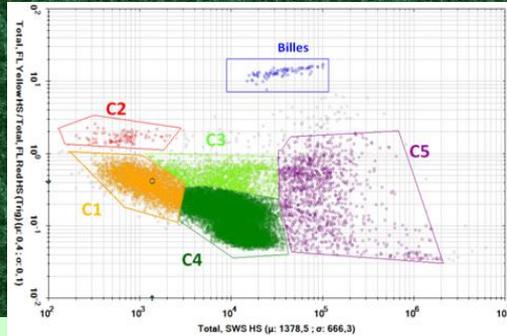


Comparaisons des comptages bactériens totaux entre 2 méthodes:  
 FCM et EFM (Porter & Feig, 1980) sur l'ensemble des données  
 R1+microcosmes

**Suivi de l'abondance bactérienne totale, des HNA et LNA in-situ:**



**Description des clusters nano-autotrophes:**



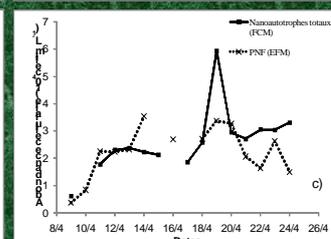
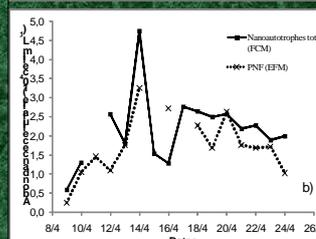
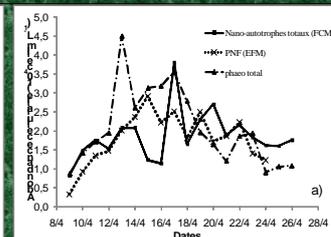
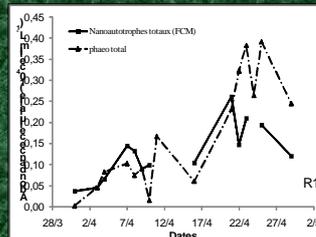
Moyenne ± Déviation standard	Longueur FWS (µm)	Total FWS	Total SWS	Total FLY	Total FLR	FLR/FLY	Abondance (cell.ml <sup>-1</sup> )
C1	5.00±0.81	5087±1198	6322±1271	452±176	1037±249	2.54±0.12	1260±652
C2	6.09±3.82	268±127	517±178	1181±368	645±215	0.55±0.19	278±337
C3	11.43±13.15	8651±5308	12906±8291	869±633	12806±9089	1.48±0.02	12502±7762
C4	6.22±6.00	1825±1857	19909±2278	445±478	1691±1360	4.79±0.48	9389±16633
C5	34.91±18.44	74833±38313	160611±72391	7634±5235	58744±37791	8.42±0.12	2035±2668

**Validation des comptages:**

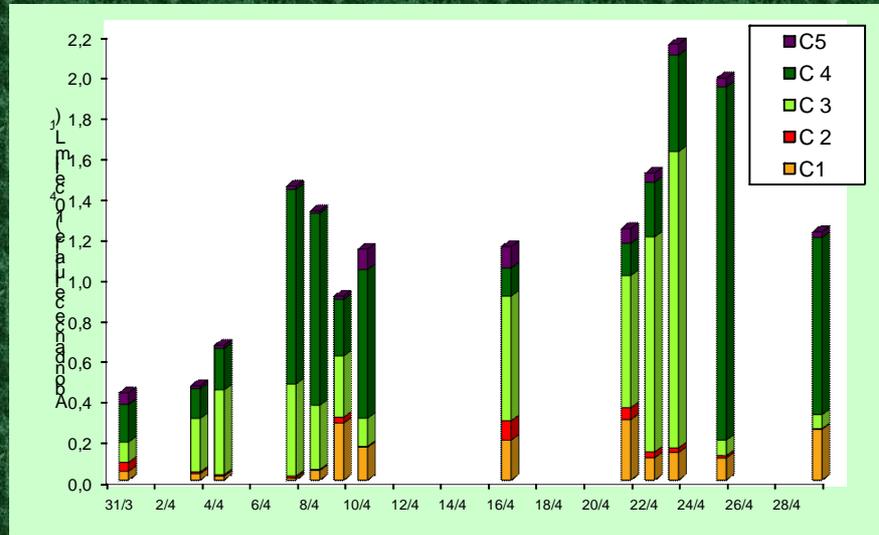
Nano-autotrophes totaux (FCM) = C1 + C2 + C3 + C4

Tests de comparaisons de distribution W-M-W

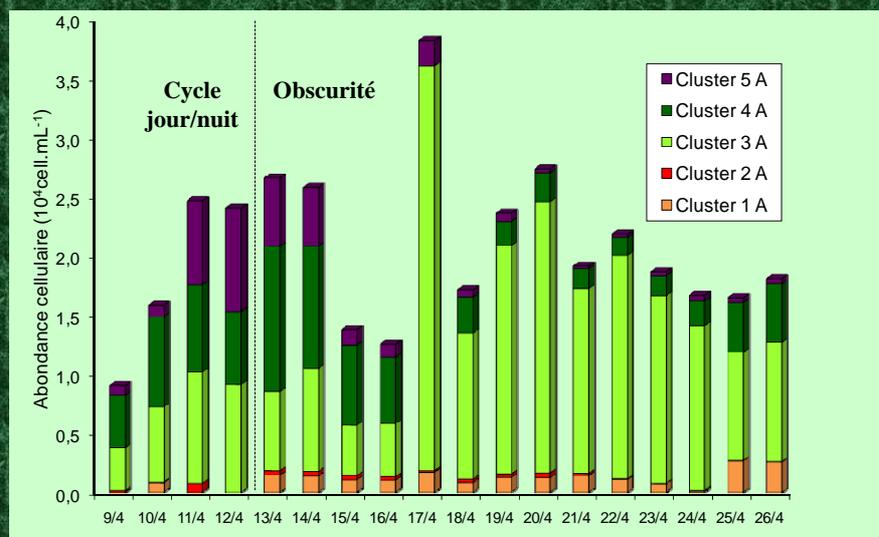
- R1:**  
-Nano-auto (FCM)/ Phaeo libre totale  
→ Différence significative
- Microcosmes:**  
-Nano-auto (FCM)/ Phaeo libre totale  
→ Différence significative (n=18, p<0.05)
- Nano-auto (FCM)/ PNF (EFM)  
→ Pas de différence significative dans le bac B (n=16, p>0.05)



**Succession des clusters autotrophes en milieu naturel :**

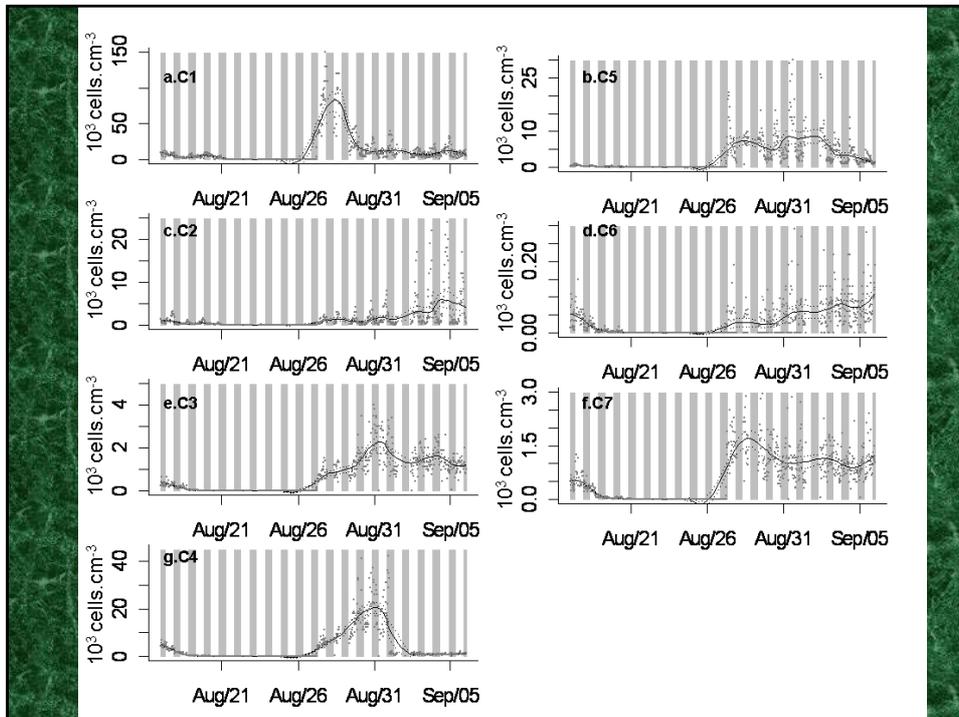
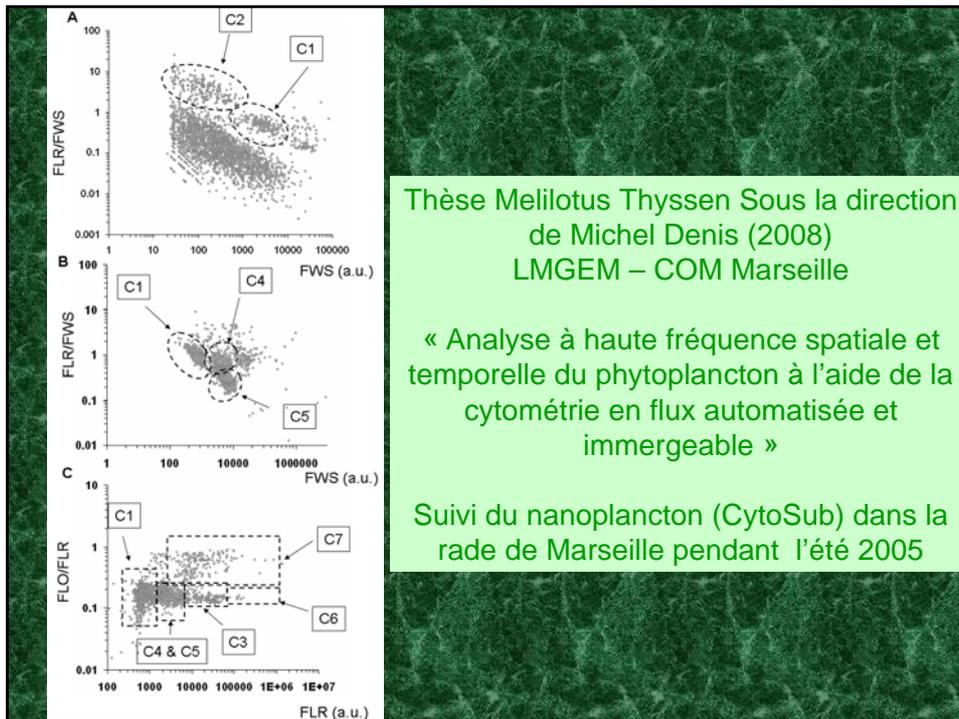


**Succession des clusters phototrophes en microcosme:**



## L. Felipe Artigas, ULCO

Caractérisation des événements phytoplanctoniques en zones côtières par cytométrie en flux (CytoSense Benchtop) : premières actions et perspectives



## Vers la classification automatique des signaux issus de mesures cytométriques : Master INS3I ULCO thèse de Doctorat ULCO en cours de Guillaume Wacquet (2008 - )

### Problématique

- Identification et comptage des espèces de phytoplancton
- Moyen : analyse de signaux issus du cytomètre

### Aujourd'hui :

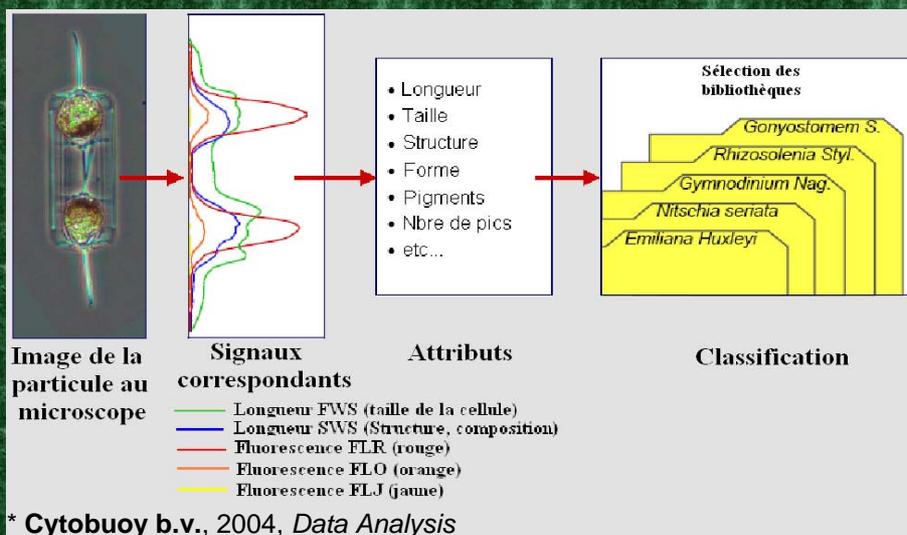
- Comptage par identification visuelle du phytoplancton effectués au moyen d'un microscope optique à inversion ou à épifluorescence
- Faible nombre d'expérimentations (techniques et expertise longues à acquérir)

### Objectifs à long terme :

- Gagner du temps
- Classification automatique des espèces connues
- Détection de nouvelles espèces
- Augmenter la fréquence d'échantillonnage des signaux cytométriques

37

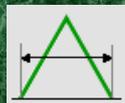
## Résultats obtenus



## Présentation succincte de la base de données

### Base de données ( UMR LOG ) :

- 9 espèces différentes possédant 300 individus chacune
- 9 signaux mesurés :
  - FWS (Forward Scatter) : Diffusion à petit angle
  - SWS (Side Scatter) : Diffusion à 90° (haute et basse sensibilité)
  - FLY : Fluorescence Jaune (haute et basse sensibilité)
  - FLO : Fluorescence Orange (basse sensibilité)
  - FLR : Fluorescence Rouge (basse et haute sensibilité)
  - CUR : Curvature (degré « d'arrondissement » de la cellule)
- Attributs calculés sur chacun des signaux :



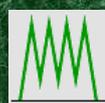
Longueur



Hauteur



Intégrale



Nombre de pics

39

## Pré-traitement des données

### Quatre étapes :

- Remplacement des valeurs aberrantes (erreurs ou absences de mesures, ici « 9999 ») par la moyenne de l'attribut concerné.
- Normalisation des attributs (moyenne nulle, variance = 1)

$$X_{n_{ij}} = \frac{X_{ij} - \overline{X_j}}{\sigma_j}$$

$X_{n_{ij}}$  : Valeur normalisée

$X_{ij}$  : Valeur d'origine

$\overline{X_j}$  : Moyenne de l'attribut

$\sigma_j$  : Ecart type de l'attribut

- Équilibre dans la base de données (nombre d'individus égal pour chaque espèce)
- Sélection des attributs pertinents (élimination des attributs redondants) grâce à l'Analyse en Composantes Principales (ACP)

40  
40/28

## Bilan du stage de Master de G. Wacquet

### Analyse en Composantes Principales

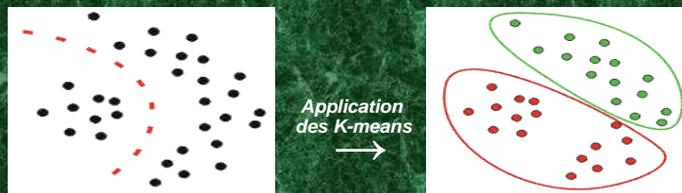
Suppression des attributs redondants  
Interprétation des axes difficile

### Classification supervisée → ~ 98%

Résultats très satisfaisants → Ajout d'attributs inutile  
Suffisent pour discriminer les espèces

### Classification non supervisée → ~ 60%

Confusions entre espèces au niveau morphologique  
Limites K-means → Formes des classes convexes



## Début de thèse de G. Wacquet

- **Classification semi-supervisée**  
Ne pas travailler totalement en non-supervisé (inconnu)  
Apport de connaissances *a priori*
- **Mélange de densités de probabilités**  
Étudier la forme réelle des différentes classes
- **Initialisation des centres des K-means**  
Initialisation des coordonnées des centres par leurs valeurs réelles  
Regroupement des classes non séparables par K-means
- **Cellules seules ou en colonie**  
Analyse des résultats de classification selon que les cellules soient seules ou en colonie

## Spectral clustering

- Méthode récente possédant un nombre important de variantes

[Jianbo Shi, Jitendra Malik, 2000, *Normalized Cuts and Image Segmentation*]

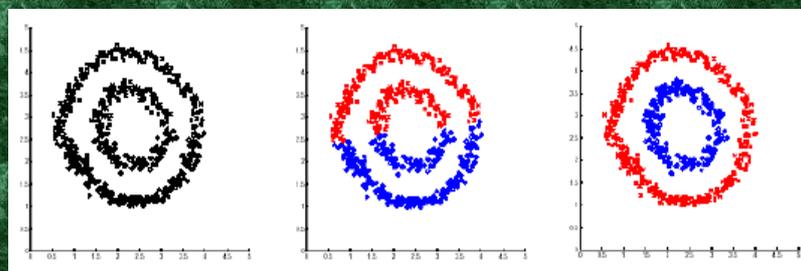
[Andrew Ng, Michael Jordan, Yair Weiss, 2003, *On Spectral Clustering : Analysis and an algorithm*]

[Deepak Verma, Marina Meila, 2003, *A Comparison of Spectral Clustering Algorithms*]

- Méthode fondée sur l'utilisation des vecteurs propres principaux d'une matrice de similarités afin de partitionner les points en clusters disjoints
  - Points dans un même cluster → important degré de similarité
  - Points dans des clusters différents → faible degré de similarité

## Spectral clustering

- Base de données utilisée : « TwoCircles »
- Nombre de clusters :  $k=2$



Points de la  
base de données

Résultats obtenus  
par K-means

Résultats obtenus  
par Spectral Clustering

## Spectral clustering

- **Tests réalisés :**

Application du Spectral Clustering sur la base de données « Attributs » (7x100 individus provenant d'un échantillon de culture)

- **Résultats obtenus :**

Environ 60% de bonne reconnaissance  
Beaucoup de confusions entre certaines espèces (notamment entre espèces semblables au niveau morphologique → signaux proches)

- **Tests envisagés :**

- Étude de la classification semi-supervisée
- Apprentissage de la matrice de similarités

## Détection des colonies

- **Tests réalisés :**

Application de la Transformée de Fourier sur les signaux issus du cytomètre (en particulier sur le signal de fluorescence rouge car caractéristique de la présence d'une cellule phytoplanctonique)

- **Résultats obtenus :**

La détection du nombre de cellules dans une colonie ne peut pas être obtenue uniquement par la Transformée de Fourier

- **Tests Envisagés :**

- Voir M. NOYER Jean-Charles pour l'analyse des signaux correspondants aux colonies et la décomposition de ces derniers
- Tests d'autocorrélation des signaux

## Dynamic Time Warping

- **Tests réalisés (cf Article STIC) :**

Etude et Analyse des méthodes d'appariement élastique.  
Comparaison des résultats obtenus grâce à cette méthode, avec ceux obtenus grâce aux attributs (en classification supervisée : 1-ppv, Perceptron Multicouches, Machine à Vecteurs Support).

- **Résultats obtenus :**

Amélioration des résultats grâce au DTW  
(cf. « Validation 4 bases »).

- **Tests Envisagés :**

- Amélioration des résultats liés au DTW (par exemple, en creusant la matrice de similarité pour mettre en évidence les similarités proches de 1)
- Utilisation de la méthode dans un système de reconnaissance plus complexe
- Application de la méthode sur des données provenant d'un échantillon du milieu naturel

## Classification de cytogrammes par appariement élastique

*Colloque International Stic &  
Environnement 2009, Calais, 16-18 juin  
et publication acceptée*

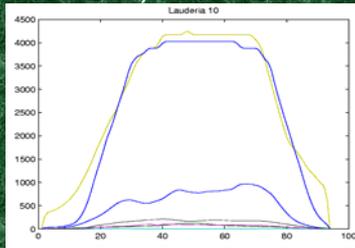
Émilie Caillault\* - Pierre-Alexandre Hébert\*  
Natacha Guiselin\*\* - Felipe Artigas\*\*

\* Laboratoire d'Analyse des Systèmes du Littoral (LASL)  
Université du Littoral Côte d'Opale,  
50 rue Ferdinand Buisson, B.P. 699, F-62228 CALAIS CEDEX.  
Emilie.Caillault ; Pierre-Alexandre.Hebert@lasl.univ-littoral.fr

\*\* Laboratoire d'Océanologie et de Géosciences (LOG), UMR CNRS 8187  
Université du Littoral Côte d'Opale,  
Felipe.Artigas ; Natacha.Guiselin@univ-littoral.fr

## Méthode d'identification automatique

- Automatic recognition of 7 Phytoplanktonic species
- Each culture cell is described by a set of 8 cytometric signals (temporal series)

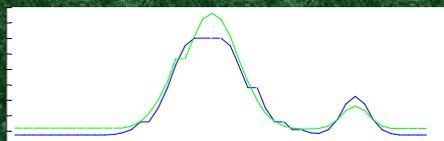
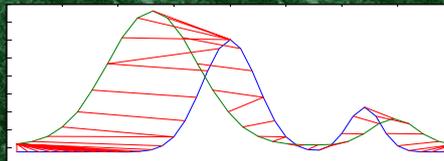


- Supervised classification
  - some identified cells are used to learn the recognition process

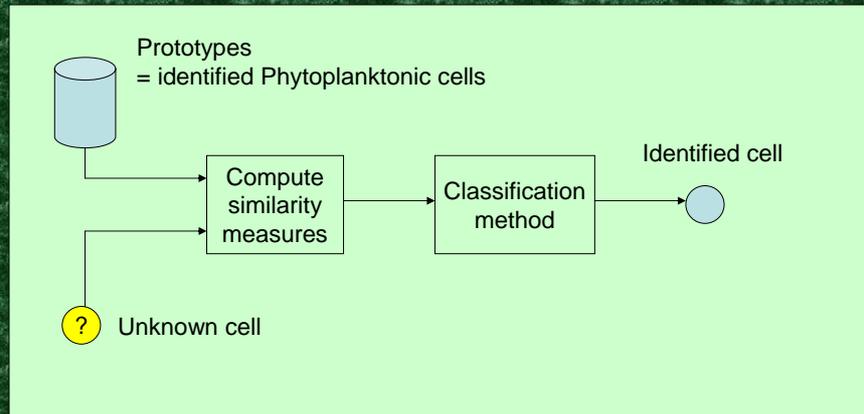
## Approche basée en la comparaison des signaux

- Classification process is based upon a similarity measure between cytometric curves
- The similarity measure is computed by applying an elastic matching method: Dynamic Time Warping (DTW)
- Example

Similarity degree  
between the 2 curves  
is **0.83**



## Schéma de reconnaissance automatisée



## Résultats

- Comparison to a classical approach
- Recognition rates

Classification method	"Features" approach	"Similarity" approach
<i>k-nn</i>	92.5	96.7
<i>MLP</i>	95.6	97.3
<i>SVM-1</i>	90.2	96.5
<i>SVM-2</i>	92.5	93

**L. Felipe Artigas, ULCO**

Caractérisation des événements phytoplanctoniques en zones côtières par cytométrie en flux (CytoSense Benchtop) : premières actions et perspectives

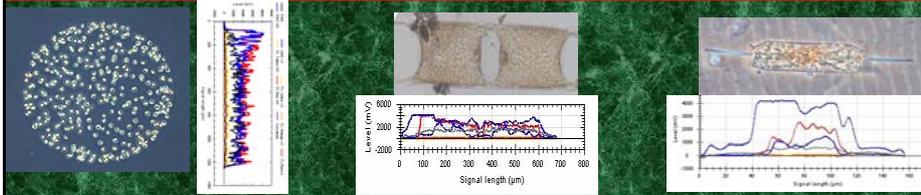
## Perspectives

Vers une généralisation de la cytométrie pour le suivi des micro-algues, dont les algues nuisibles?

Poursuite du suivi - Classification des communautés phytoplanctoniques

Développements théoriques et méthodologiques

Définition des protocoles opérationnels standard : Calibration et inter-calibrations du CytoSense à partir des cultures et de l'analyse des communautés *in situ*



Vers une analyse taxonomique plus fine :

Analyse et classification du signal en automatique, couplé à l'analyse d'image

Collaborations : LOG – LASL (CNRS - ULCO) – **Projet PhytoClas**

**Projet DYMAPHY** : Nord-Pas de Calais (ULCO-USTL-CNRS-IFREMER), Flandres Belges, Sud Hollande, Angleterre, Interreg IV a « 2 Mers » à soumettre 06/09)

## Perspectives

Vers des mesures *in situ* en continu couplées aux bouées de mesures ou dans des navires d'opportunité



IN-SITU FLOW CYTOMETRY

[CytoBuoy instrument platforms](#)



research ship



wire

To 250 m depth



ferry



buoy

## **L. Felipe Artigas, ULCO**

Caractérisation des événements phytoplanctoniques en zones côtières par cytométrie en flux (CytoSense Benchtop) : premières actions et perspectives

### **Remerciements**

- ❖ **Lucie Courcot** (IE ULCO) pour les préparations/observations au MEB
- ❖ **Elsa Breton** (IR ULCO) pour l'isolement et mise en culture d'espèces du milieu
- ❖ **Vincent Cornille** (AJT ULCO) pour l'échantillonnage et les analyses
- ❖ **Nicole Degros** (AI CNRS) pour les analyses hydrologiques et HPLC
- ❖ **Eric Lecuyer** (AT CNRS) pour les analyses NH<sub>4</sub>
- ❖ **L'équipage** des NO « Sepia II » et « Côtes de la Manche » de l'INSU
- ❖ **L'Agence de l'Eau Artois Picardie** et **Région Nord-Pas de Calais** pour son soutien à N. Guiselin
- ❖ **La Région Nord Pas de Calais** et les fonds communautaires FEDER : Projet CPER « Ecosystèmes perturbés du littoral : Bloom de Phaeocystis II »
- ❖ **L'ULCO** pour le projet BQR PhytoClas
- ❖ **Alain Lefèbvre** et **l'équipe du LER/BL IFREMER** pour son appui et collaboration

**Merci pour votre attention!**

## Automatisation du suivi des communautés phytoplanctoniques

### Utilisation du FlowCAM couplé au logiciel PhytoImage

**Alina TUNIN-LEY**

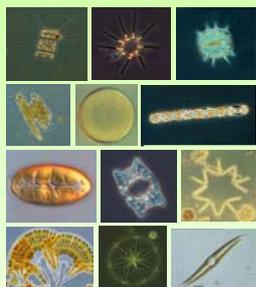
*Post-doc Ifremer – LER Arcachon*



*Journée REPHY – 1-3 avril 2009*

## Identification du phytoplancton

**Diatomées**



**Dinoflagellés**



**Microscope inversé**

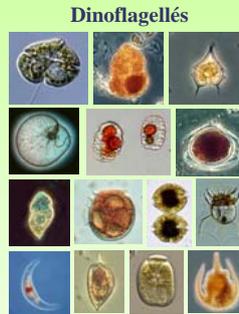


**Silicoflagellés**



*Journée REPHY – 1-3 avril 2009*

## Identification du phytoplancton

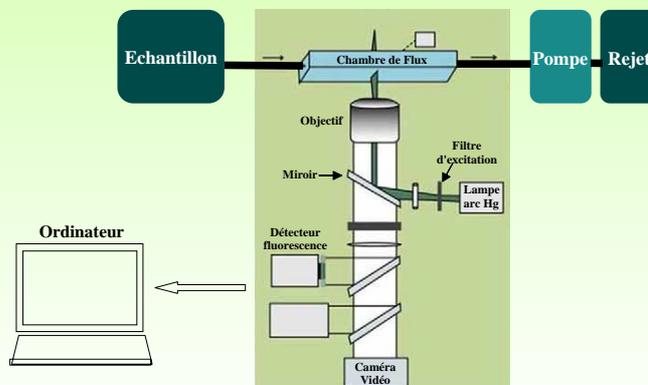


Journée REPHY - 1-3 avril 2009

## FlowCAM : principe

- FLOW Cytometry And Microscopy

→ Cytométrie en Flux et Microscopie



Journée REPHY - 1-3 avril 2009

## FlowCAM : principe

### - FLOW Cytometry And Microscopy

→ *Cytométrie en Flux et Microscopie*

#### 2 modes de détection par le laser

- fluorescence des particules
- scattering (diffusion de la lumière)

#### 1 mode de détection automatique

- acquisition d'image à intervalle de temps régulier

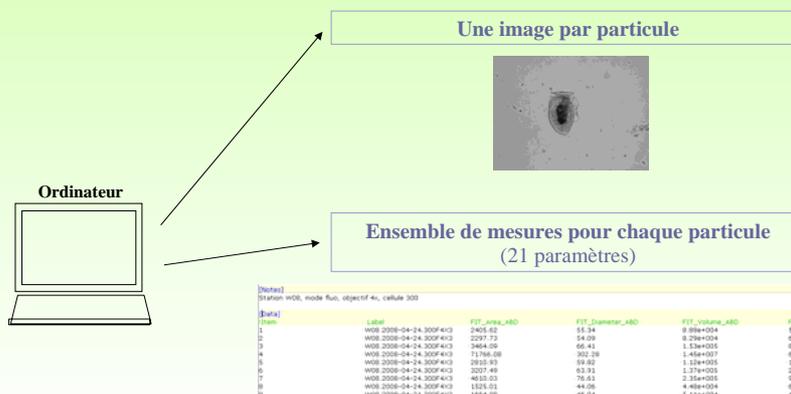


Journée REPHY - 1-3 avril 2009

## FlowCAM : principe

### - FLOW Cytometry And Microscopy

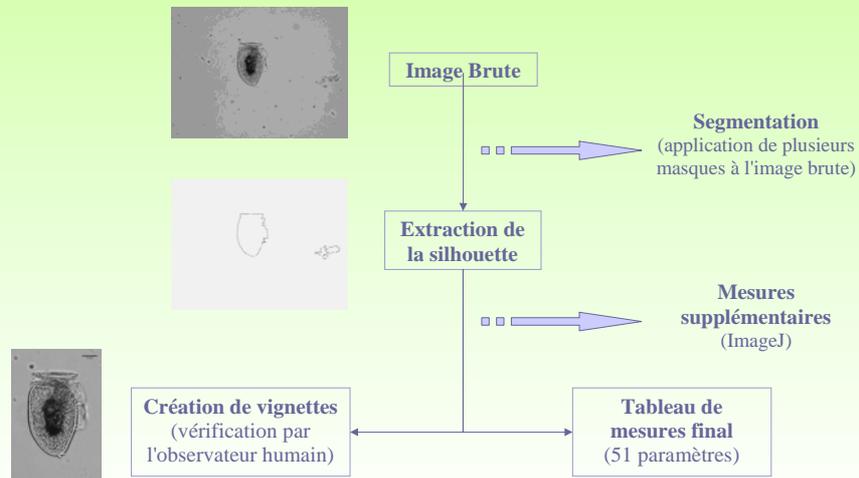
→ *Cytométrie en Flux et Microscopie*



Journée REPHY - 1-3 avril 2009

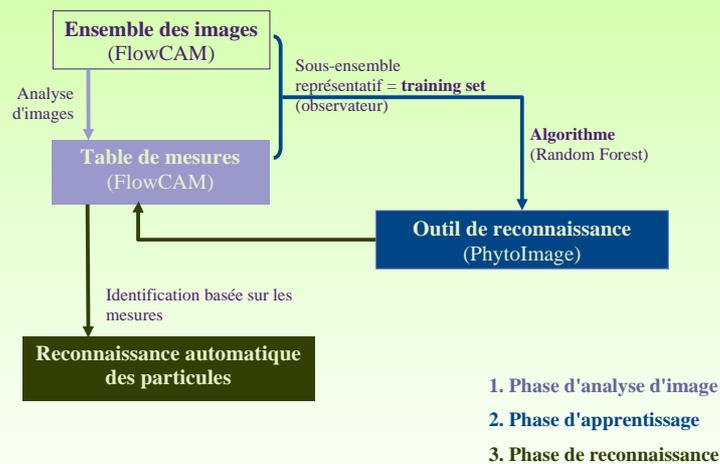
## PhytoImage : principe de l'analyse d'image

- Logiciel développé par Ph. Grosjean et K. Denis (Université de Mons, Belgique)



Journée REPHY - 1-3 avril 2009

## PhytoImage : classification des particules



Journée REPHY - 1-3 avril 2009

## PhytoImage : évaluation des performances

### - Matrice de confusion

		Identification par le logiciel			
		Taxon 1	Taxon 2	Taxon 3	Taxon 4
Identification manuelle	Taxon 1	92	0	0	1
	Taxon 2	0	78	3	0
	Taxon 3	0	10	89	0
	Taxon 4	0	0	0	91

→ Regroupements taxonomiques

→ Vérification et correction manuelles = reconnaissance semi-automatique

*Journée REPHY - 1-3 avril 2009*

## Études antérieures

### - Comparaison identification observateur humain / FlowCAM (Buskey, 1996) : espèce ciblée = *Karenia brevis*

- *K. brevis* dans un échantillon naturel
  - 80-90% des cellules-cibles correctement identifiées
  - 20-50% des cellules non ciblées identifiées comme *K. brevis*

→ Classification des particules par le logiciel du FlowCAM

### - Reconnaissance automatique avec PhytoImage (Grosjean et Denis) :

- 44 groupes différenciés ; taux de reconnaissance 78%
- 30 groupes différenciés ; taux de reconnaissance 91%
- 10 taxa du genre *Dinophysis* différenciés ; taux de reconnaissance 87%

→ Set d'apprentissage composé de photos prises au microscope

*Journée REPHY - 1-3 avril 2009*

## Post-doc : Mise au point opérationnelle

### - Objectifs :

- mise au point d'un protocole → numérisation des particules
- constitution d'un set d'apprentissage (à partir des échantillons du REPHY)
- création et optimisation d'un outil de reconnaissance adapté aux exigences du REPHY (Ph. Grosjean & K. Denis)
- évaluation des performances de l'outil optimisé sur des échantillons collectés dans le cadre du REPHY

*Journée REPHY - 1-3 avril 2009*

## Post-doc : Mise au point opérationnelle

### - Problèmes liés à l'imagerie (FlowCAM)

- netteté et reproductibilité de l'image
- position de la particule par rapport à l'objectif
- segmentation de l'image (particules agrégées, espèces coloniales)

### - Problèmes liés à l'échantillonnage

- concentration cellulaire
- volume analysable
- étude sur du vivant ou du fixé

### - Problèmes liés à l'identification automatique (PhytoImage)

- niveau taxonomique de reconnaissance
- banque d'images pour le set d'apprentissage

*Journée REPHY - 1-3 avril 2009*

## Applications en perspective

### - Surveillance de la flore marine et aquatique

- suivi de la flore phytoplanctonique totale
- suivi d'espèces cibles productrices de toxines
- réseaux d'observation

### - Recherche fondamentale et appliquée

- expérimentations (cultures, microcosmes...)
- études spatio-temporelles de la dynamique du phytoplancton
- études trophiques (présence/absence de chlorophylle dans les cellules)
- campagnes scientifiques (analyses en temps réel, *in situ* ou sur le

bateau)

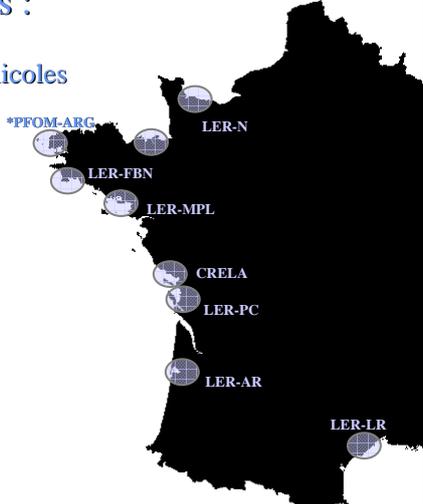
*Journée REPHY - 1-3 avril 2009*



## Utilisation des données REPHY en écophysiologie des mollusques :

La rencontre du Rephy, des réseaux conchylicoles  
et des modèles d'écophysiologie

Présentation : Stéphane Pouvreau\*



**Ifremer**



## Plan de l'exposé

- **Introduction :**
  - ✓ L'huître creuse, un modèle-animal clés à l'Ifremer
  - ✓ Des problèmes biologiques récurrents
  - ✓ Ecophysiologie & modélisation
  
- **Présentation rapide du modèle :**
  - ✓ Cadre conceptuel (DEB)
  - ✓ Notion de validation et de forçage
  - ✓ Recherche d'un traceur de nourriture idéal (grâce au Rephy)
  
- **Test du modèle sur les côtes françaises :**
  - ✓ Utilisation des données du Rephy
  - ✓ Utilisation d'autres types de données
  
- **Conclusion et perspectives :**
  - ✓ Bilan de l'histoire
  - ✓ Perspectives opérationnelles

**Ifremer**

### L'huître creuse, un modèle animal clés à l'Ifremer

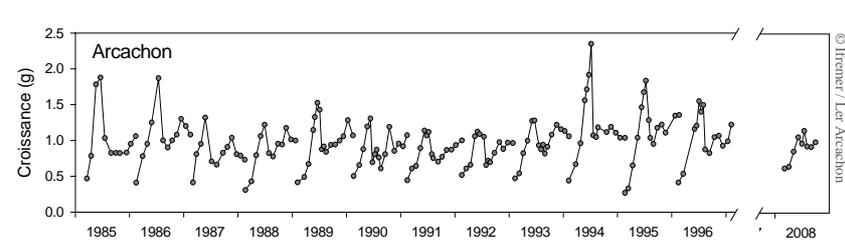


© Ifremer / S. Pouvreau

© www.arcachon.fr

Ifremer

### Des problèmes biologiques récurrents...



Croissance (g)

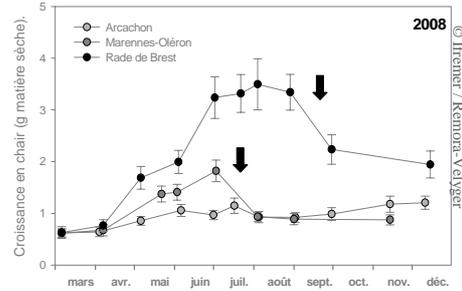
Arcachon

© Ifremer / Lar Arcachon

**Forte variabilité de la Croissance**

↓

Pbs de capacité trophique des sites conchylicoles ?



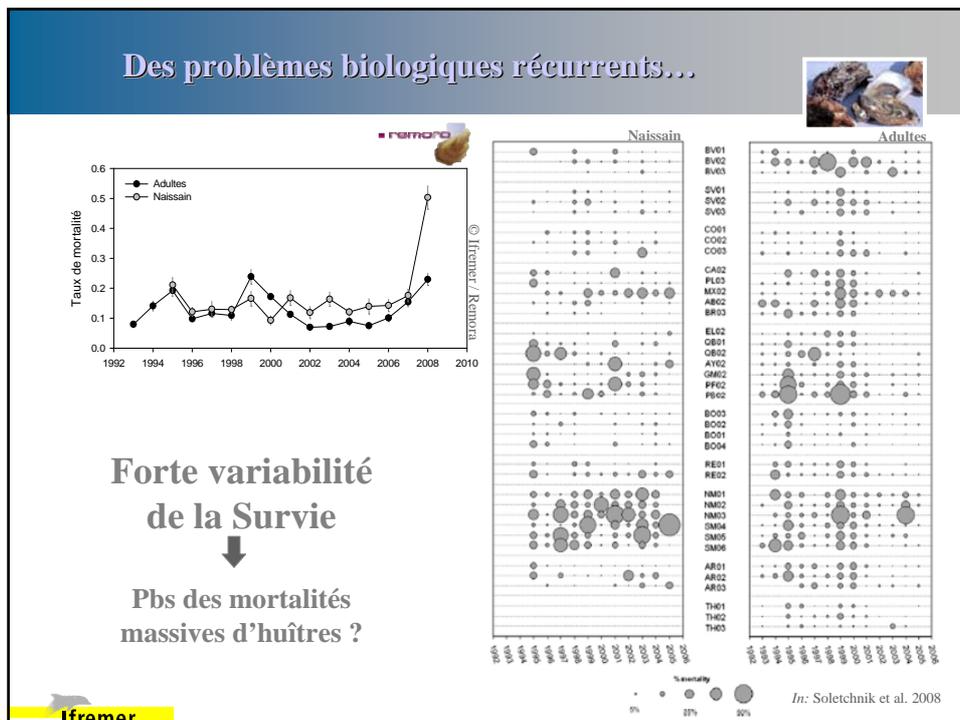
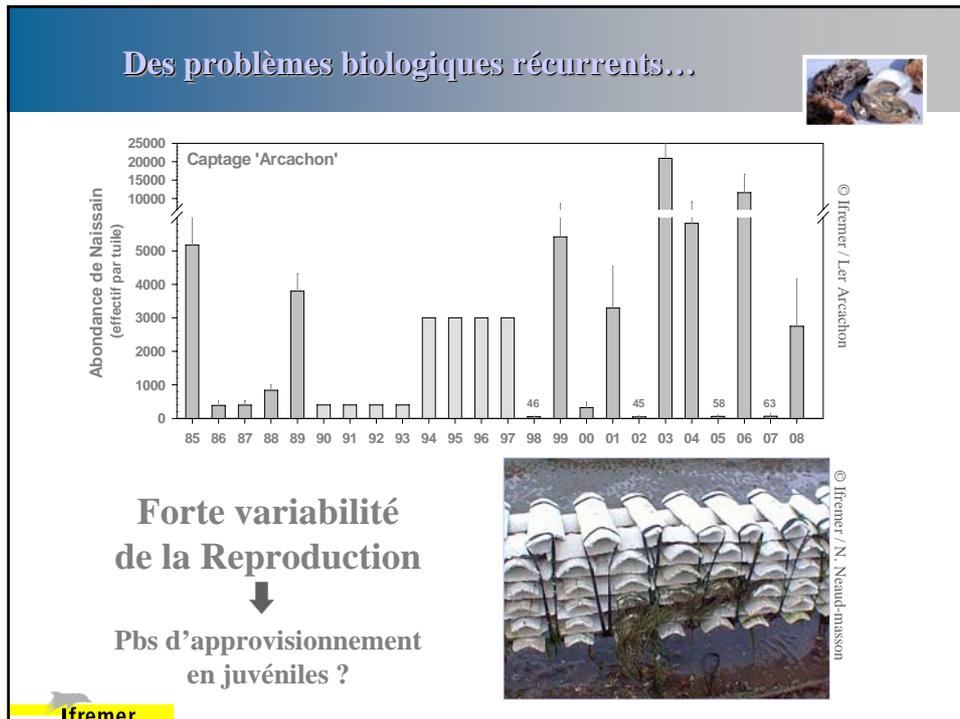
Croissance en chair (g matière sèche).

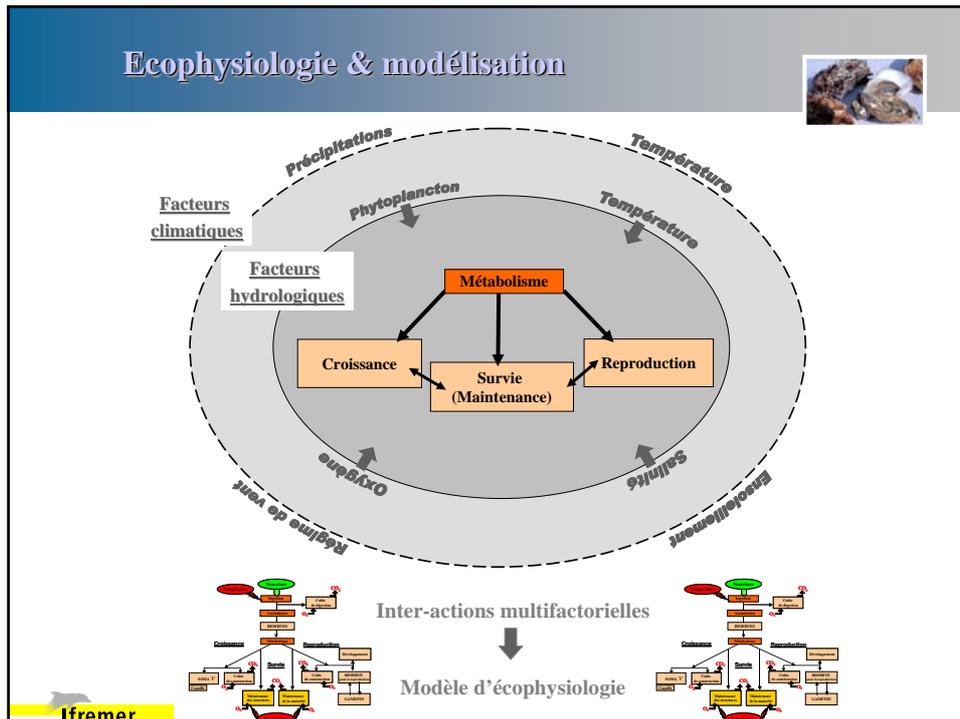
2008

○ Arcachon  
◻ Marennes-Oléron  
● Rade de Brest

© Ifremer / Remora-Veluyet

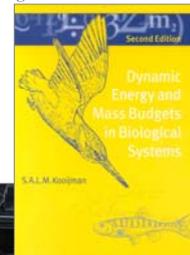
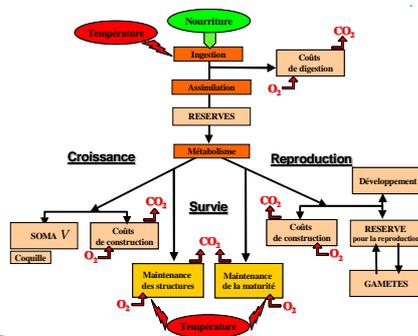
mars avr. mai juin juil. août sept. oct. nov. déc.

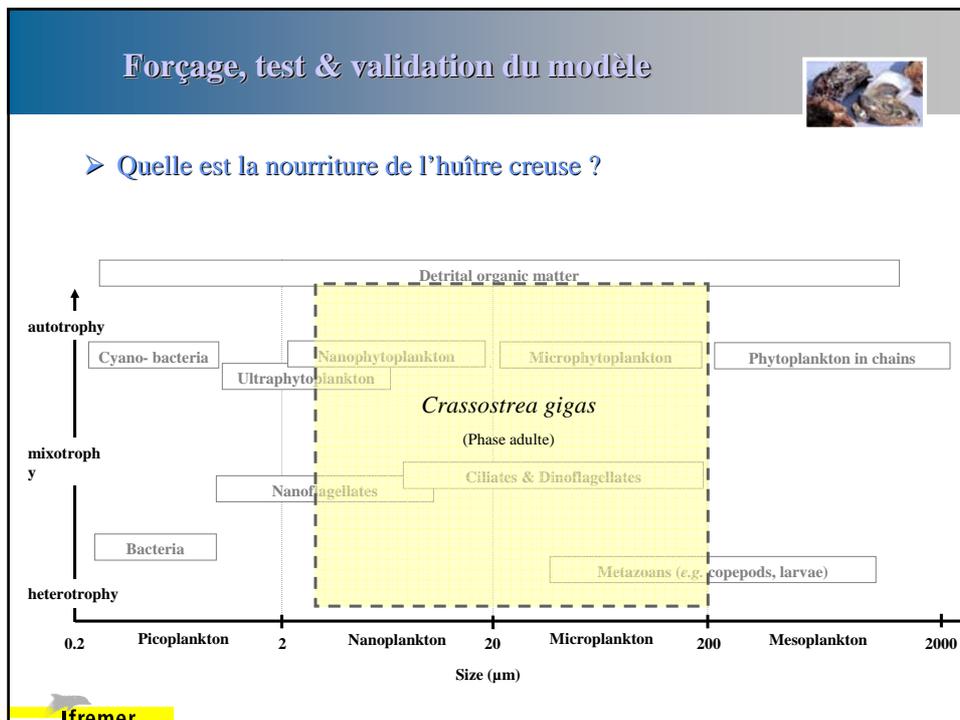
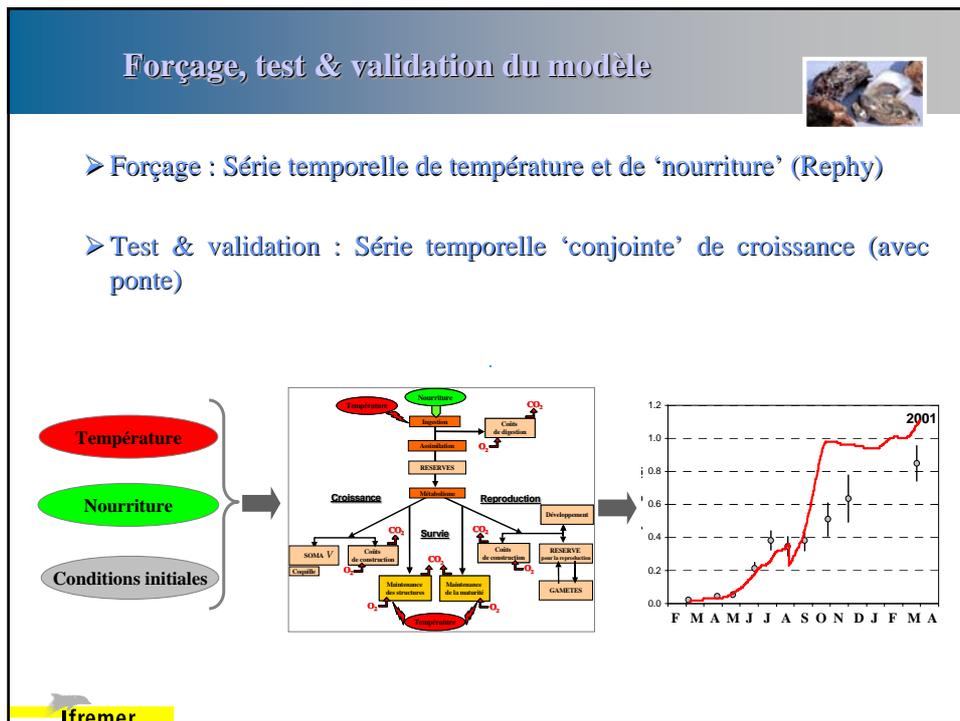


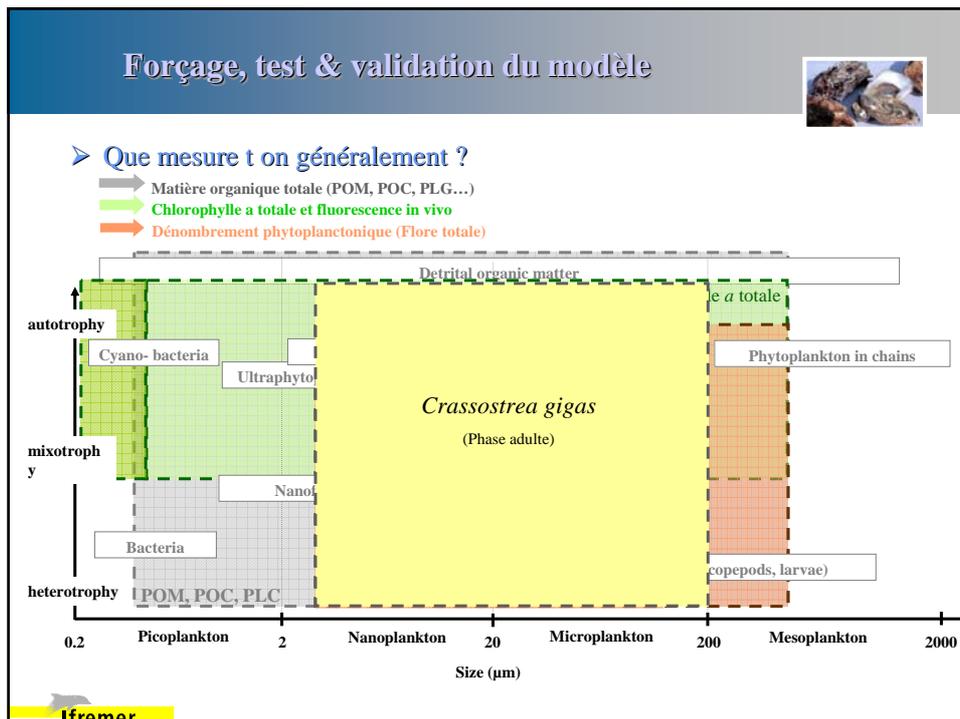


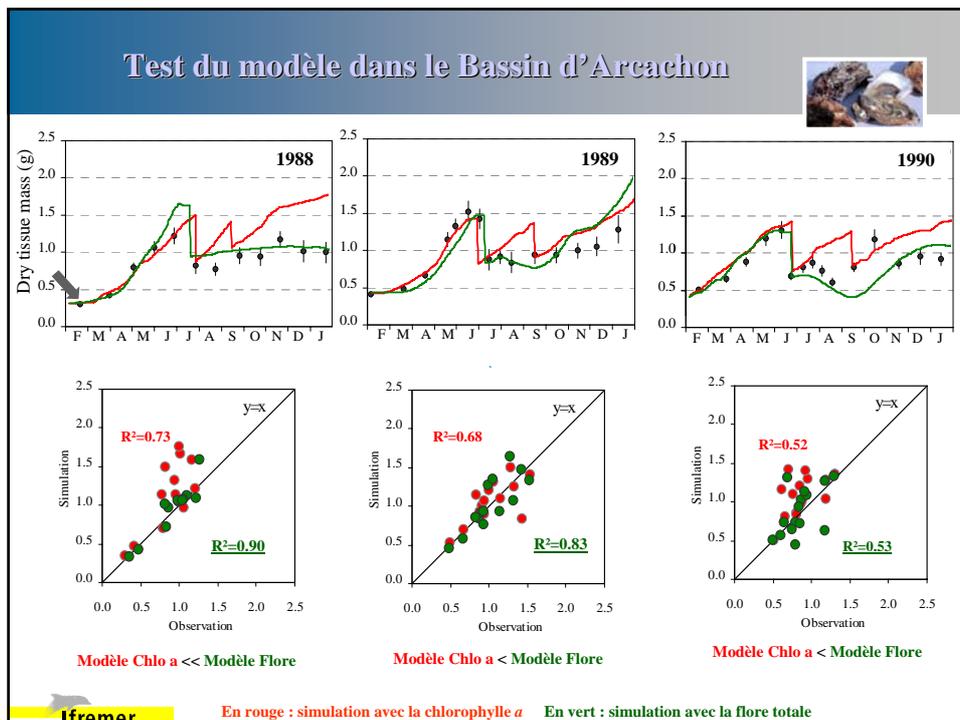
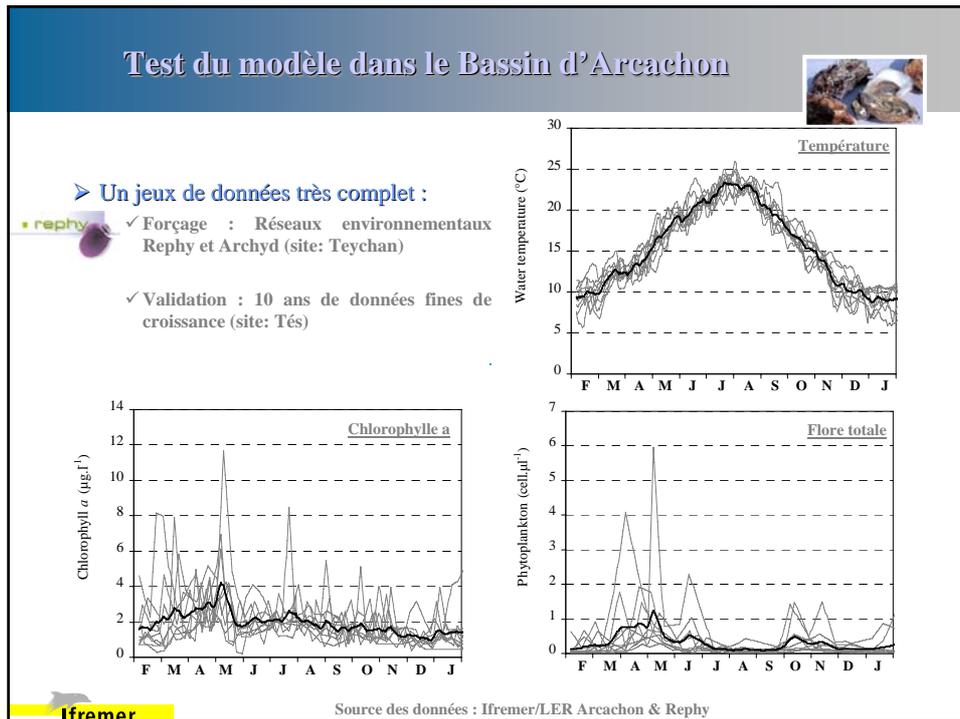
### Ecophysiologie & modélisation

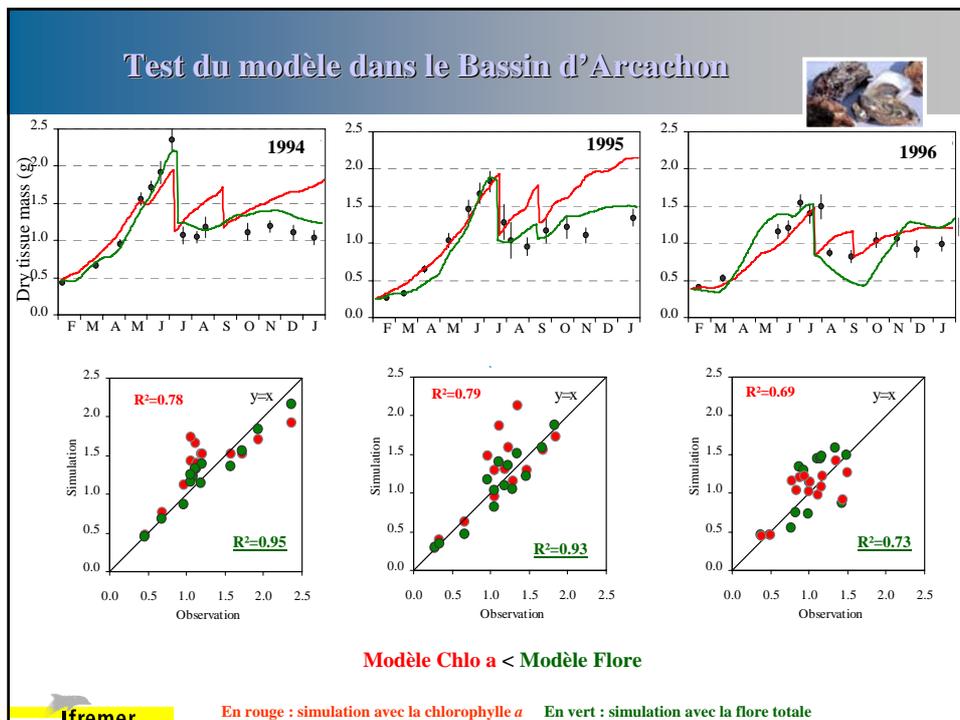
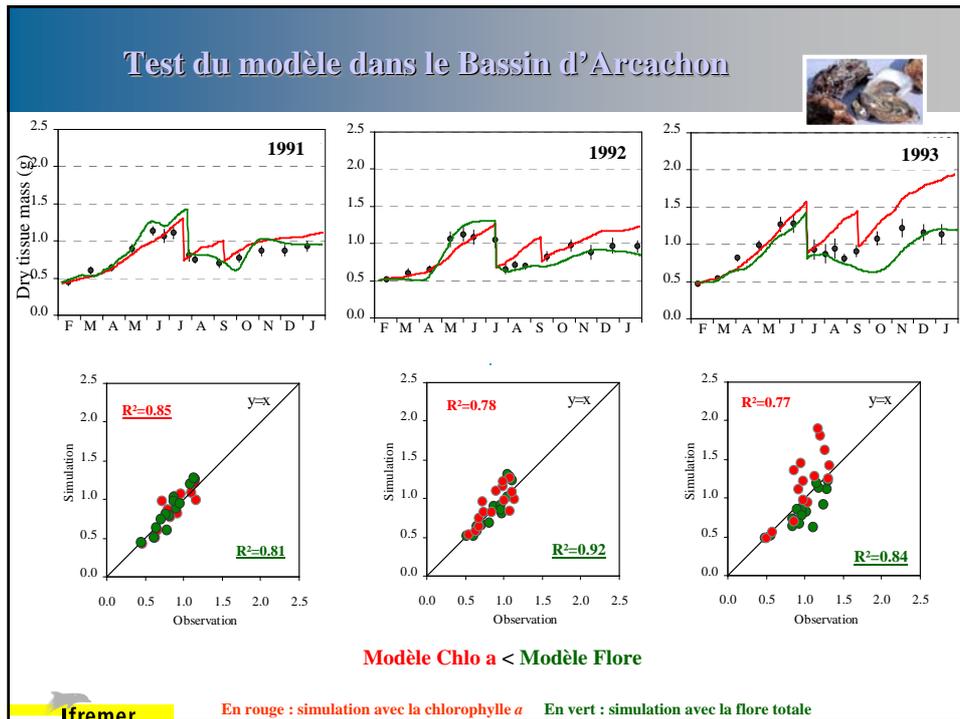
- **Modèle d'écophysiologie :**
  - ✓ Reproduction mathématique simplifiée du fonctionnement bio-énergétique d'un organisme
  - ✓ Plusieurs 'familles' de modèle (SFG, DEB...)
- **Avantage du modèle DEB (Dynamic Energy Budget Model):**
  - ✓ Cadre conceptuel très solide (théorie DEB)
  - ✓ Caractère 'universel' (de la bactérie à la baleine)
  - ✓ Code totalement détaillé & explicite (e.g. Kooijman, 2001 et 2009)

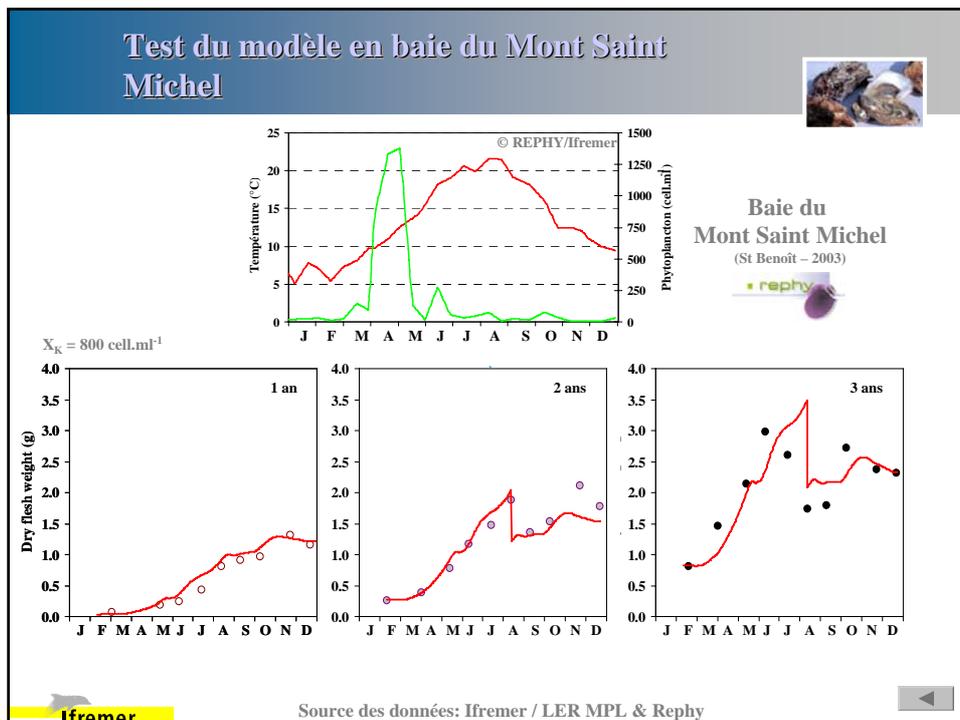
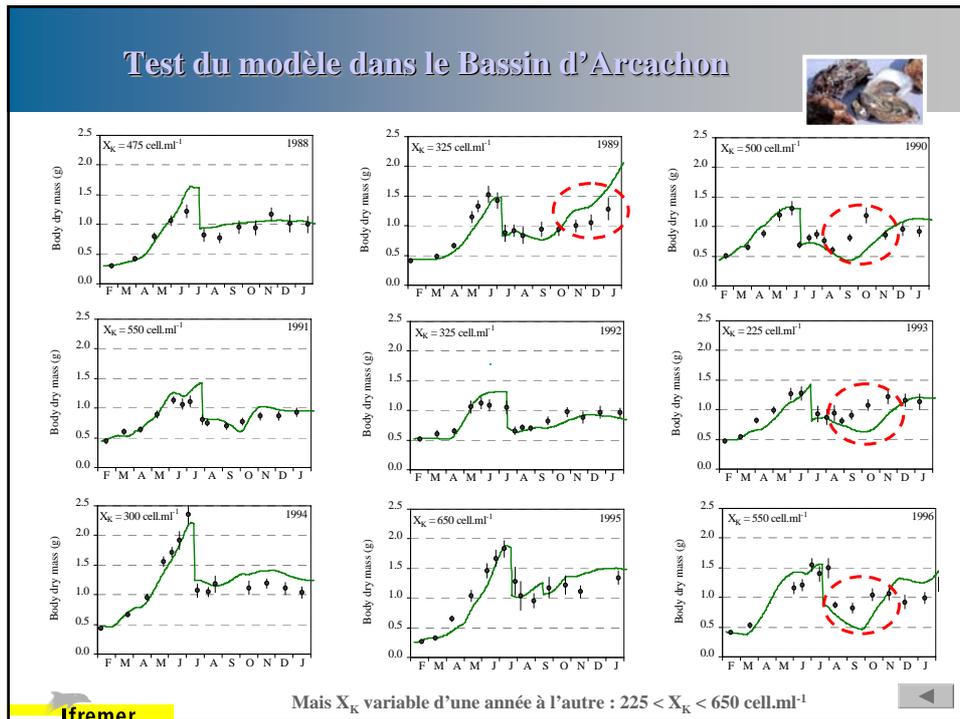


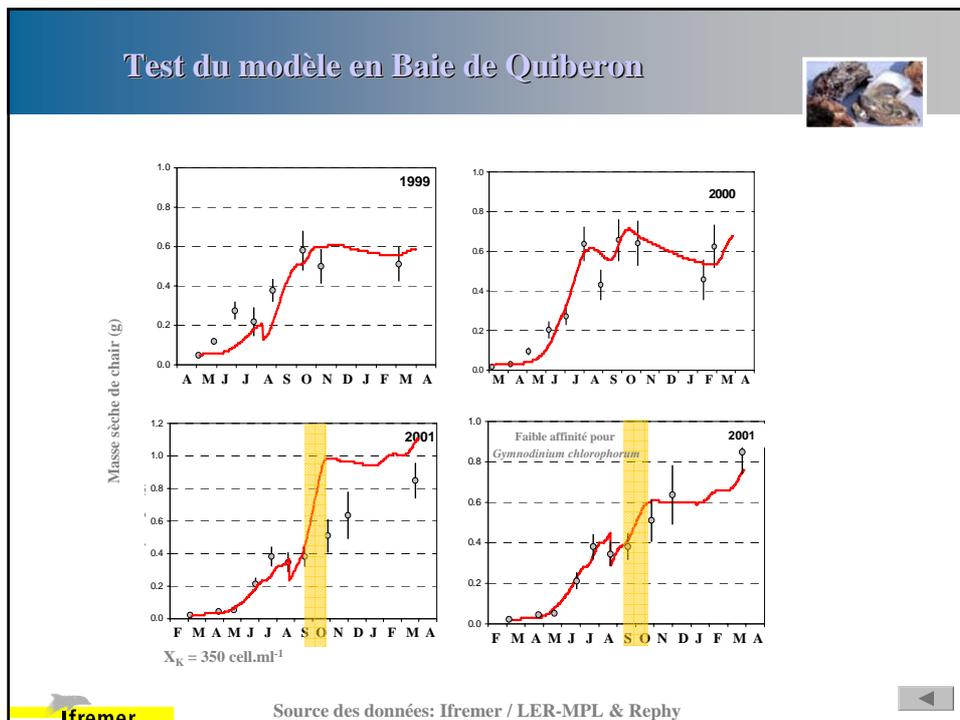
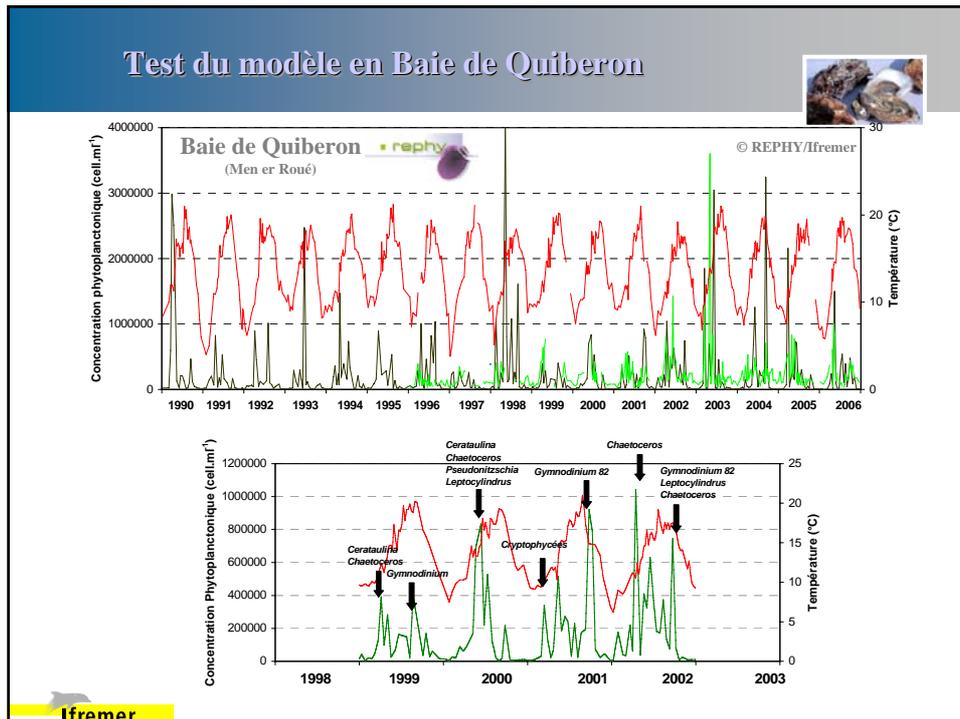


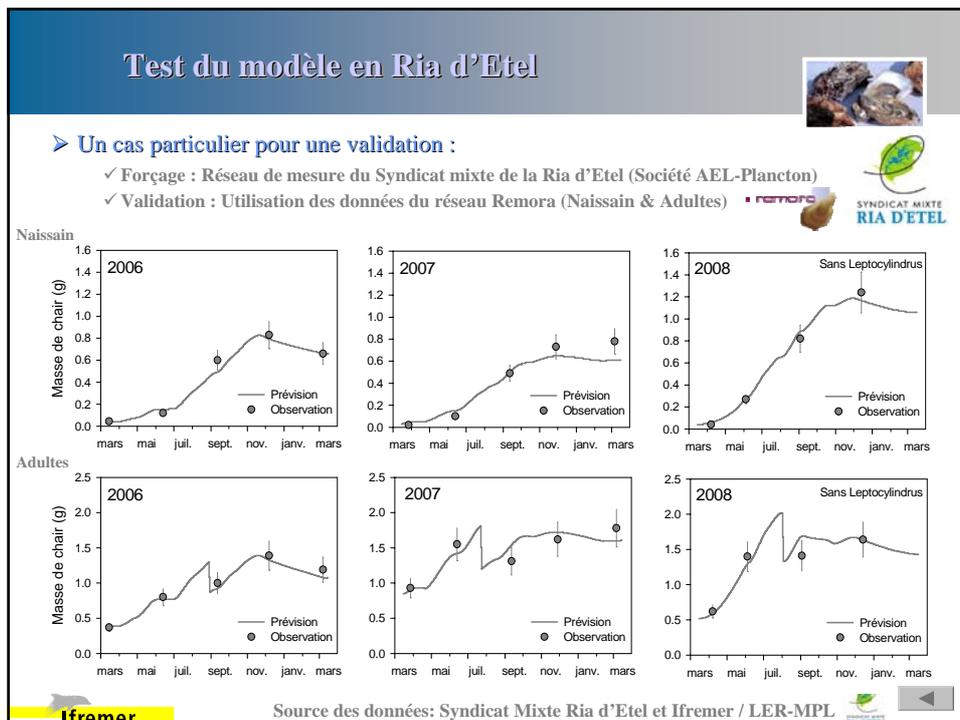
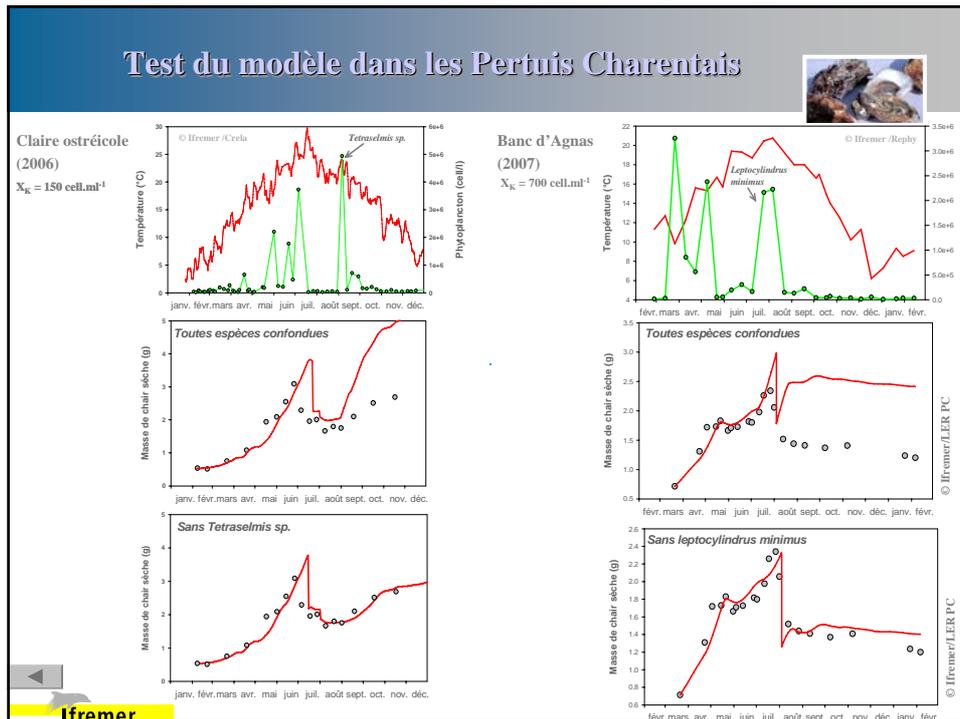












## Conclusion & Perspectives



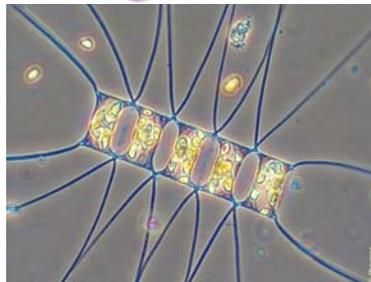
- **Simulation satisfaisante de la croissance de l'huître à partir du modèle DEB**
  - ✓ Utilisation des réseaux Rephy (Flore totale) et des réseaux conchylicoles (Remora et régionaux)
  - ✓ Mise en évidence d'espèces phytoplanctoniques 'à faible valeur nutritive'
    - ✓ *Lepidodinium chlorophorum* (*Gymnodinium* 82)
    - ✓ *Leptocylindrus minimus*
    - ✓ *Tetraselmis* sp.
    - ✓ Probablement d'autres espèces quand elles sont en fortes concentrations (*Cerataulina pelagica*, *Asterionella glacialis*...).
  - ✓ Confirmation en cours par des expérimentations d'écophysiologie (Filtration & Valvométrie)
  
- **Points à approfondir**
  - ✓ Les sources de variabilité du paramètre  $X_k$  (Turbidité, Qualité du phytoplancton)
  - ✓ Le déterminisme des pontes (pontes partielles)
  - ✓ L'utilisation d'autres traceurs de nourriture (chlo a modifiée, satellite...)
  
- **A terme, mise en routine opérationnelle du modèle**
  - ✓ Dans le cadre du P7 – Projet d'observatoire conchylicole
  - ✓ En interaction avec le P5 (Rephy) et le P3 (Previmer)
  - ✓ Outil de prévision des performances conchylicoles et d'identification 'temps réel' des anomalies

Ifremer

## Un grand merci à tous les acteurs du ...



rephy

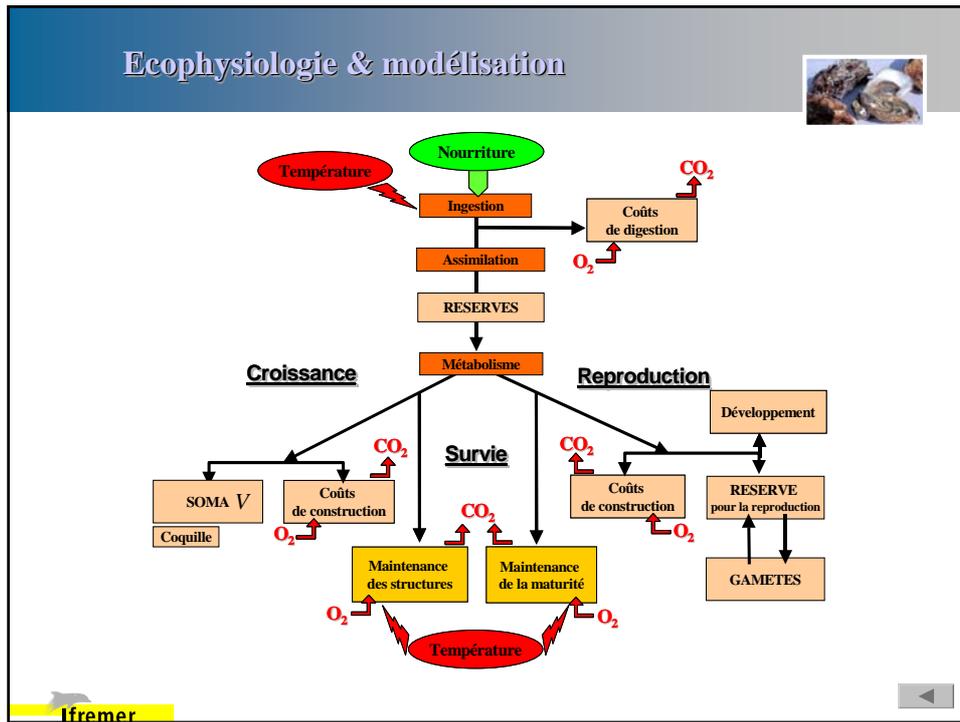


© Ifremer/N. Neaud-Masson

remora



Ifremer



La prise en compte de la production primaire et du phytoplancton  
dans l'Evaluation Initiale et la définition du Bon Etat Ecologique

de la

Directive Cadre Stratégie Marine pour le milieu Marin  
( SMM=DCSM)

Marine Strategy Framework Directive ( MSFD)  
2008/56/CE



*période 2008 à 2020*

25.6.2008

FR

Journal officiel de l'Union européenne

L 164/19

DIRECTIVES

**DIRECTIVE 2008/56/CE DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL**  
du 17 juin 2008

établissant un cadre d'action communautaire dans le domaine de la politique pour le milieu marin  
(directive-cadre «stratégie pour le milieu marin»)

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

LE PARLEMENT EUROPÉEN ET LE CONSEIL DE L'UNION EURO-  
PÉENNE,

vu le traité instituant la Communauté européenne, et notam-  
ment son article 175, paragraphe 1,

vu la proposition de la Commission,

vu l'avis du Comité économique et social européen <sup>(1)</sup>,

vu l'avis du Comité des régions <sup>(2)</sup>,

statuant conformément à la procédure visée à l'article 251 du  
traité <sup>(3)</sup>,

(3) Le milieu marin est un patrimoine précieux qu'il convient  
de protéger, de préserver et, lorsque cela est réalisable, de  
remettre en état, l'objectif final étant de maintenir la  
diversité biologique et de préserver la diversité et le dyna-  
misme des océans et des mers et d'en garantir la  
propreté, le bon état sanitaire et la productivité. À cet  
égard, la présente directive devrait, notamment, promou-  
voir l'intégration des préoccupations environnementales  
au sein de toutes les politiques concernées et constituer  
le pilier environnemental de la future politique maritime  
de l'Union européenne.

(4) En vertu de la décision n° 1600/2002/CE du Parlement  
européen et du Conseil du 22 juillet 2002 établissant le  
sixième programme d'action communautaire pour l'environ-  
nement <sup>(4)</sup>, une stratégie thématique pour la protec-  
tion et la conservation du milieu marin a été établie,  
l'objectif général étant de promouvoir l'utilisation  
durable des mers et la conservation des écosystèmes  
marins.

**Patrick Camus, Ifremer La Trinité**

La prise en compte de la production primaire et du phytoplancton dans l'Evaluation Initiale et la définition du Bon Etat Ecologique de la Directive Cadre Stratégie Marine pour le milieu Marin

considérant ce qui suit:

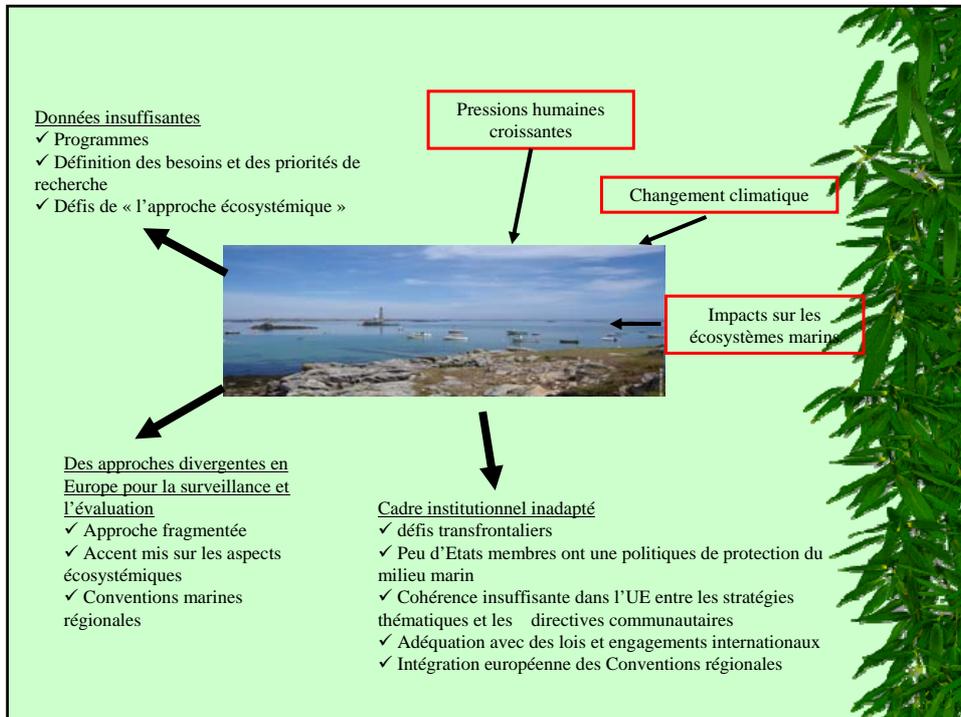
(1) Les eaux marines placées sous la souveraineté et la juridiction des États membres de l'Union européenne comprennent les eaux de la mer Méditerranée, de la mer Baltique, de la mer Noire et de l'Atlantique du Nord-est, ainsi que les eaux bordant les Açores, Madère et les îles Canaries.

(2) Il est évident que la pression exercée sur les ressources naturelles marines et la demande de services écologiques marins sont souvent trop élevées et que la Communauté doit réduire son impact sur les eaux marines indépendamment de l'endroit où leurs effets se font sentir.

(5) L'établissement et la mise en œuvre de la stratégie thématique devraient viser à préserver les écosystèmes marins. Cette approche devrait prendre en compte les zones protégées et porter sur l'ensemble des activités humaines ayant un impact sur le milieu marin.

(6) Une importante contribution à la réalisation d'un bon état écologique, conformément à la présente directive, réside dans l'instauration de zones marines protégées, y compris les zones déjà désignées et celles à désigner, dans la directive 92/43/CEE du Conseil du 21 mai 1992 concernant la conservation des habitats naturels ainsi que de la faune et de la flore sauvages<sup>(1)</sup>, ci-après dénommée «directive "habitats"», la directive 79/409/CEE du Conseil du 2 avril 1979 concernant la conservation des oiseaux sauvages<sup>(2)</sup>, ci-après dénommée «directive "oiseaux"», et autres accords internationaux ou régionaux auxquels la Communauté européenne ou les États membres concernés sont parties.

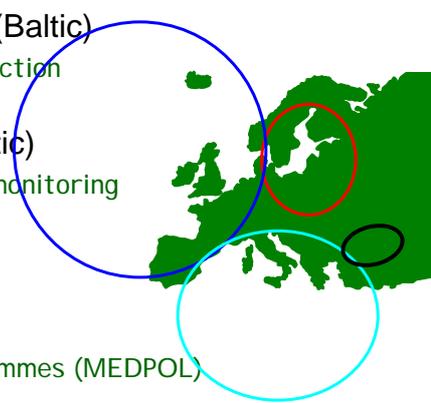
(<sup>1</sup>) JO C 185 du 18.8.2006, p. 26.  
 (<sup>2</sup>) JO C 206 du 29.8.2006, p. 5.  
 (<sup>3</sup>) Avis du Parlement européen du 14 novembre 2006 (JO C 314 E du 21.12.2006, p. 86), position commune du Conseil du 23 juillet 2007 (JO C 242 E du 16.10.2007, p. 11) et position du Parlement européen du 11 décembre 2007 (non encore parue au Journal officiel). Décision du Conseil du 14 mai 2008.  
 (<sup>4</sup>) JO L 242 du 10.9.2002, p. 1.  
 (<sup>5</sup>) JO L 206 du 22.7.1992, p. 7. Directive modifiée en dernier lieu par la directive 2006/105/CE (JO L 363 du 20.12.2006, p. 368).  
 (<sup>6</sup>) JO L 103 du 25.4.1979, p. 1. Directive modifiée en dernier lieu par la directive 2006/105/CE.



### La DCSM renvoie vers de nombreux textes communautaires et des conventions

- |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"><li>* D.C.E.</li><li>* D. Habitats</li><li>* D. Oiseaux</li><li>* D.E.R.U.</li><li>* D.Baignades</li><li>* Les règlements de la PCP, de la PAC</li><li>* Le paquet "Hygiène"</li><li>* INSPIRE (infrastructure d'information géographique)</li><li>* Traité Euratom</li><li>* ...</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>▪ Conventions de mers régionales</li><li>▪ Convention pour la biodiversité biologique</li><li>▪ Convention des Nations unies sur le droit de la mer</li><li>▪ ...</li></ul> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

### Conventions des mers régionales

- Helsinki Convention, HELCOM (Baltic)
    - Baltic marine environment protection
  - OSPAR Convention (NE Atlantic)
    - Environmental assessment and monitoring
    - Programmes and strategies
  - Barcelona Convention
    - Mediterranean action plan
    - Research and monitoring programmes (MEDPOL)
  - BLACK SEA Convention (Bucarest)
    - Protection of the Black Sea
- 

## Compartiments, disciplines, échelles

- ❑ Surface
- ❑ Colonne d'eau
- ❑ Sol et sous sol

- ❑ Milieu côtier
- ❑ Plateau continental
- ❑ Talus
- ❑ Abysses

- ❑ Eau
- ❑ Matière vivante
- ❑ Sédiments

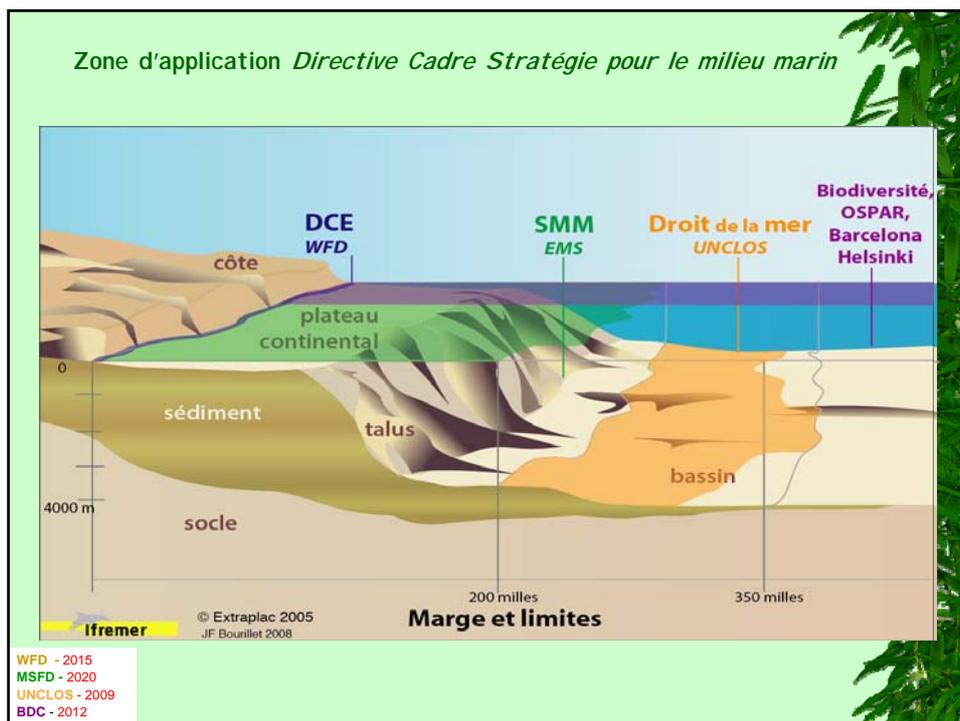
- Océanographie physique, chimique, biologique et opérationnelle ....
- Télédétection
- Géologie, hydromorphologie
- Halieutique
- Santé humaine
- Ecologie, biogéographie
- Socio économie
- Climatologie
- Géographie/Cartographie
- Microbiologie
- Taxonomie
- Communication,...

- ❖ *Local*
- ❖ *Régional*
- ❖ *National*
- ❖ *International*

## Le monde du vivant et des activités anthropiques

- \* Bactéries et virus
- \* **Phytoplancton**
- \* Zooplancton
  
- \* Macro algues
- \* Angiospermes
  
- \* Invertébrés
- \* Poissons
- \* Reptiles
- \* Oiseaux
- \* Mammifères marins

- \* Câbles sous marins
- \* Rejets thermiques
- \* Apport d'énergie ... thermique
- \* Sources sonores/acoustique
- \* Éoliennes en mer, hydrolennes, récifs artificiels
- \* Dragages, extractions, clapages
- \* Déchets flottants et dérivants
- \* Eaux usées
- \* **Contamination chimique : organique, métallique et minérale.**
- \* Pêche
- \* Tourisme
- \* Loisirs maritimes
- \* Constructions (ports, artificialisation de la côte...)



### Le calendrier à partir de 2008 ... les étapes incontournables

- 2010** (+ 2 ans) Transposition de la Directive. Caractérisation des 11 descripteurs du Bon Etat Ecologique. Normes et critères méthodologiques.
- 2012** (+ 4 ans) Description et évaluation de l'État initial : état, pressions, impacts, usages, coûts des dégradations. Détermination du Bon État Écologique incluant analyses des impacts des activités humaines
- 2012** (+ 4 ans) Etablissement des objectifs environnementaux et des indicateurs associés (au niveau des régions et sous-régions)
- 2014** (+ 6 ans) Elaboration et Mise en œuvre d'un programme de surveillance pour l'évaluation
- 2015** (au plus tard) Elaboration d'un programme de mesures (en terme d'actions) pour parvenir au bon état écologique
- 2016** (au plus tard) Démarrage opérationnel du programmes de mesures
- 2020** (au plus tard) Atteinte du «Bon Etat Ecologique»: 1<sup>er</sup> rapport d'évaluation présenté par la Commission (tous les 6 ans ensuite)

### Les 11 descripteurs du BEE (résumé)

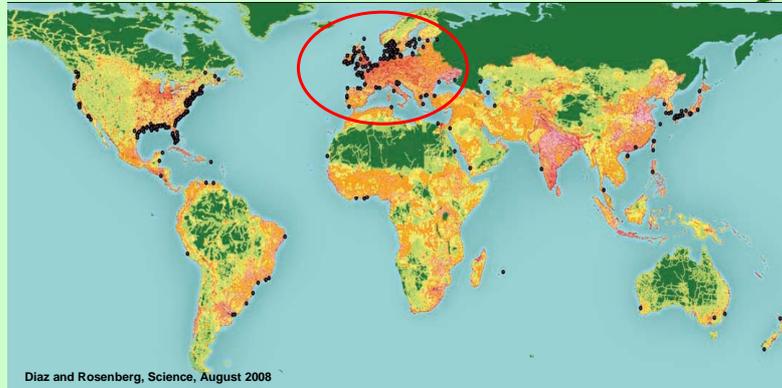
1. Biodiversité conservée
2. Espèces invasives contenues
3. Stock des espèces exploitées en bonne santé
4. Eléments du réseau trophique abondant et diversifiés
5. Eutrophisation réduite
6. Intégrité des fonds et benthos préservée
7. Hydrographie non modifiée
8. Contaminants et pollution sans effets néfastes
9. Contaminants des denrées alimentaires dans les limites communautaires
10. Déchets marins ne provoquent aucun dommage
11. Introduction d'énergie non nuisible au milieu marin

### L' EUTROPHISATION MARINE :

- 1/Comment surveiller et suivre son état ?
- 2/ Comment maintenir, voire reconquérir le Bon Etat Ecologique à l'horizon 2020?

Extraits de l'intervention d'Alain Menesguen  
au colloque européen de Brest, Directive Stratégie Marine,  
PFUE, décembre 2008

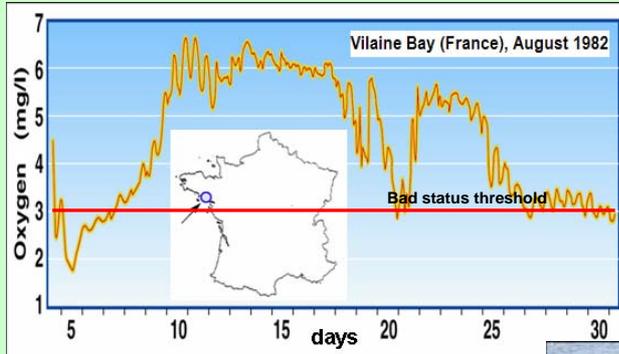
## Les points noirs de l'eutrophisation dans le monde



- \* Baltic Sea
- \* Skagerrak, Kattegat
- \* North Sea
- \* British and French estuaries
- \* Northern Adriatic Sea and mediterranean lagoons
- \* Black Sea

Quelle type de surveillance  
mettre en place?

## L'oxygène dissous

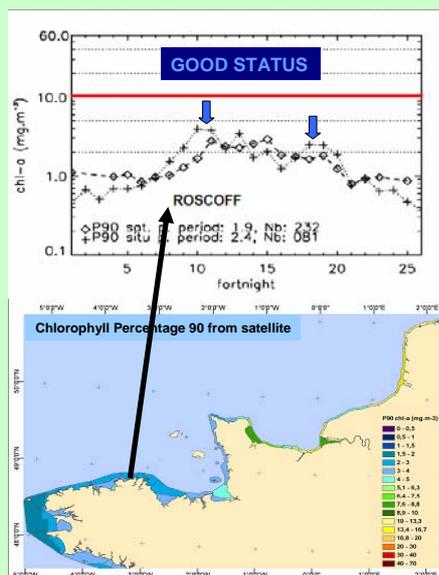


**Objectif :** Identifier les valeurs les plus faibles (~percentile 10)

**Outil nécessaires :** capteurs haute fréquence notamment pour les valeurs de fond

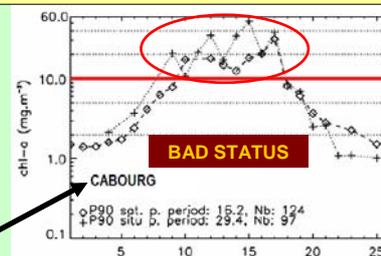


## Le phytoplancton biomasse totale



Satellite imagery now brings total coverage

(Gohin et al., 2008)

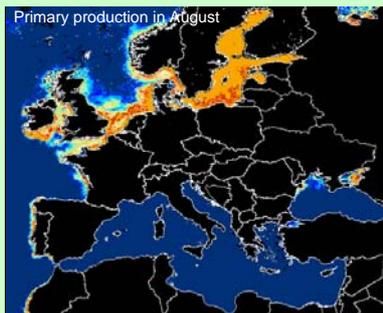


**Objectif :** assurer une bonne couverture spatiale et temporelle de chaque masse d'eau

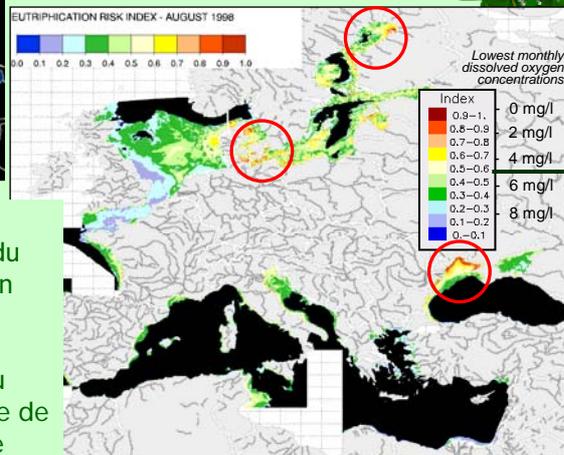
**Outil nécessaire :** traitement automatique des images satellitaires de couleur de l'océan

Prévoir les effets de réduction des apports à l'aide de scénario pour atteindre le B.E.E.

### Des modèles pour cartographier les zones à risques d'eutrophisation



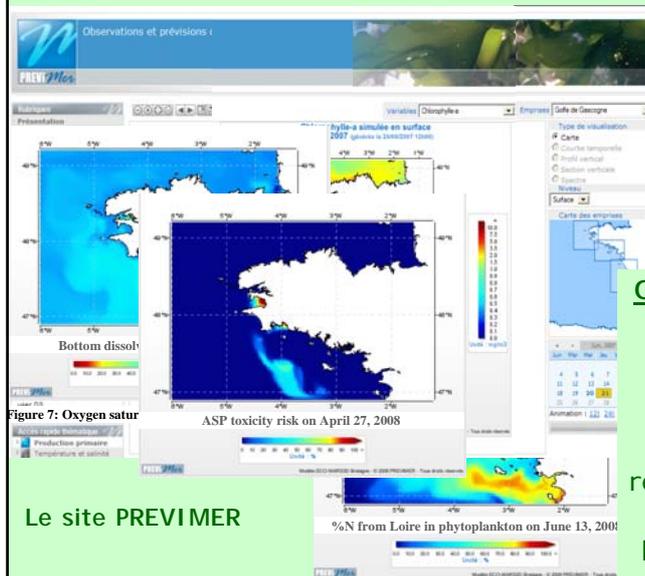
**The EUTRISK index**  
(Druon et al., 2004)



**Objectif:** quantifier l'eutrophisation potentielle du plateau continental européen

**Outil nécessaire:** Modèle hydrodynamique réaliste du plateau et évolution saisonnière de la chlorophylle par satellite

## Modèles de prévisions en ligne



Le site PREVIMER

The real-time models of the European shelf can display risky features on line

**Objectif:** Prévoir à court terme les descripteurs écologiques critiques

**Outils nécessaires:** couplage de modèles réalistes hydrodynamiques et biogéochimique du plateau avec les modèles météo et de B.V.

## CONCLUSIONS

- L'eutrophisation de certaines zones côtières du territoire de la DCSM va se maintenir sur le moyen terme d'où la nécessité de poursuivre la surveillance au regard de la définition du BEE avec de nouveaux outils et surtout des outils adaptés à l'emprise du vaste territoire de la DCSM . On retiendra en première approche:
- L'imagerie satellite pour disposer d'une couverture régulière et synoptique de la biomasse phytoplanctonique.
- Des bouées automatiques pour détecter les déficits aigus d'oxygène dissous au voisinage du fond
- Des modèles biogéochimique 3D pour :
  - comprendre la situation passée
  - faire de l'évaluation en temps quasi réel de l'état du territoire de la DCSM
  - Réaliser des scénario d'évaluation des effets de réduction des apports pour faciliter la prise de mesures correctives

**Patrick Camus, Ifremer La Trinité**

La prise en compte de la production primaire et du phytoplancton dans l'Evaluation Initiale et la définition du Bon Etat Ecologique de la Directive Cadre Stratégie Marine pour le milieu Marin

**Nominee and confirmed experts for task groups JRC/ICES**  
on development of criteria and methodological standards for GES - MSFD

Contracting Party: **FRANCE**

Head of Delegation: **MEEDDAT - DEB – LEM - Paris**

31 march 2009

GES descriptor	Name of nominee experts task group JRC ICES
(1) Biological diversity is maintained. The quality and occurrence of habitats and the distribution and abundance of species are in line with prevailing physiographic, geographic and climatic conditions.	-
(2) Non-indigenous species introduced by human activities are at levels that do not adversely alter the ecosystems.	P. GOULLETQUER
(3) Populations of all commercially exploited fish and shellfish are within safe biological limits, exhibiting a population age and size distribution that is indicative of a healthy stock.	B. MIGNON
(4) All elements of the marine food webs, to the extent that they are known, occur at normal abundance and diversity and levels capable of ensuring the long-term abundance of the species and the resilience of their reproductive capacity.	V. TRENKEL
(5) Human-induced eutrophication is minimised, especially adverse effects thereof, such as losses in biodiversity, ecosystem degradation, harmful algae blooms and oxygen deficiency in bottom waters.	A. MENESGUEN
(6) Sea-floor integrity is at a level that ensures that the structure and functions of the ecosystems are safeguarded and benthic ecosystems, in particular, are not adversely affected.	P. LORANCE
(7) Permanent alteration of hydrographical conditions does not adversely affect marine ecosystems.	-
(8) Concentrations of contaminants are at levels not giving rise to pollution effects.	J. TRONCZINSKY
(9) Contaminants in fish and other seafood for human consumption do not exceed levels established by Community legislation or other relevant standards.	A. ABARNOU
(10) Properties and quantities of marine litter do not cause harm to the coastal and marine environment.	
(11) Introduction of energy, including underwater noise, is at levels that do not adversely affect the marine environment.	

Légende : En bleu les descripteurs classés en priorités 1 de travail par le JRC et en jaune les priorités 2



# La modélisation écologique 3D de la façade Manche-Atlantique pour comprendre et prévoir les nuisances de l'eutrophisation.

1. Détermination du rôle de chaque fleuve
2. Prévision de Pseudo-Nitzschia

*Alain Ménesguen, Morgan Dussauze, Cédric Pénard Ifremer/Brest  
Jacky Chauvin (Ifremer/LER La Trinité)  
Dominique Le Gal (Ifremer/LER Concarneau)*

Journées REPHY, Nantes, 01/04/2009

## But :

### répondre à 3 questions récurrentes

- Peut-on prévoir et cartographier en temps réel l'apparition de zones hypoxiques et celle d'espèces phytoplanctoniques toxiques ?
- Quand plusieurs panaches de fleuves se superposent dans une zone côtière, peut-on évaluer l'impact de chacun sur un bloom ?
- Quel serait l'effet sur l'eutrophisation planctonique de réductions d'apports nutritifs par un ou plusieurs bassins versants ?

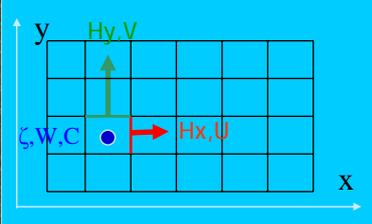
Journées REPHY, Nantes, 01/04/2009

## Le modèle ECO-MARS3D

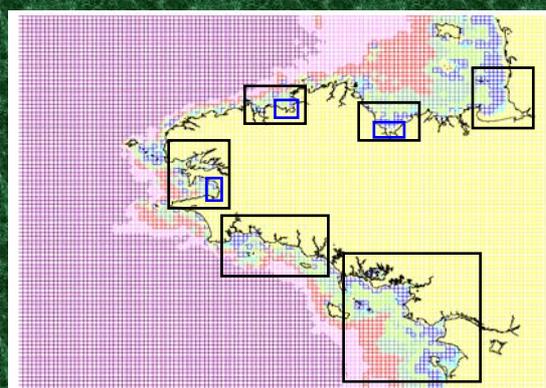
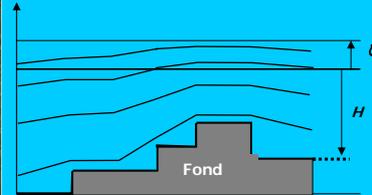
Journées REPHY, Nantes, 01/04/2009

## Le moteur hydrodynamique MARS-3D

Grille régulière NSEW, maille carrée



10 couches  $\sigma$  relatives



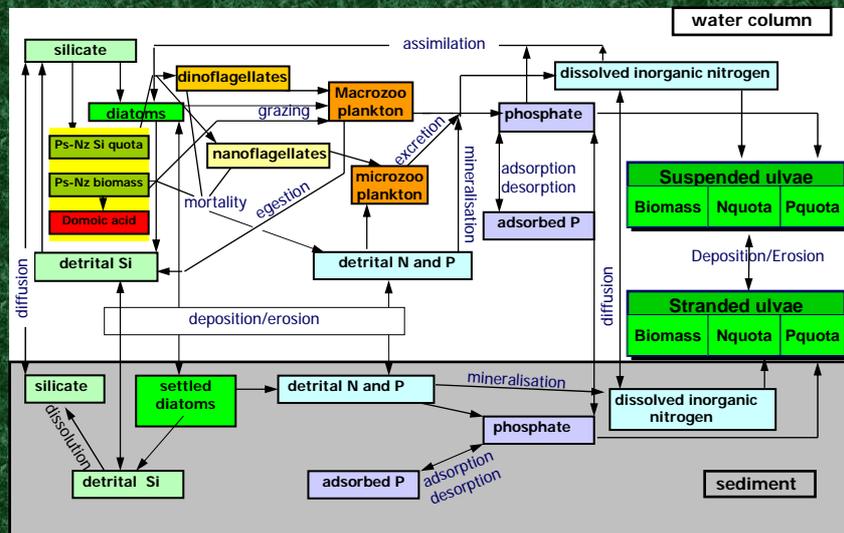
Grille de base  $\rightarrow$  mailles 3x3 km

Grilles pour zones côtières  $\rightarrow$  mailles 500x500 m

Grilles fines pour anses et estuaires  $\rightarrow$  mailles 100x100m

Journées REPHY, Nantes, 01/04/2009

## Le module biogéochimique MODECOGEN

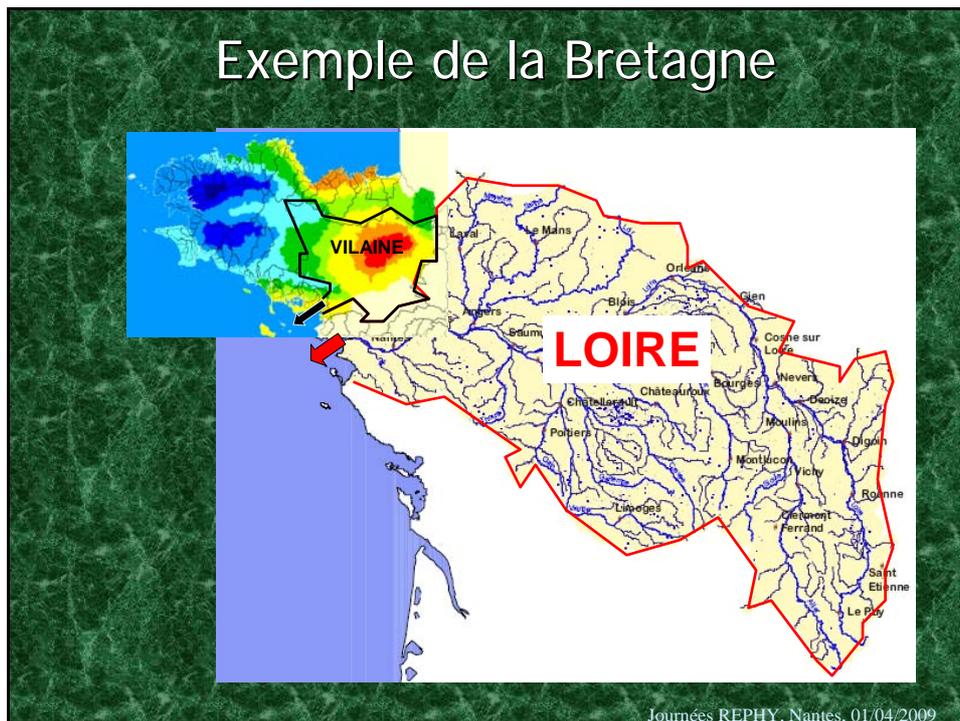


Journées REPHY, Nantes, 01/04/2009

Détermination de la zone d'influence marine de chaque bassin versant : son « bassin récepteur »

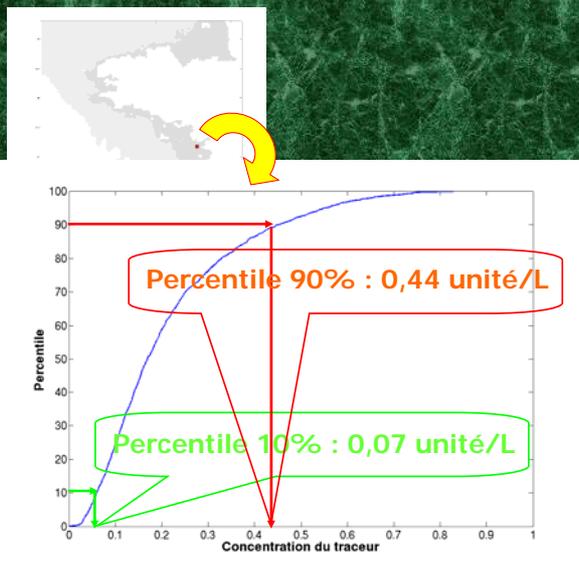
Journées REPHY, Nantes, 01/04/2009

## Exemple de la Bretagne



### Objectif 1: Méthode statistique utilisée

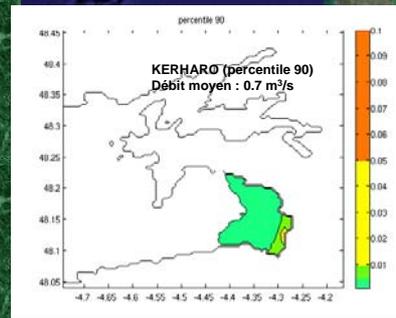
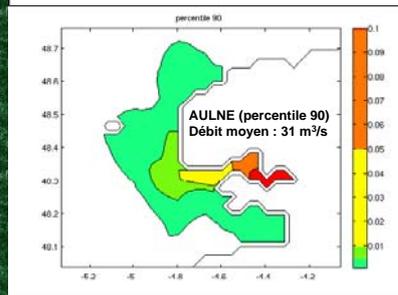
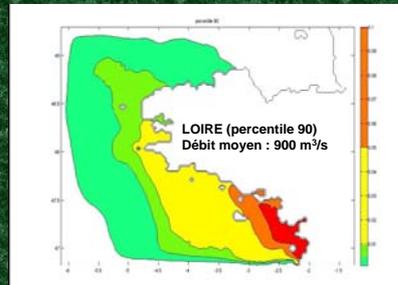
On injecte en continu à concentration 1 un traceur conservatif dans la rivière



- Sur la période 2001, 2002 et 2003, le modèle fournit 3x365 valeurs journalières de traceur pour chaque maille de surface
- Pour chaque maille, on calcule la fonction de répartition de ces 1085 valeurs
- On en déduit la médiane et les percentiles 10% et 90%
- On cartographie séparément la médiane et les 2 percentiles

Journées REPHY, Nantes, 01/04/2009

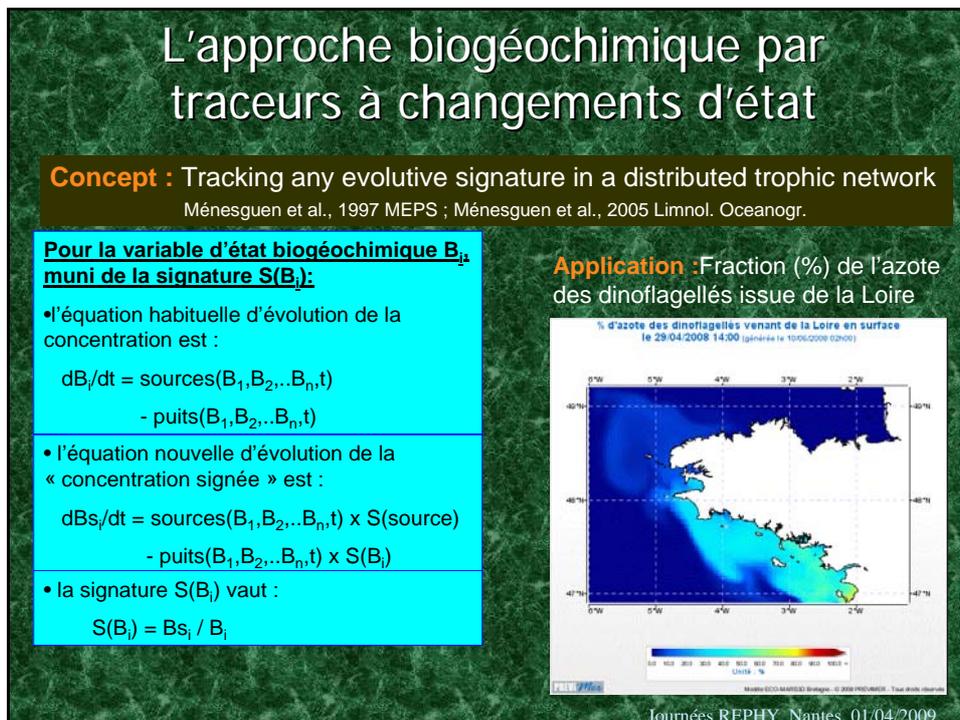
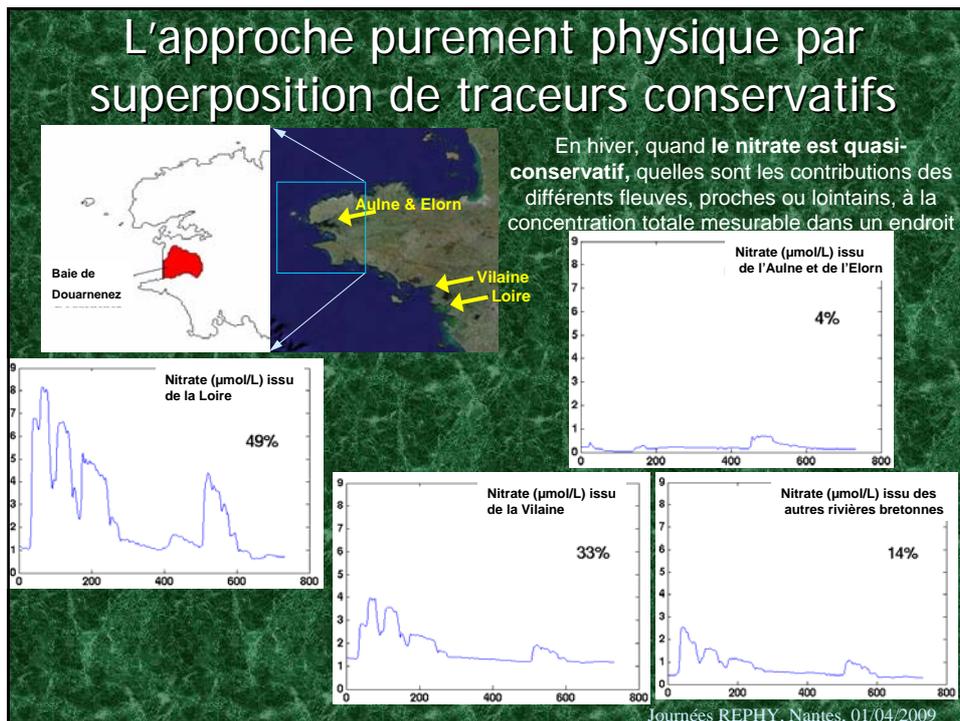
## Exemples de résultats concernant la Baie de Douarnenez



Journées REPHY, Nantes, 01/04/2009

Evaluation du rôle respectif  
de chaque panache de fleuve

Journées REPHY, Nantes, 01/04/2009



**Alain Ménesguen**, Ifremer Brest

La modélisation écologique 3D de la façade Manche-Atlantique pour comprendre et prévoir les nuisances de l'eutrophisation

## Prévision en temps réel d'effets toxiques de l'eutrophisation

Journées REPHY, Nantes, 01/04/2009

Le site web opérationnel  
<http://www.previmer.org>

**Emprise:**  
La mer côtière bretonne,  
du Couesnon à la Loire

**BIENTÔT: des zooms  
calculés à 500m**

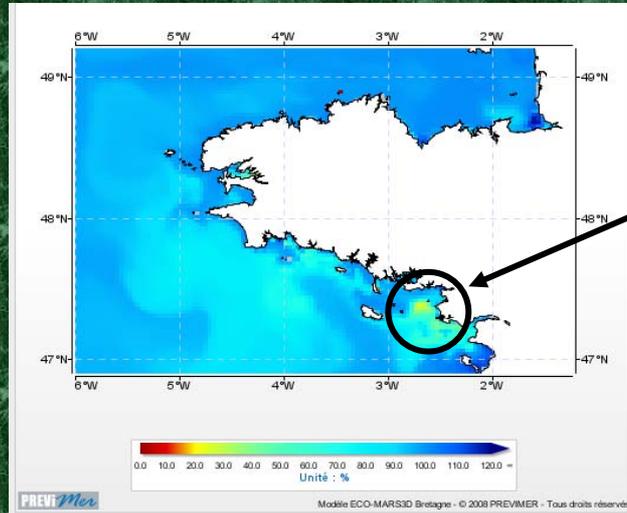
**Variables présentées:**  
- **Mesurées par satellite (surface):**  
Température, Chloro totale  
- **Simulées (surface & fond):**  
Température, salinité, nitrate,  
phosphate, silicate, diatomées,  
dinoflagellés, nanoflagellés, (chloro  
totale), (MES), % azote de la Loire,  
**Pseudo-Nitzschia et risque ASP,**  
**oxygène dissous**

**Calendrier :**  
- Jours J et J+1  
- Tous les jours depuis le  
15/05/2007  
- Animations 12, 24 et 48 j

**Alain Ménesguen, Ifremer Brest**

La modélisation écologique 3D de la façade Manche-Atlantique pour comprendre et prévoir les nuisances de l'eutrophisation

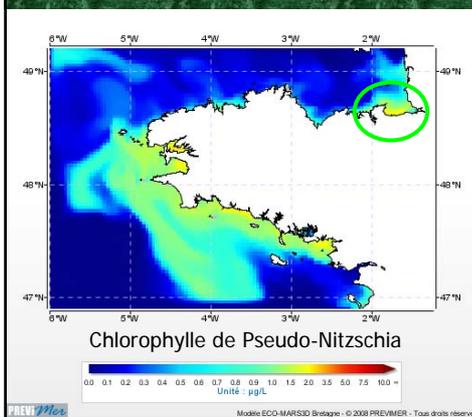
## Alerte à l'hypoxie le 27 Juillet 2007



Saturation au fond : 20%

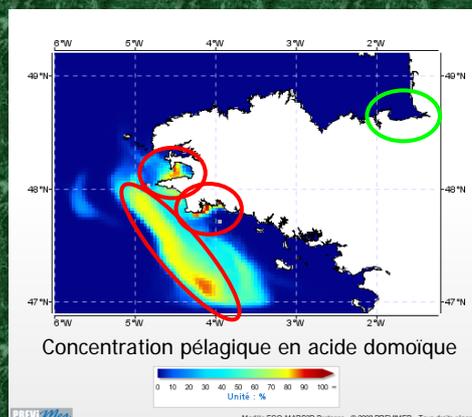
Journées REPHY, Nantes, 01/04/2009

## Alerte ASP le 12 Mai 2008



Chlorophylle de Pseudo-Nitzschia

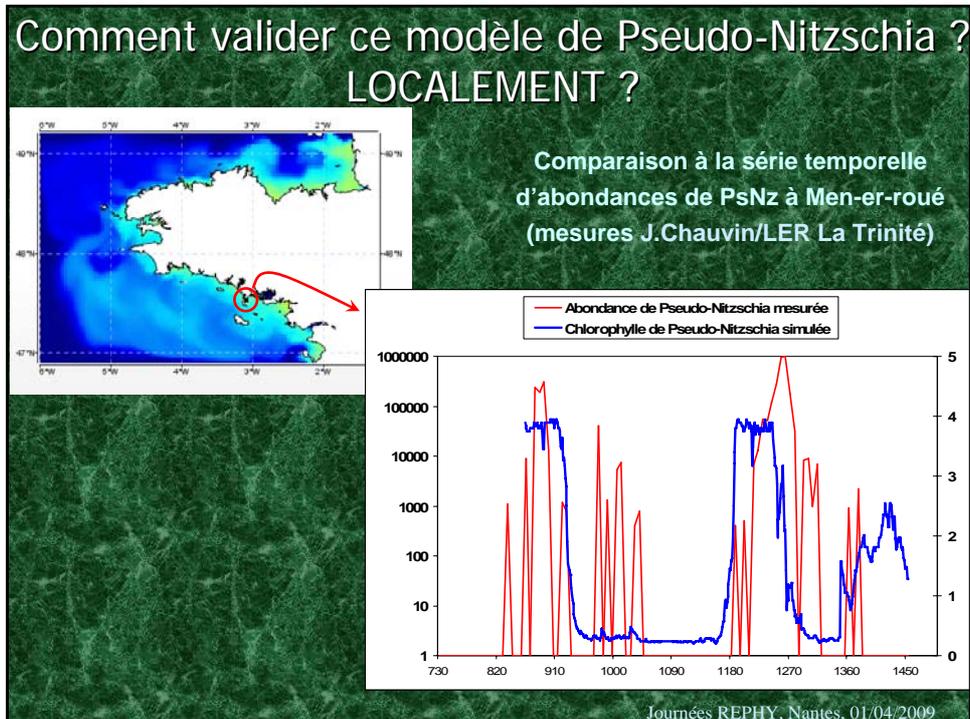
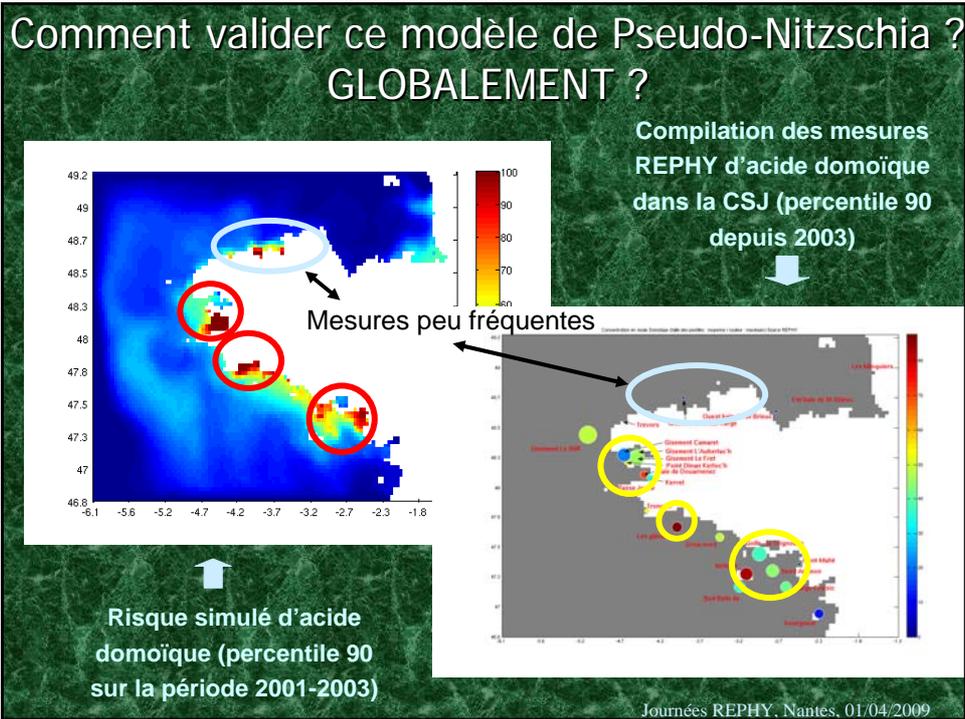
PREVI Mes Modèle ECO-MAR3D Bretagne - © 2008 PREVMER - Tous droits réservés

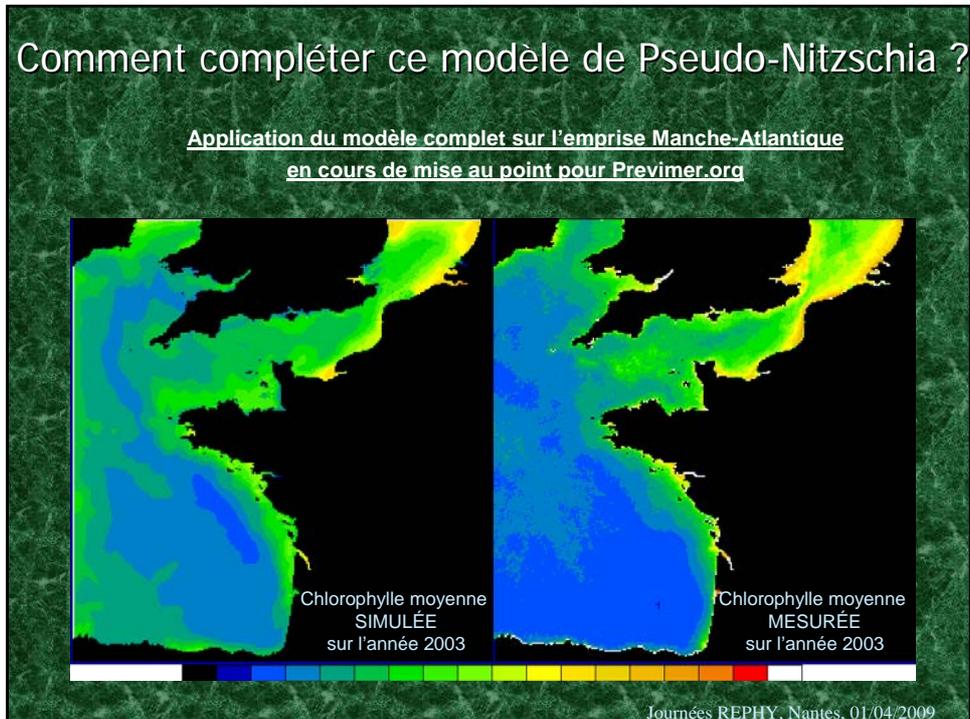
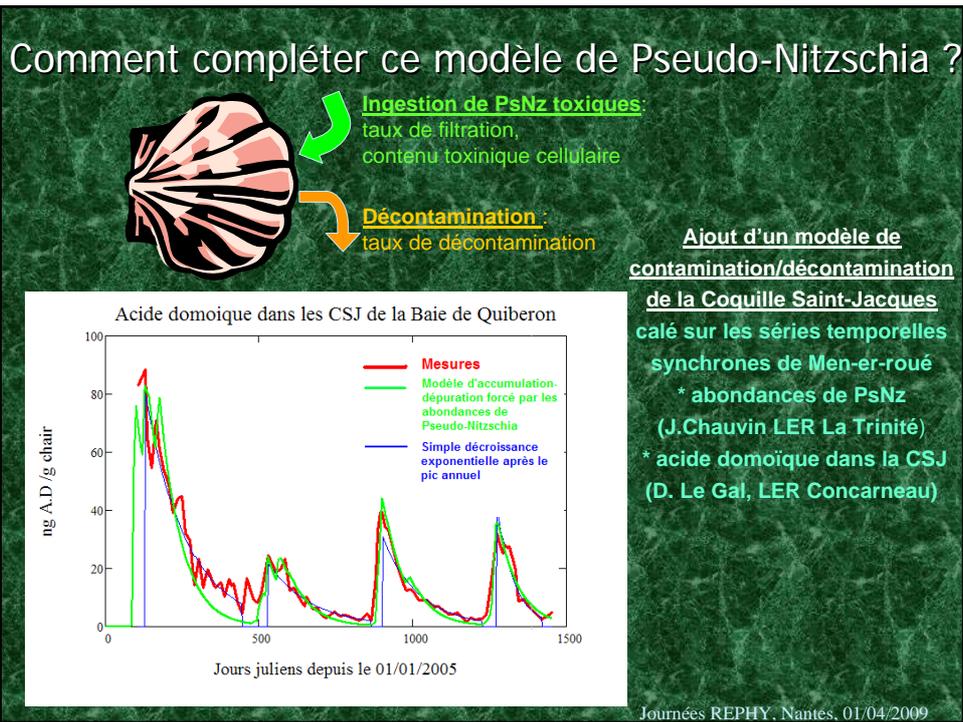


Concentration pélagique en acide domoïque

PREVI Mes Modèle ECO-MAR3D Bretagne - © 2008 PREVMER - Tous droits réservés

Journées REPHY, Nantes, 01/04/2009





## CONCLUSION

- L'**eutrophisation** de plusieurs régions côtières françaises est un **phénomène multisource**, qui va continuer encore longtemps. Les modèles écologiques 3D peuvent aider à déterminer précisément dans l'espace et le temps **les apports de nutriments les plus responsables**.
- Les modèles hydrodynamiques suffisent pour **délimiter l'extension statistique du bassin récepteur marin d'un bassin versant**.
- Les modèles éco-hydrodynamiques peuvent **tracer le cheminement d'un élément chimique issu d'une source quelconque dans le réseau trophique global, et sur l'ensemble du domaine physique**.
- Aujourd'hui, les **modèles 3D opérationnels biogéochimiques étendus à tout le plateau continental** commencent à fournir quotidiennement sur Internet:
  - une prévision temps réel de descripteurs-clés de l'eutrophisation: oxygène dissous, chlorophylle totale, abondances d'espèces toxiques, teneur des coquillages en toxines
  - des archives quotidiennes sur plusieurs années, permettant la création de situations moyennes, et des situations théoriques de référence...

Journées REPHY, Nantes, 01/04/2009

***L'imagerie satellitaire au service de la surveillance D.C.E  
Perspective à 2 ans***

***F. Gohin\*, B. Saulquin\*\*, M.M. Danielou\****

***\*DYNECO/PELAGOS***

***\*\*Telecom Brest***

*Journées Rephy 2009*



**Données de l'espace et in situ utilisées pour la surveillance  
de l'environnement côtier à l'Ifremer Brest**

1. Capteurs de la couleur de l'eau : SeaWiFS 1998-2004, MODIS 2002-, MERIS 2006-



Chlorophylle, MES minérales et turbidité déduite de la radiance marine après application d'algorithmes adaptés au côtier

2. Capteurs infra-rouges et  $\mu$ -ondes : Température de l'AVHRR/Pathfinder 1986-2006, AATSR, SEVIRI, origine MétéoFrance

3. Données in situ

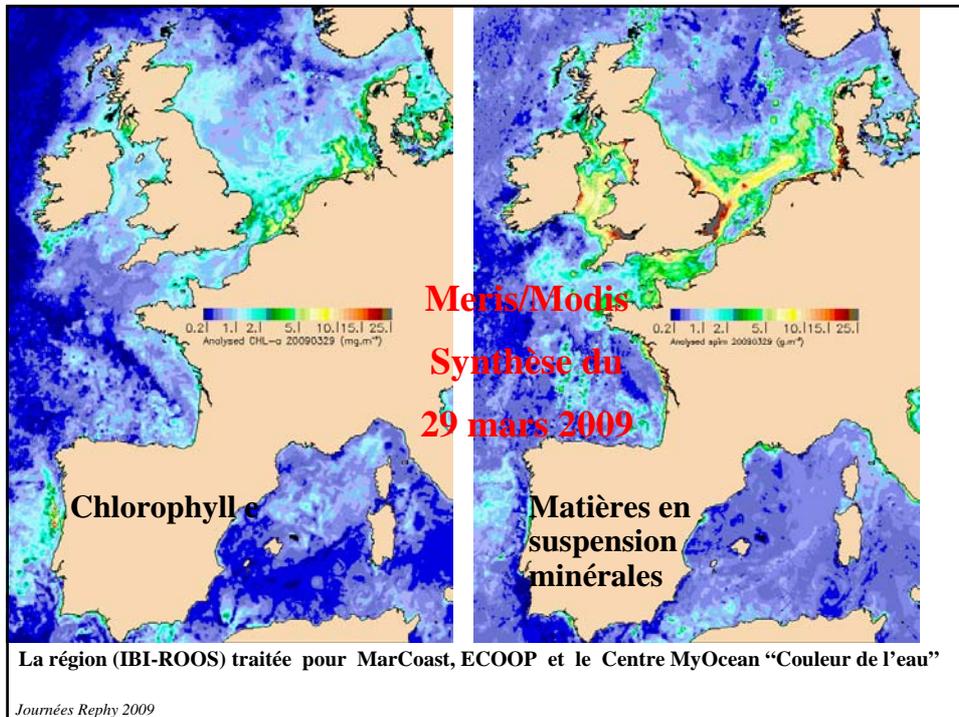
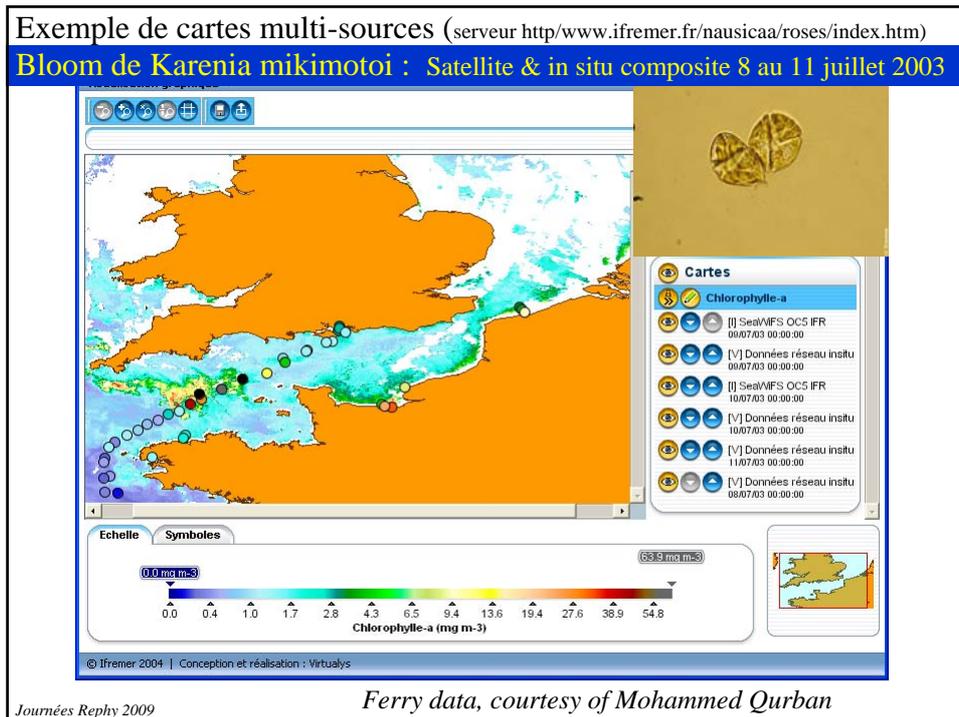
Chlorophylle, turbidité, TSM : REPHY (Ifremer) + Réseaux associés (RHLN, SRN) et Somlit (CNRS) Temps différé

Le système ROSLIT de stations côtières: les bouées MAREL



Ferries et campagnes sont aussi utiles mais faible échantillonnage

*Journées Rephy 2009*



**Pour l'application DCE : Le percentile 90 de la chlorophylle a été choisi comme critère du risque d'eutrophisation**

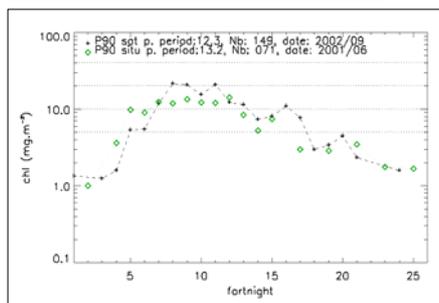
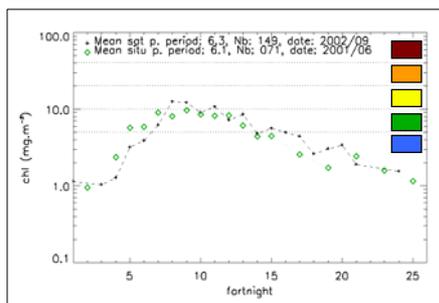
*Le percentile 90 correspond à la dixième valeur en niveau sur un échantillon de cent*

Niveaux proposés en 2007		percentile 90 chlorophyll ( $\mu\text{g/l}$ )				
		High	Good	Moderate	Poor	Bad
North Sea	Mar-Oct	0 - 10	10 - 15	15 - 20	20 - 40	> 40
Channel & Atlantic	Mar-Oct	0 - 5	5 - 10	10 - 20	20 - 40	> 40
West Mediterranean	Jan-Dec	0 - 2	2 - 4	4 - 8	8 - 16	> 16
East Mediterranean + Corsica	Jan-Dec	0 - 1	1 - 2	2 - 4	4 - 8	> 8
Mediterranean lagoons	Jun-Aug	0 - 5	5 - 10	10 - 20	20 - 40	> 40

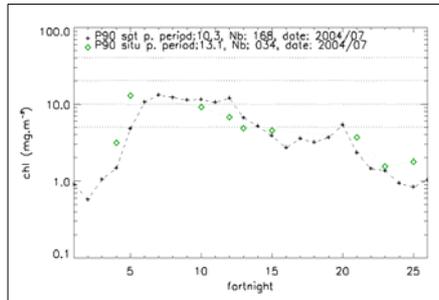
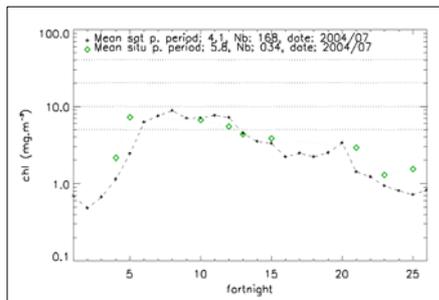
*Une étude réalisée dans le projet MarCoast*

Journées RePHY 2009

Stations Type "Pic printanier" : Validation: moyennes Chl-a par quinzaine : Boulogne Point 2 du transect

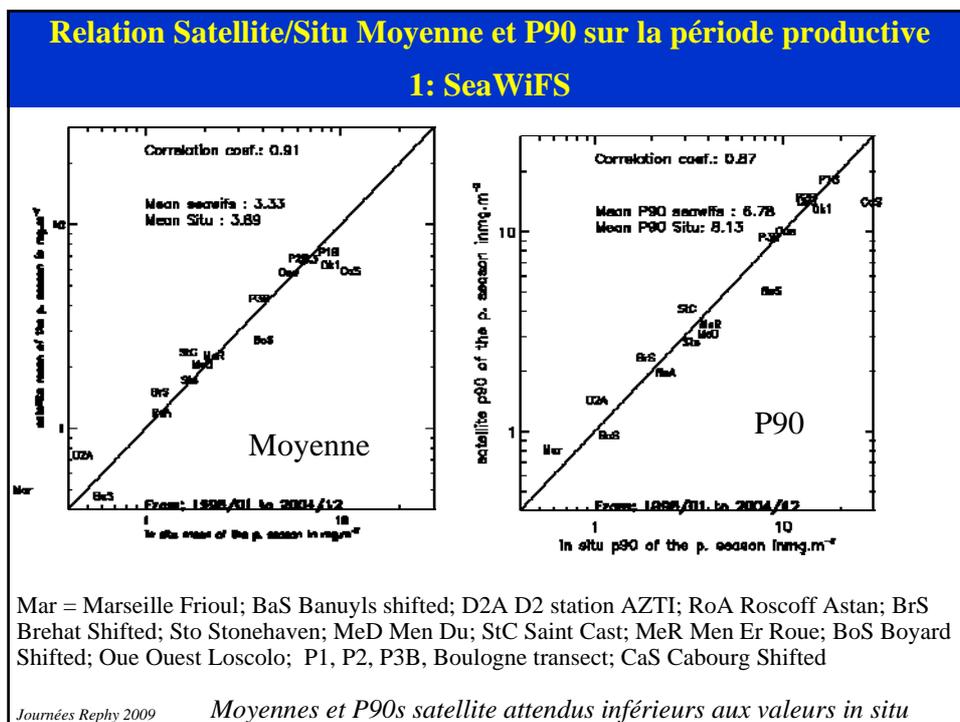
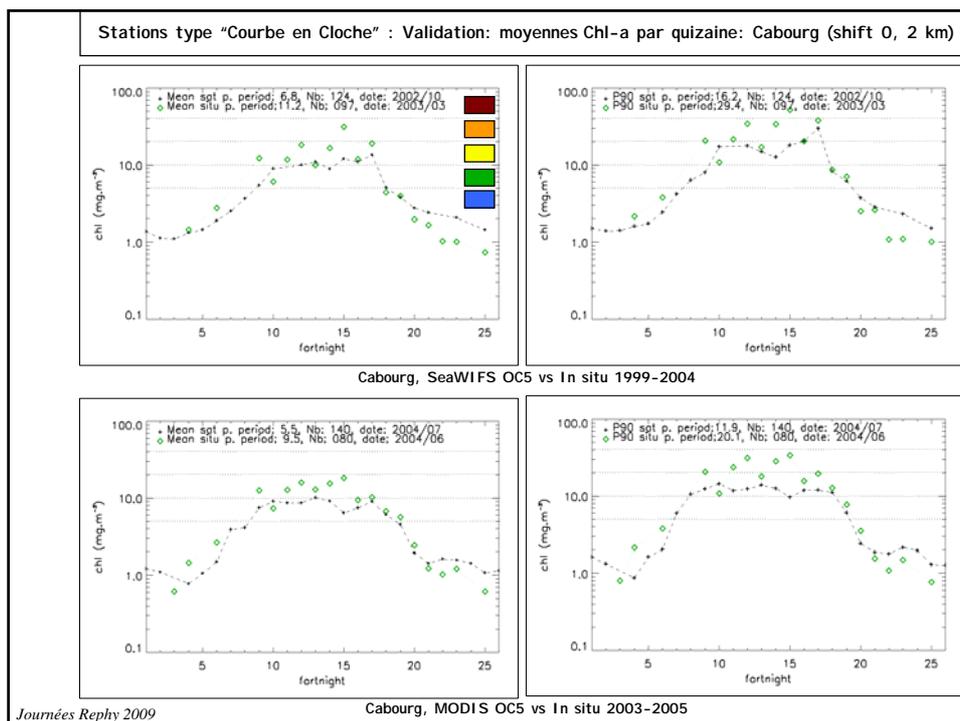


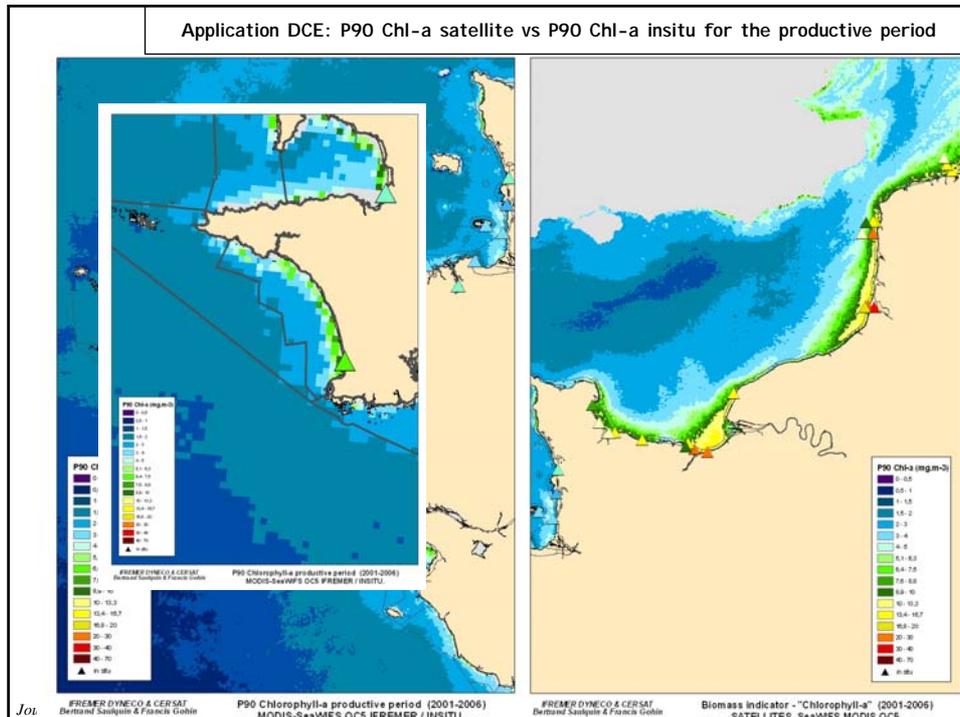
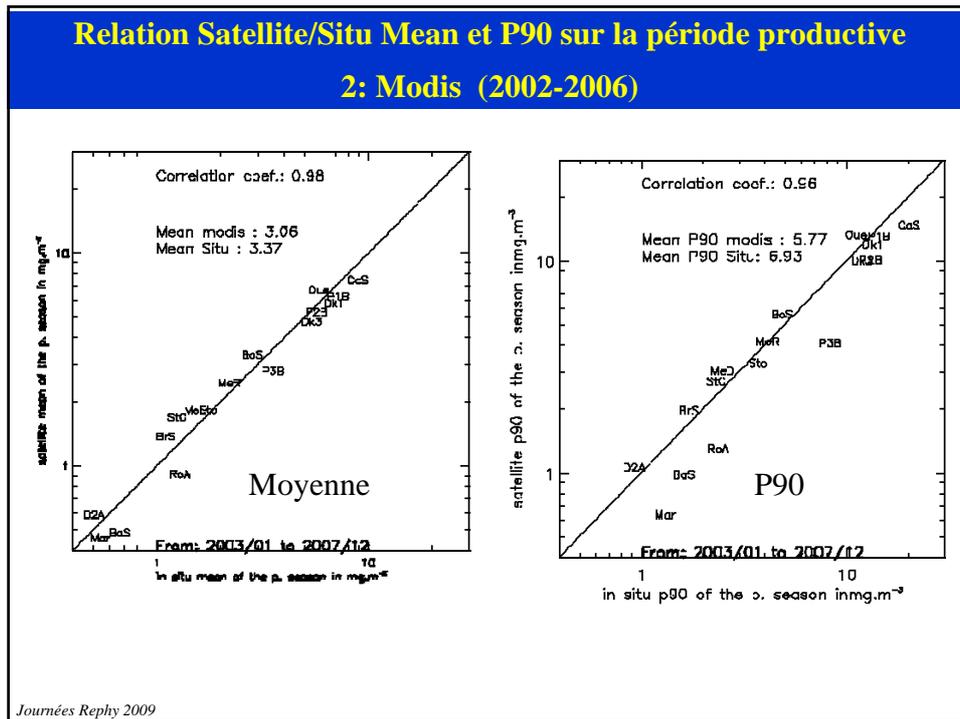
Boulogne point 2, SeaWiFS OC5 vs In situ 1999-2004

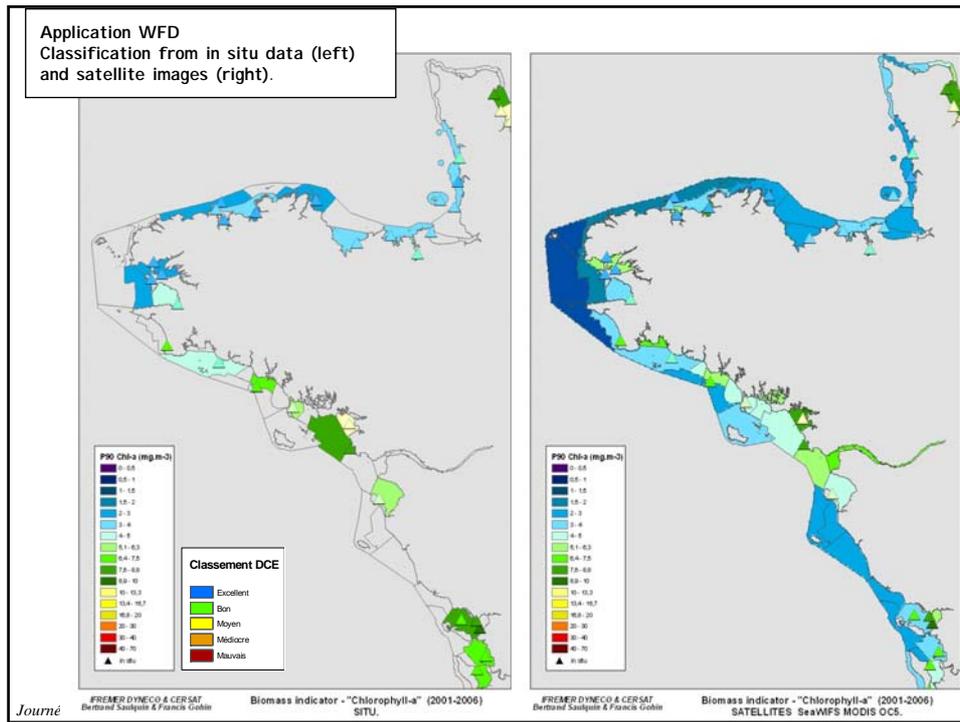


Boulogne point 2, MODIS OC5 vs In situ 2003-2005

Journées RePHY 2009

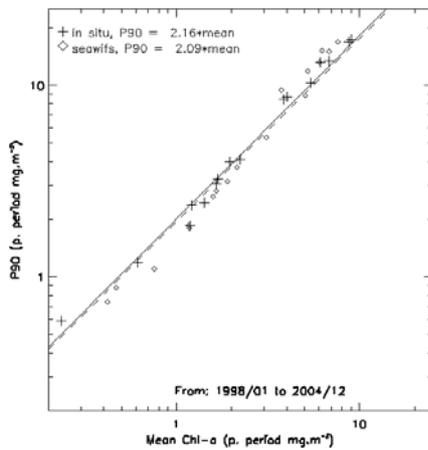




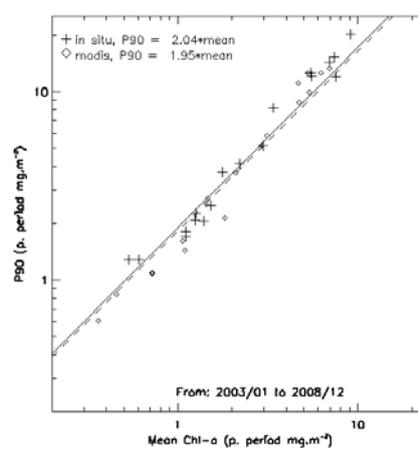


Un résultat intéressant : La relation observée entre le P90 et la moyenne

SeaWiFS 1998-2004



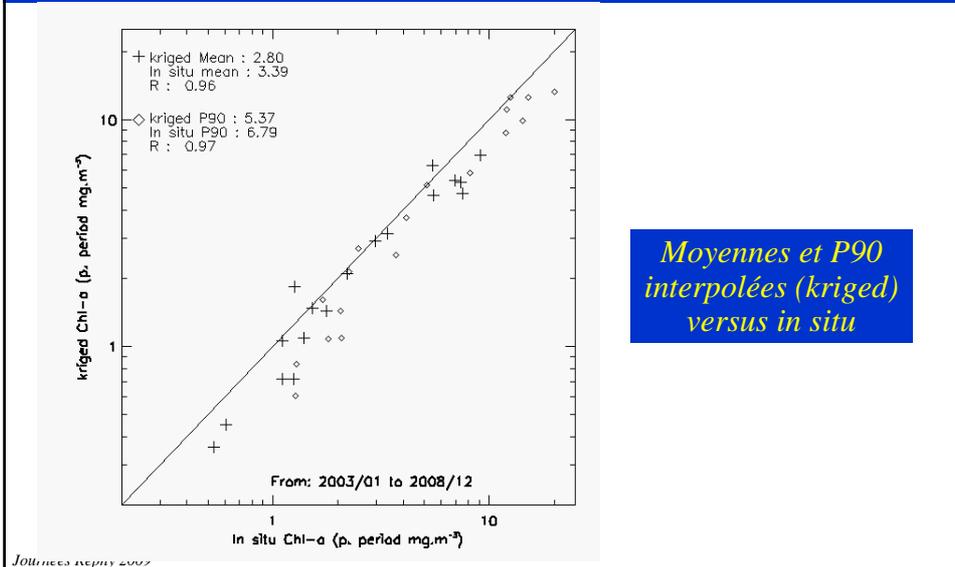
Modis 2002-2008



En abscisse : Moyenne in situ et satellite

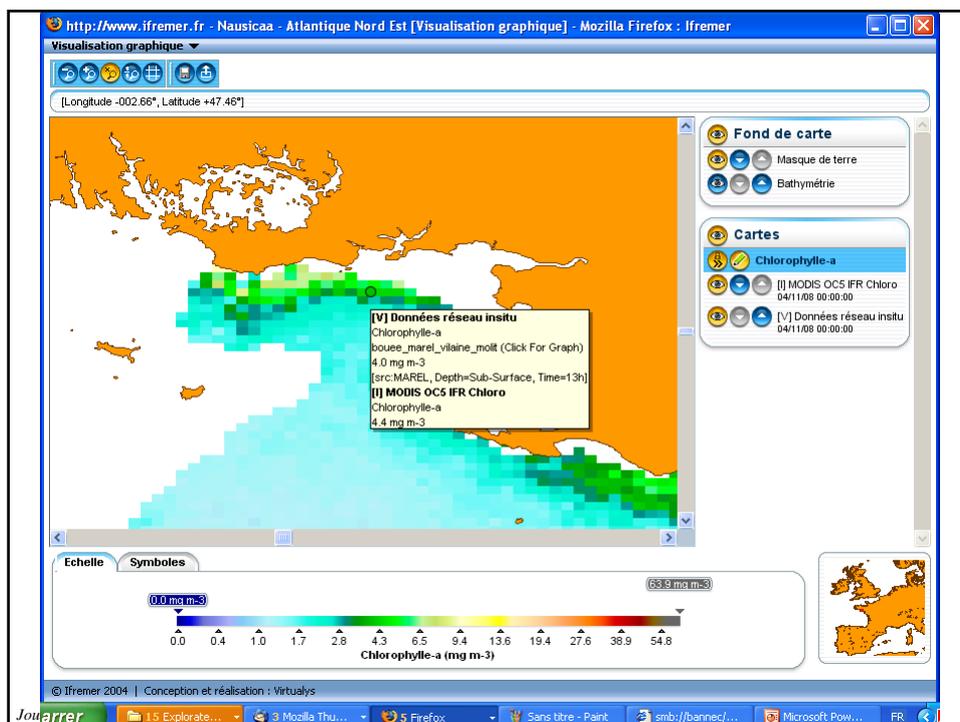
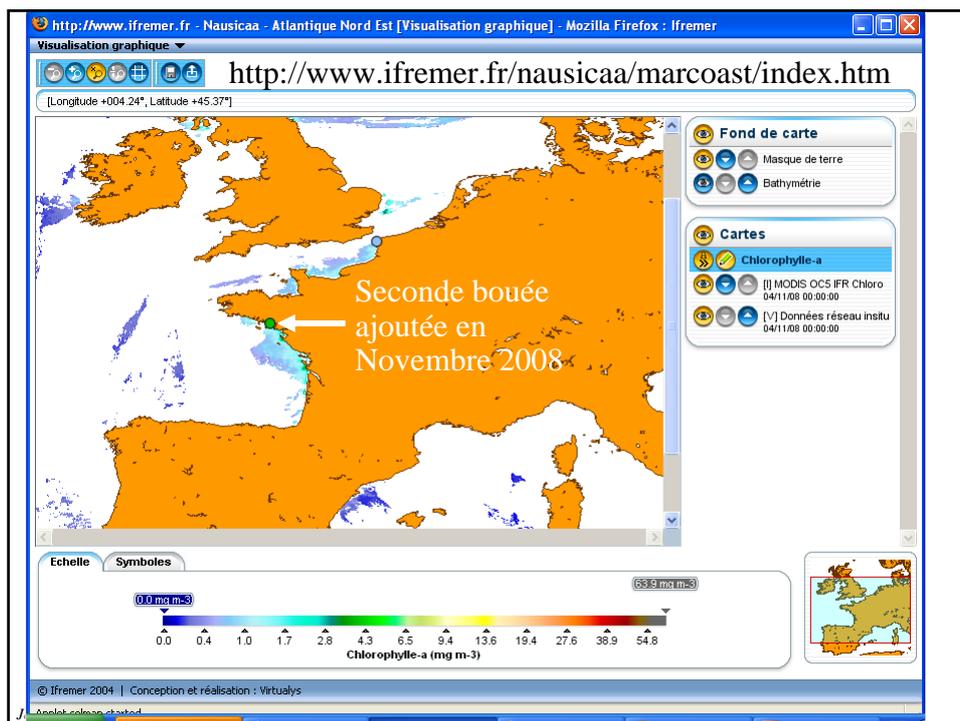
*Journées RePHY 2009*

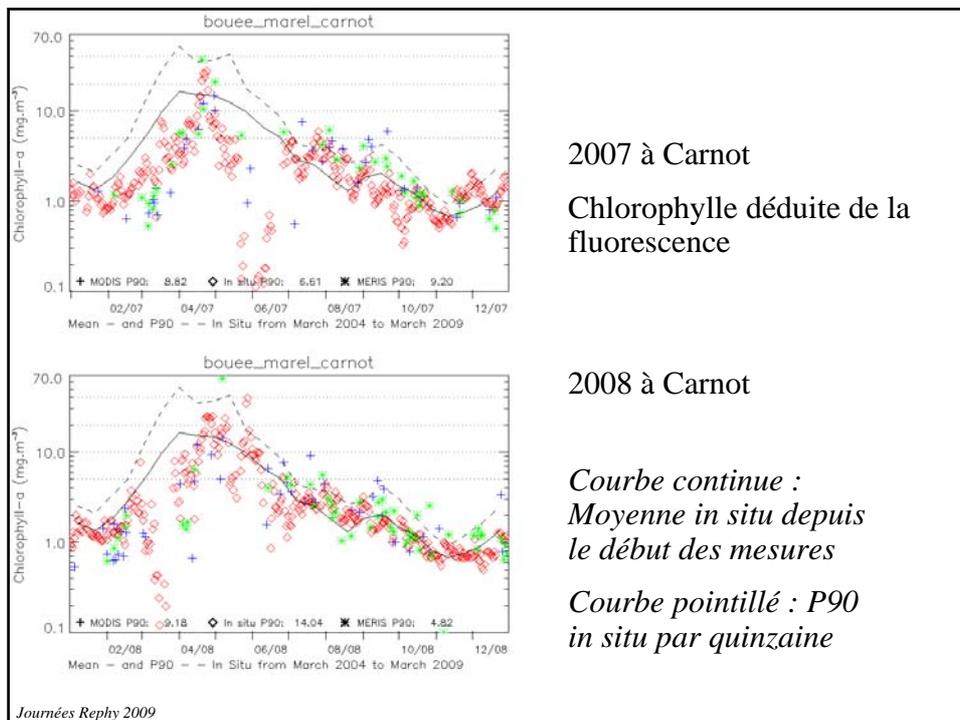
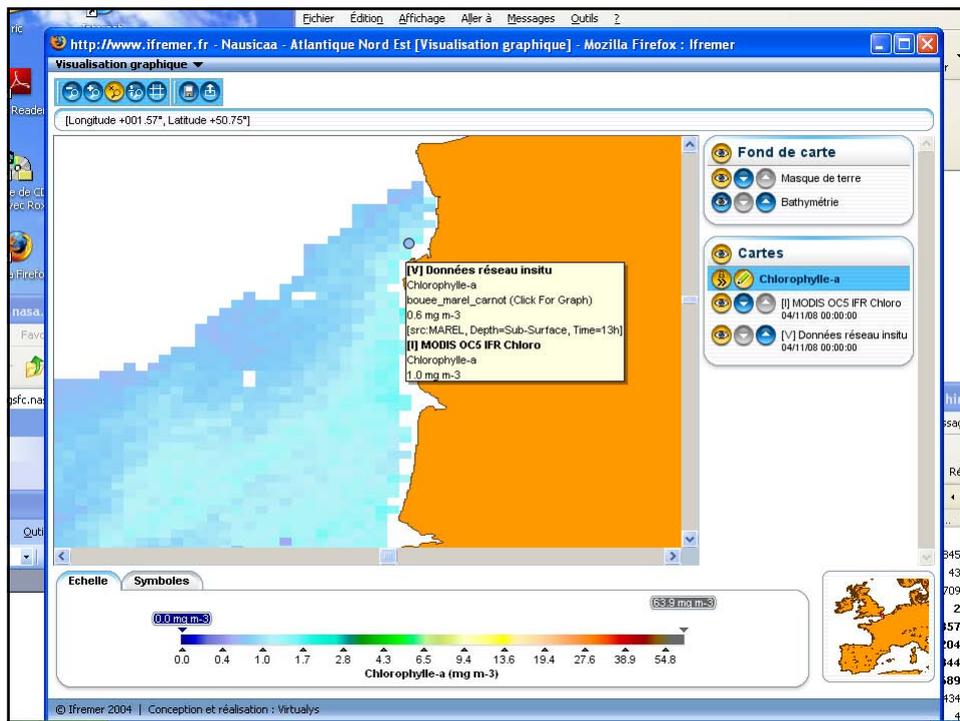
*Si le P90 est lié par une loi simple à la moyenne, alors la valeur moyenne étant "mieux" estimée par l'atlas quotidien que par les mesures in situ (meilleure fréquence temporelle) les valeurs de l'atlas pourraient servir de référence, pour le calcul du P90. A tester!*



*Moyennes et P90  
interpolées (kriged)  
versus in situ*

## Integration des données des stations dans le serveur d'images Quelques résultats





## Conclusions

**1) Les données de l'espace sont utiles pour le suivi DCE et le seront pour la Stratégie Marine Européenne**

Trois paramètres sont accessibles : Température, Chl, Turbidité (Thèse)

**2) Un atlas quotidien des concentrations en chlorophylle et des matières en suspension de surface a été réalisé. Il a**

nécessité une intercalibration des capteurs, eux-mêmes calés sur les données in situ. Bien qu'entachés de toutes les erreurs liées à la méthode, ces champs ont une meilleure couverture temporelle que les mesures in situ. Ces cartes sont à exploiter.

**3) Intégration dans un système de surveillance**

-En amont : Les données in situ sont la référence. La généralisation et l'automatisation des comparaisons portant sur les trois paramètres T.T.C. aux stations (moyenne, P90) est toujours une priorité.

- En aval, seuls les modèles permettront d'évaluer les effets d'une politique de reconquête de la qualité des eaux. Les approches doivent rester similaires

*Journées RePHY 2009*

## Épisodes de toxicité liés à des efflorescences phytoplanctoniques



### *Répartition géographique*

## Harmful Algal Bloom Programme

- **UNESCO**  
United Nations Educational Scientific and Cultural Organization
- **IOC**  
Intergouvernemental Oceanographic Commission
- **HAB**  
Harmful Algal Bloom Programme



## Harmful Algal Bloom Programme

- Trois missions :
  - Soutien à la recherche sur le déterminisme des efflorescences
  - Formation, assistance à la détermination des espèces phytoplanctoniques et intercalibration
  - Gestion de données sur les efflorescences



3

Journées REPHY 2009

Alain Le Magueresse / DYNECO

## HAIS et HAEDAT

- Harmful Algal Event Information System
  - Taxonomic Reference List of Harmful Micro Algae
  - HAEDAT database containing records of harmful algal events
  - [Decadal Maps for the North Atlantic](#)
  - Répertoire des experts
  - Bibliographic HAB Data-base



4

Journées REPHY 2009

Alain Le Magueresse / DYNECO

## Cartographie 1993 - 2002

- Réalisation confiée à Ifremer
  - Europe de l'ouest
  - Amérique du Nord
- Evénements représentés
  - PSP ou toxines paralysantes
  - DSP ou toxines diarrhéiques
  - ASP ou toxines amnésiantes
  - NSP ou neurotoxines
  - CFP ou ciguatoxines
  - mortalités dans la faune ou la flore
  - toxicité liée aux cyanobactéries
  - azaspiracides



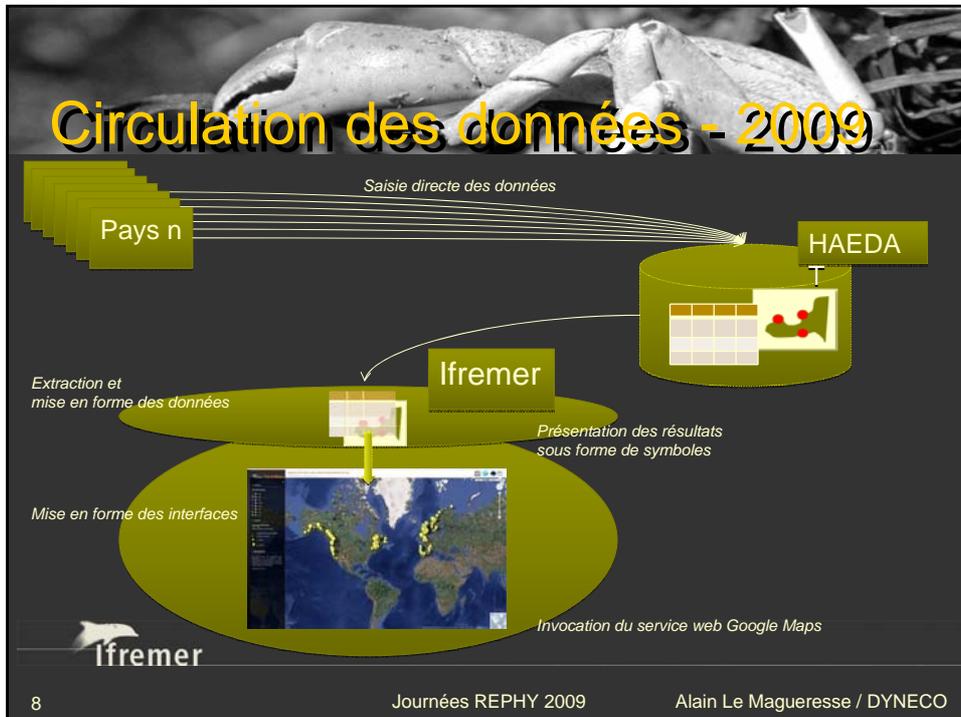
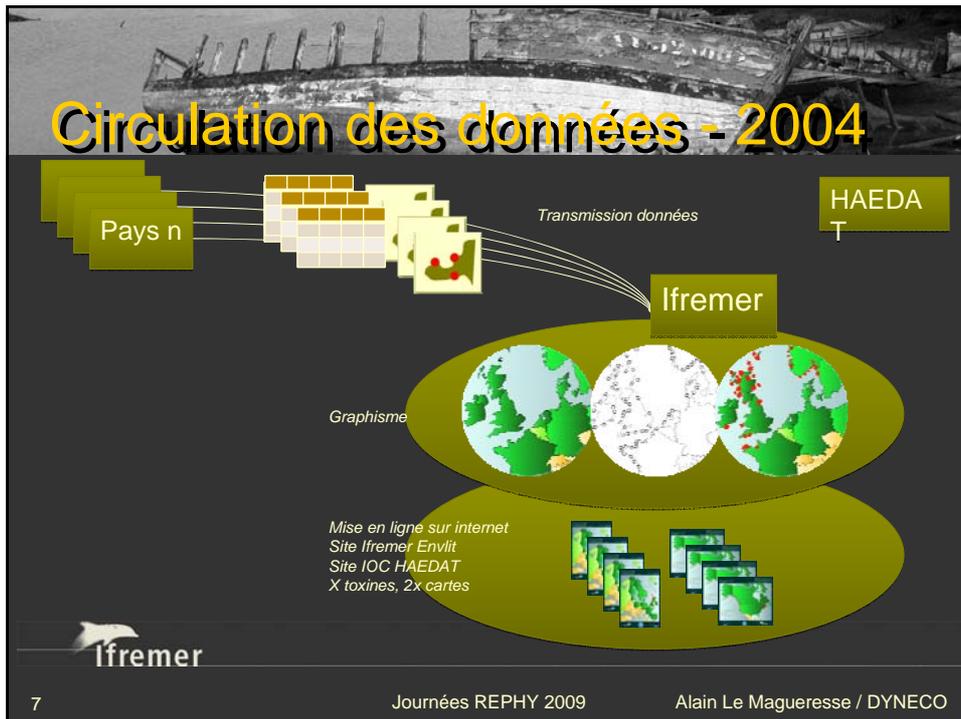
Ifremer

## Cartographie 1993 - 2002

<http://www.ioe.org/haedat/>

<http://wwz.ifremer.fr/var/evnt/storage/documents/dossiers/ciem/ciem-c1.htm>

Ifremer



## Cartographie 2009, un prototype

- Extension
  - Asie, Afrique du nord
- Saisie des données
  - Par les fournisseurs
  - Directement dans HAEDAT
- Cartographie (prototype)
  - Api Google, service web gratuit
    - Trois types de cartes
    - Image du relief océanique
  - Programmation javascript
    - Menus
    - Symbologie



## Conclusions

- Information scientifique
- Mondialisation
- Technologie et coûts

**Alain Le Magueresse**, Ifremer Nantes

Projet HAEDAT / ParamMaps : visualisation cartographique d'épisodes liés aux efflorescences phytoplanctoniques dans le monde



ifremer

A. Chapelle Rephy 2009, Nantes, 1-3 avril 2009

## Forecasting INitiation of blooms of toxic ALgae (Final) un projet Interreg IIIB NWE

sept. 2005 – dec. 2008

SCOTTISH ASSOCIATION for MARINE SCIENCE

National University of Ireland, Galway  
Ollscoil na hÉireann, Gaillimh

NWE ERD

ifremer

A. Chapelle Rephy 2009, Nantes, 1-3 avril 2009

### Les objectifs principaux de Final :

- quel est l'environnement favorable aux événements toxiques à *Alexandrium* et *Pseudo-nitzschia*
- comment les prédire.

E. Nezan

**Prédiction des événements toxiques à *Alexandrium***

Baie de Cork

$$\frac{dX}{dT} = \mu(T,I) - D$$

Estuaire de Penzé

$$\frac{dX}{dT} = F[\mu(T,I) - D]$$

Baie de Cork 2004 - 2007 : 3 événements prédits sur 4  
Bloom après la première vive eau de juin

Estuaire de Penzé 1994 - 2003 : tous les événements toxiques  
prédits (ainsi que les non événements)

Prédiction de blooms toxiques en 2004, 2005, 2006 mais pas  
de toxicité

**Régression logistique sur les données *Alexandrium* en Penzé de 1991 à 2003**

Number of parameters	Best explanatory parameters	Predicted events (on 9 observed)	False positive	False negative
1	water temperature	4	1	5
2	water temperature + runoff	6	1	3
2	water temperature + irradiance	6	1	3
3	water temperature + runoff + irradiance	8	0	1
3	water temperature + irradiance + e-flushing time	9	0	0
4	water temperature + runoff + irradiance + Minimum tide coefficient	9	0	0

**ifremer**

### Régression logistique sur les données *Alexandrium* en Penzé de 1991 à 2007

Model	Predicted events (on 9 observed)	False positive	False negative
# 1	9	3 (2004, 2005, 2006)	0
# 2	9	3 (2004, 2005, 2006)	0

A. Chapelle Rephy 2009, Nantes, 1-3 avril 2009

Changement récent dans le contrôle des blooms toxiques en Penzé :

- Parasitisme : *Amoebophrya*. (Chambouvet *et al.*, 2008)
- Modification du parc aquacole
- Broutage
- Polluants (pesticides)
- Germination des kystes

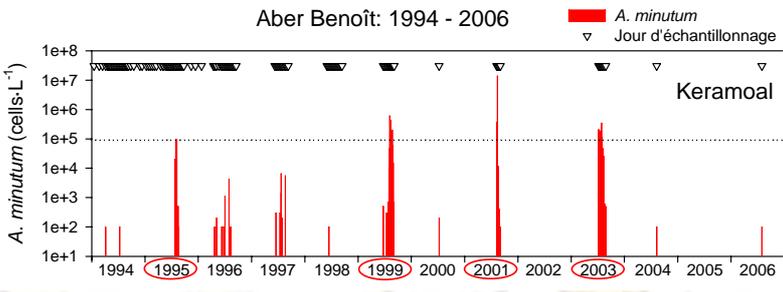
**FINAL**



**ifremer**

### Application à d'autres sites

Aber Benoît: 1994 - 2006

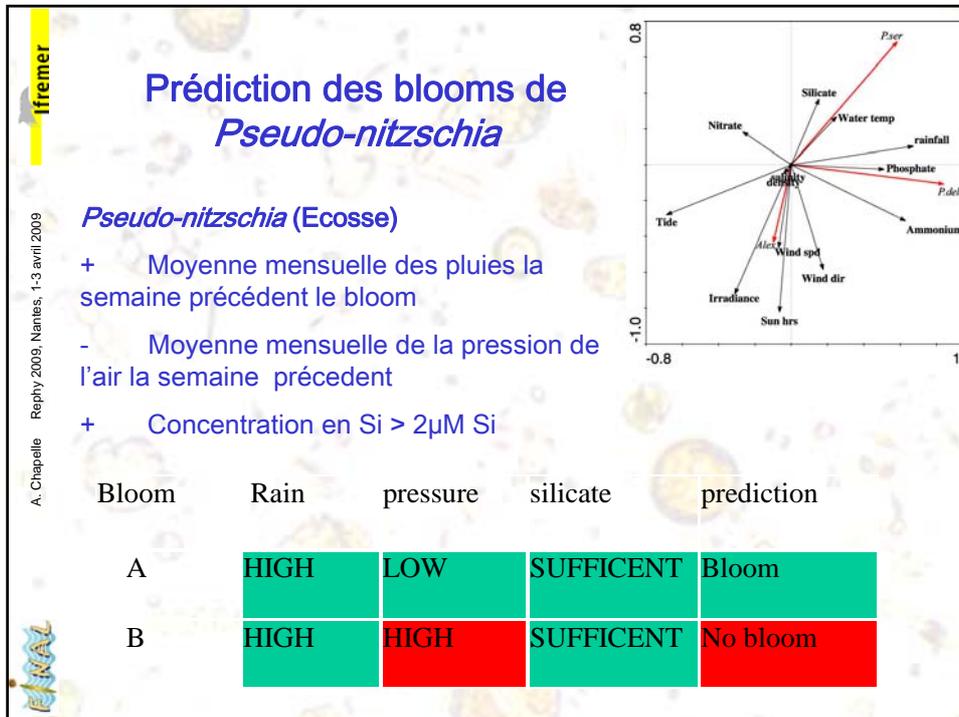
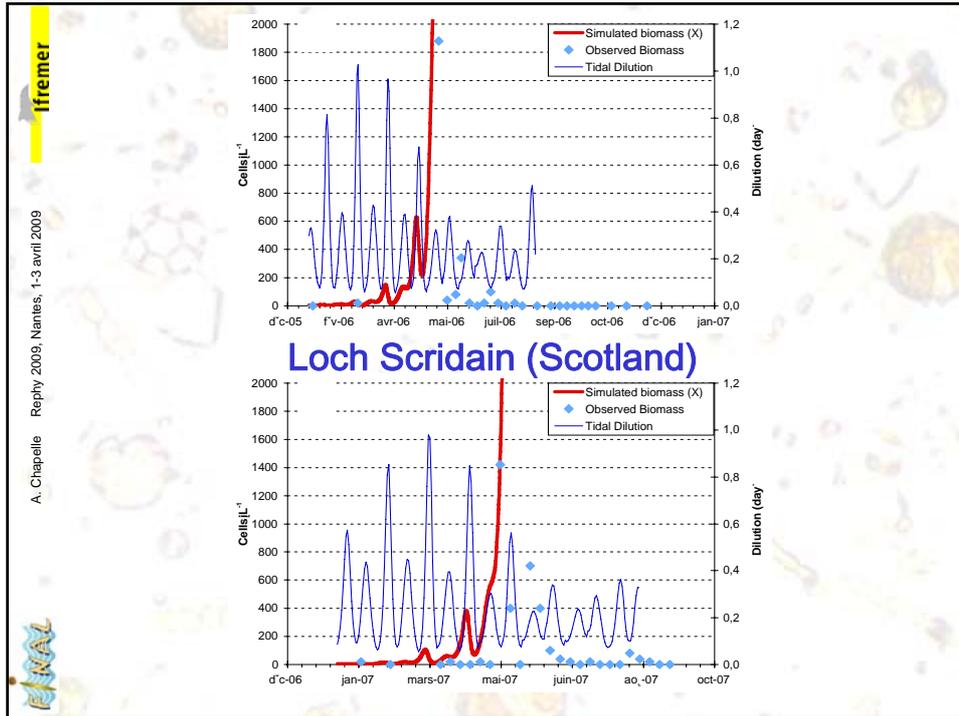


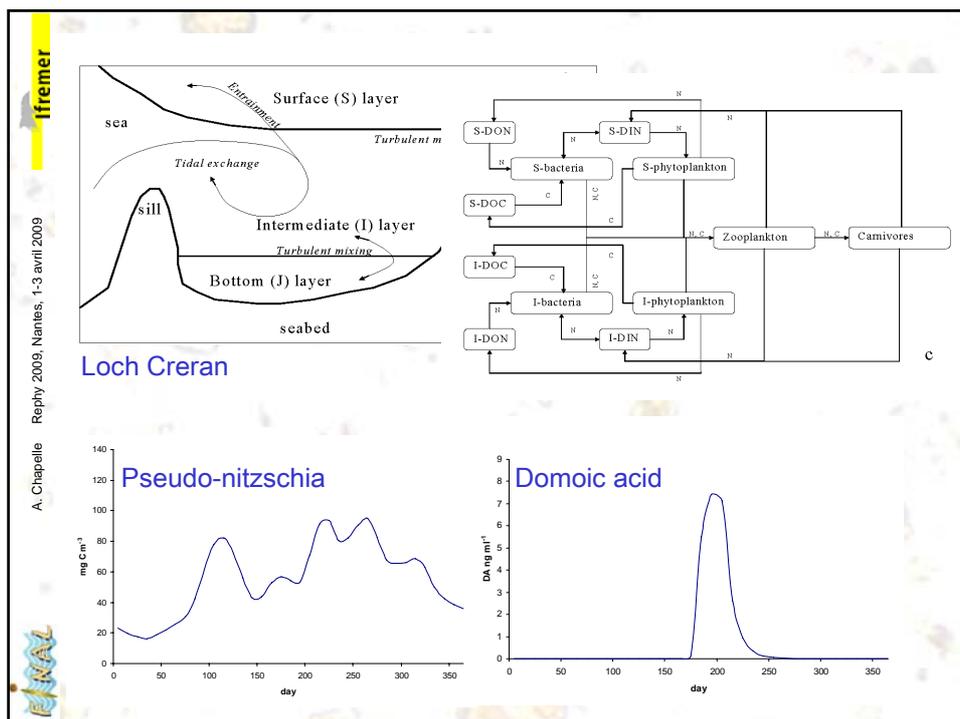
■ *A. minutum*  
▼ Jour d'échantillonnage

Toxicité *A. minutum* : 90 000 - 100 000 cells.L<sup>-1</sup>  
 Débit < 1 m<sup>3</sup>.s<sup>-1</sup>  
 Marée < 85

A. Chapelle Rephy 2009, Nantes, 1-3 avril 2009

**FINAL**





**Analyse des données REPHY de 2005 et 2006**

		JAN	FEV	MAR	AVR	MAI	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
<i>Pseudodelicatissima</i> complex ( <i>P. calliantha</i> , ...)	2005	400	14000	1368000	252000	166600	27600	204000	36700	17700	127100	8000	500
	2006	300			9362000	470500	180000	523500	13400	10400	79000	2600	
<i>P. fraudulenta</i>	2005			8500	2000	594000	29300	12100	24400	600	3800	700	400
	2006				200	6400	6600	103800	90800	2400	1400	400	
<i>P. subpacifica</i>	2005	400						21500	5500	20700	8700	600	
	2006						2100	ND	5800	ND			
<i>P. australis</i>	2005												
	2006				ND					ND	18000	7100	2600
<i>P. pungens</i> or <i>P. multiseriis</i>	2005			2400	1000	28600	4200	6600	4000	2300	4200	800	
	2006				1400	2300	1400	138100	8200	6300	14400	200	
<i>P. multistriata</i>	2005												400
	2006										200	900	400
<i>P. americana</i>	2005							400	1400	ND			
	2006								ND		ND	ND	

Du printemps à l'automne : *Pseudodelicatissima/cuspidata* et *delicatissima* (dont *P. calliantha* toxique)

Été : *P. subpacifica*

Automne : *P. multistriata* et *P. australis* (toxique)



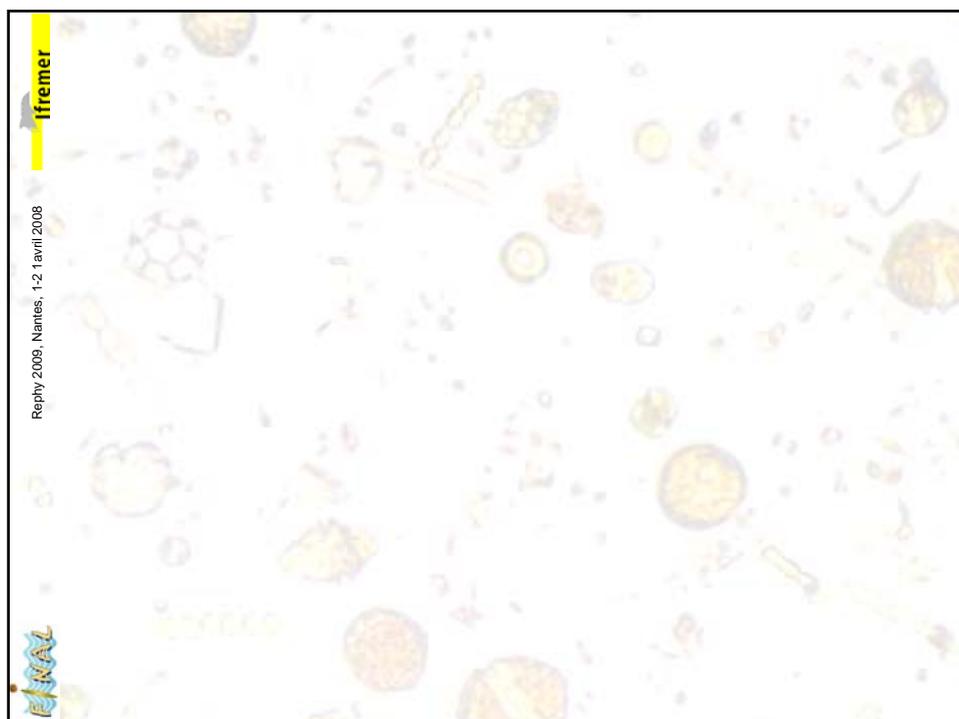
**ifremer**

A. Chapelle Rephy, 2009, Nantes, 1-3 avril 2009

**FINAL**

**Avec la participation de ...**

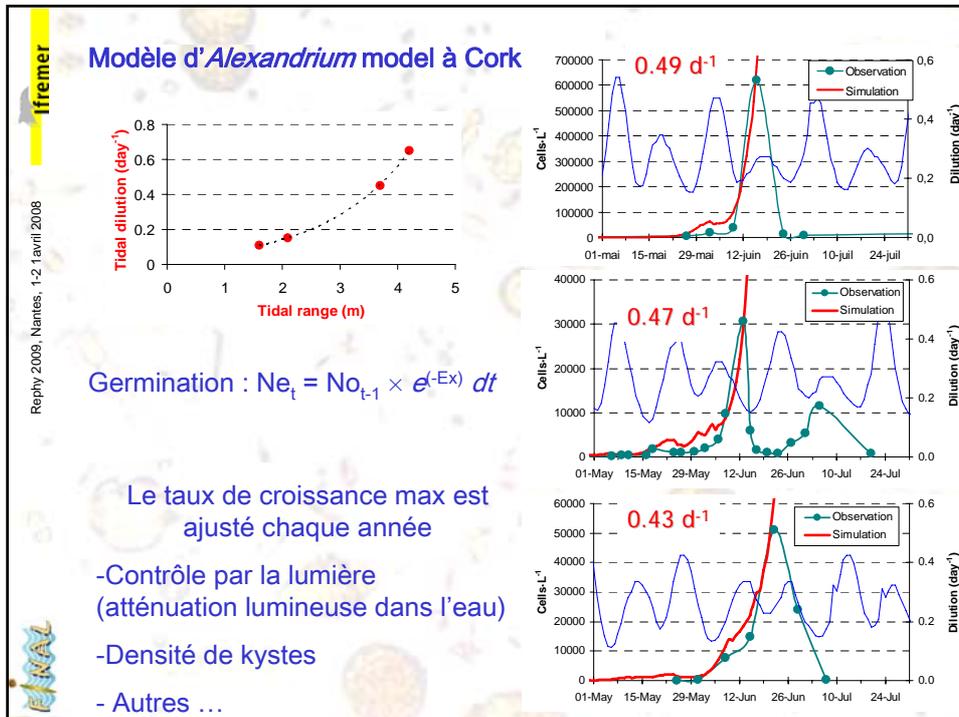
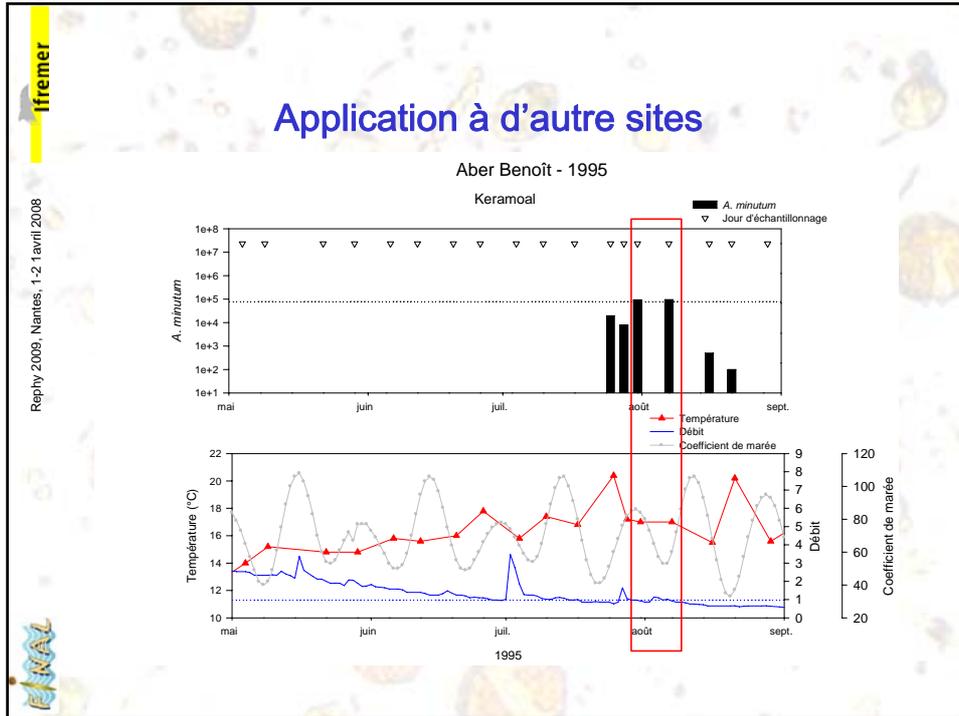
**Annie Chapelle, Keith Davidson, Robin Raine,  
Claire Labry, Juliette Fauchot, Aoife Ni  
Rathaille, Romain Pete, Romaric Verney, Marc  
Sourisseau, Nicolas Touzet, Jean-François  
Guillaud, Agnès Youenou, Marie-Pierre  
Crassous, Elisabeth Nezan, Nicolas Chomerat,  
Julien Quere, Dominique Soudant, Hervé  
Jestin, Zouher Amzil, Françoise Andrieux,  
Gabriel Bally, Jacqueline Le Grand, Erwann Le  
Gall, Xavier Philippon, Olivier Dugornay, Marie-  
Christine Mazé, Anne Laure Le Velly, Pierre  
Bodenes .**



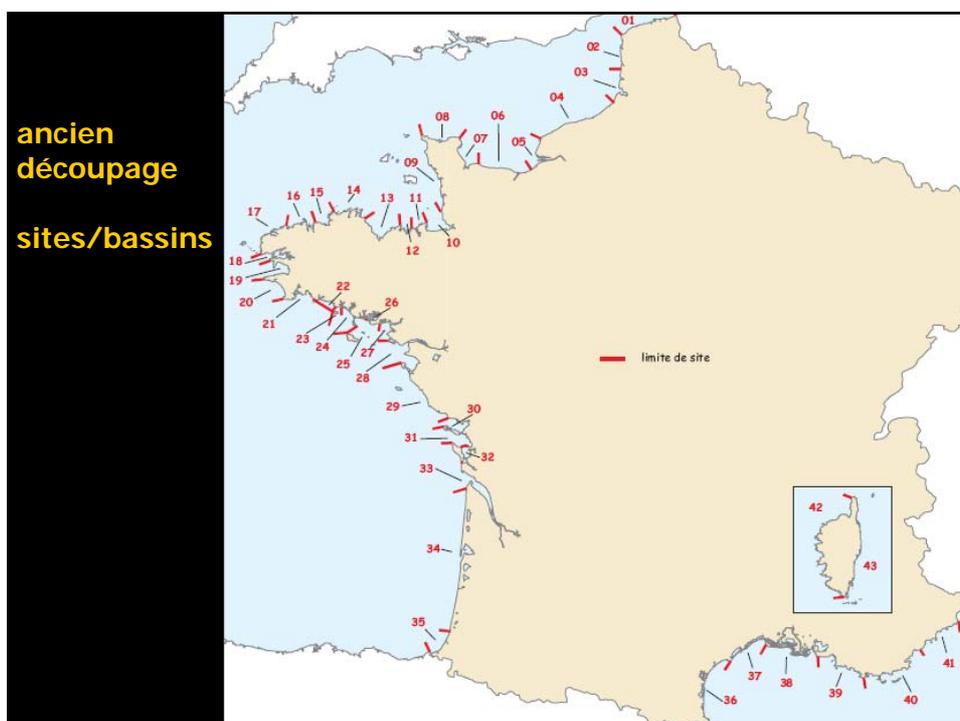
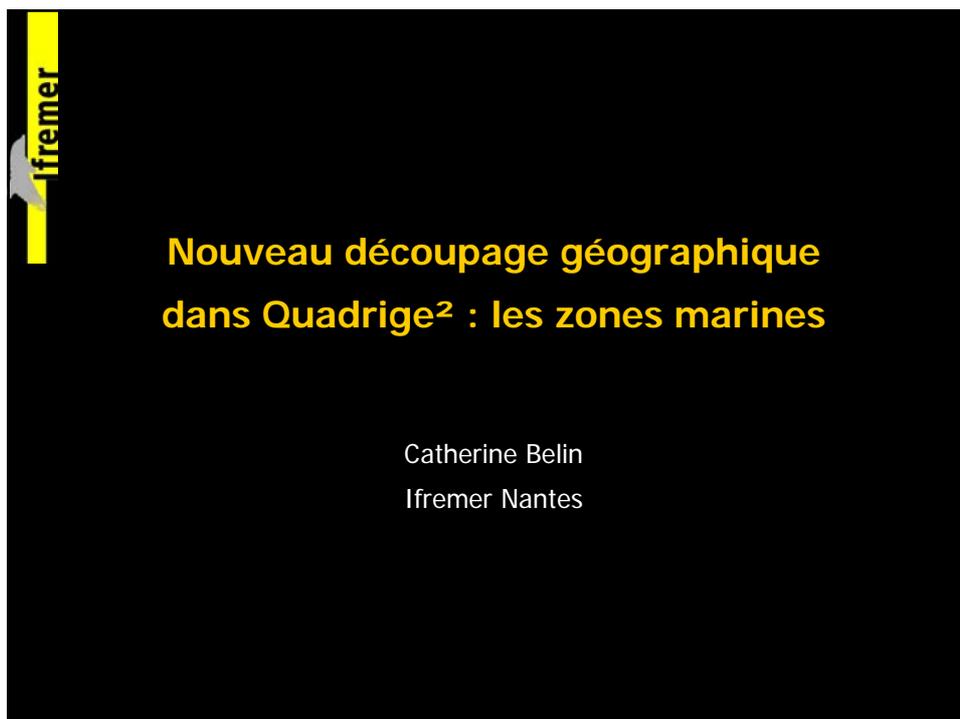
**ifremer**

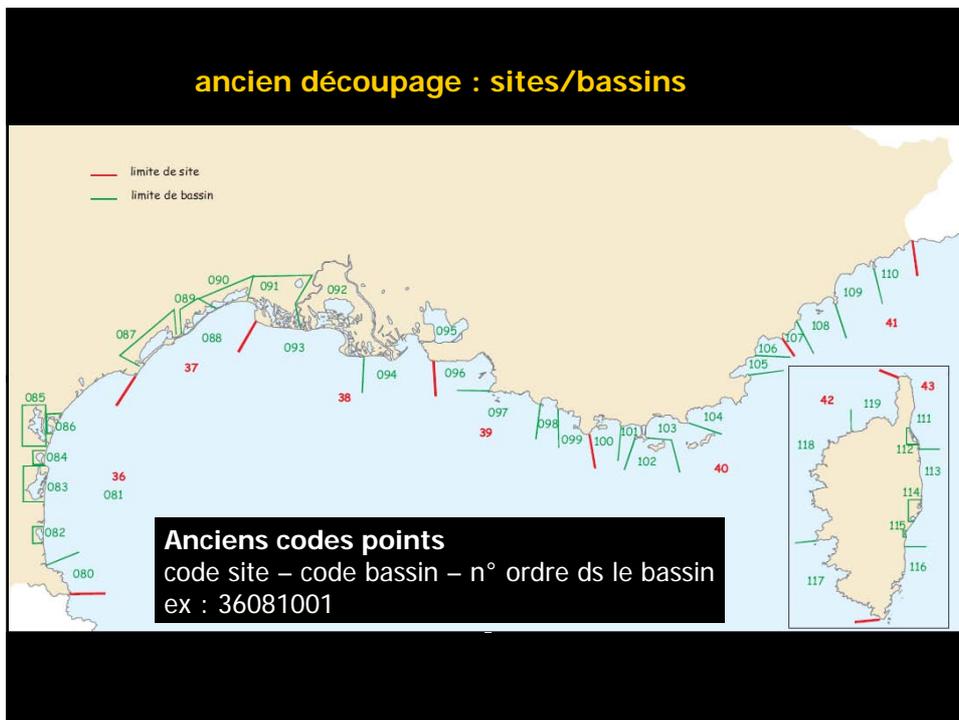
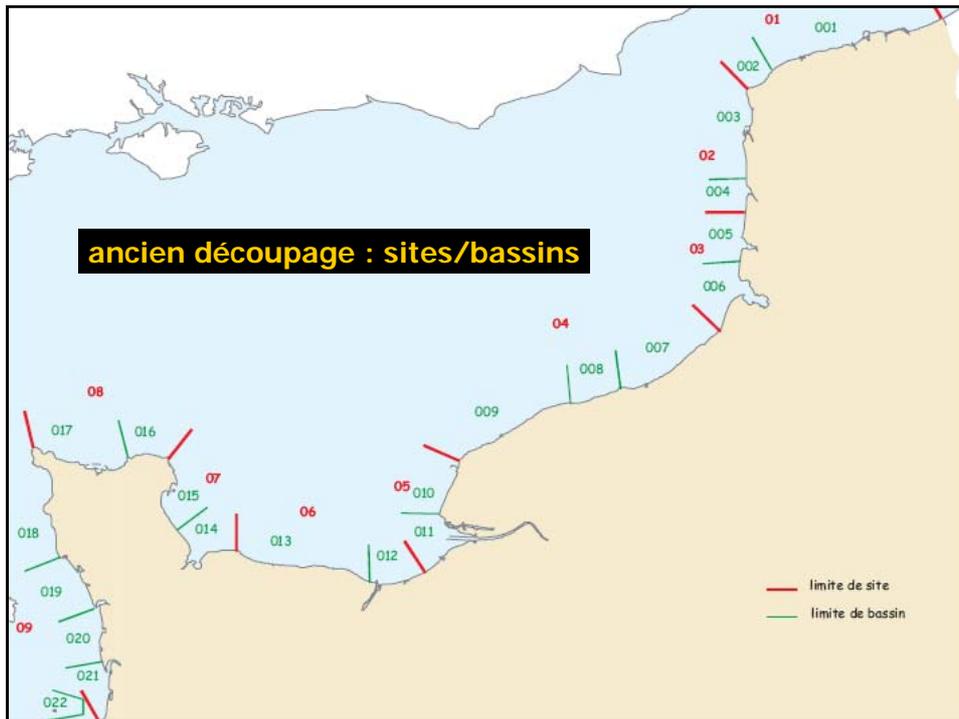
Rephy, 2009, Nantes, 1-2, 1 avril 2008

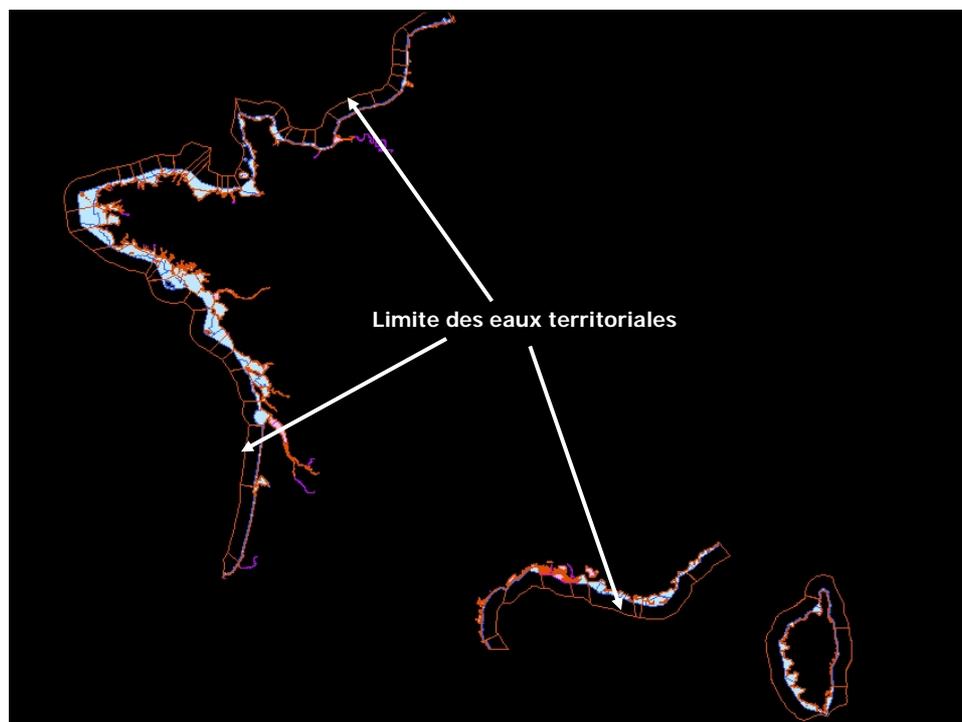
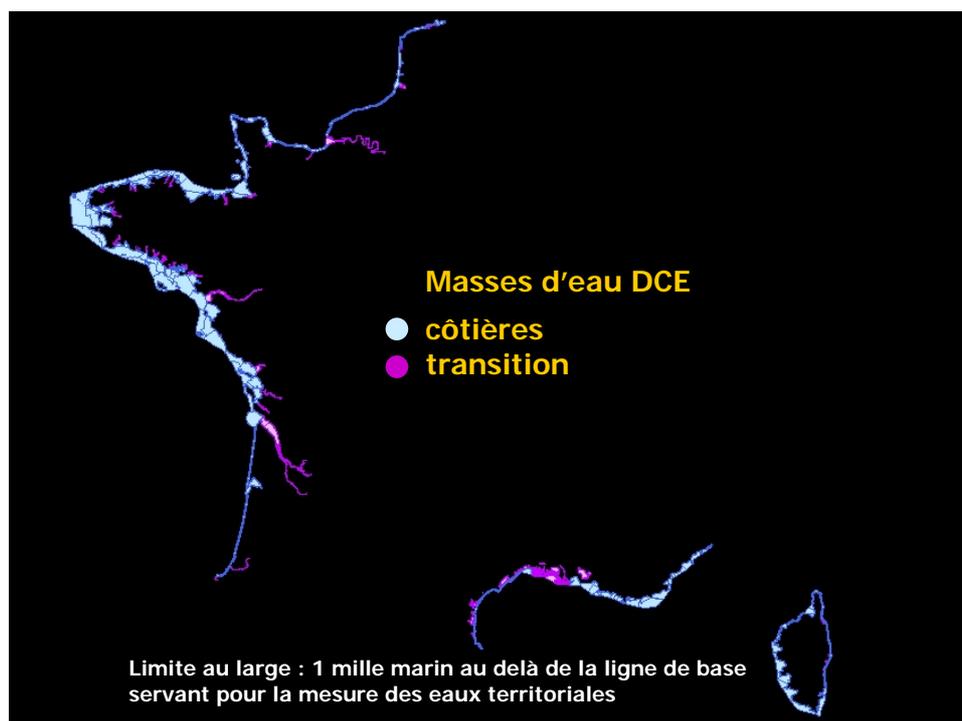
**FINAL**

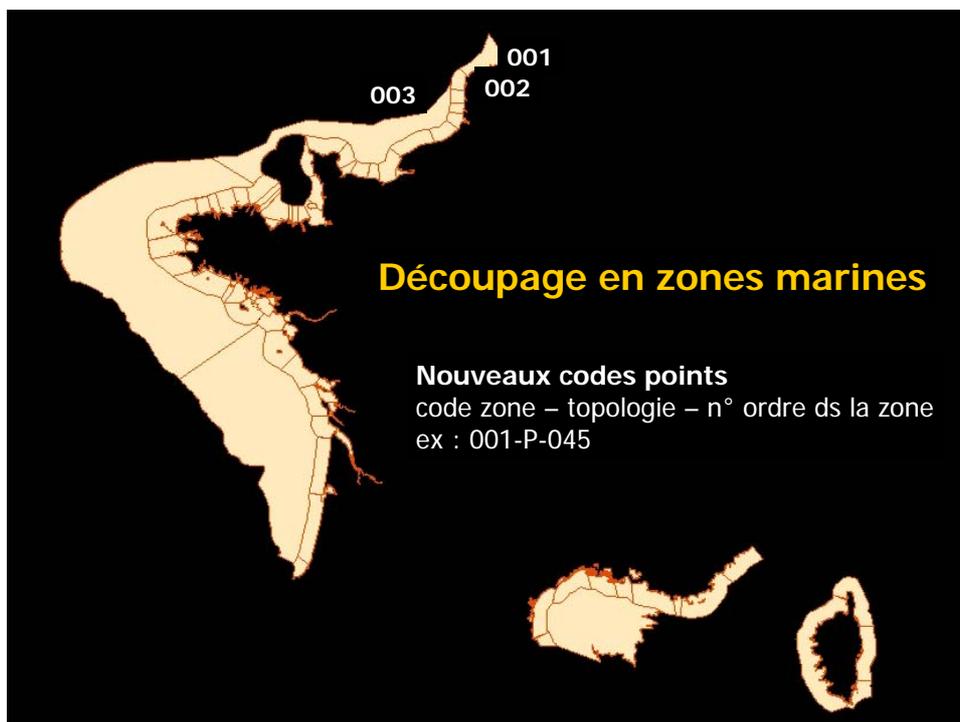
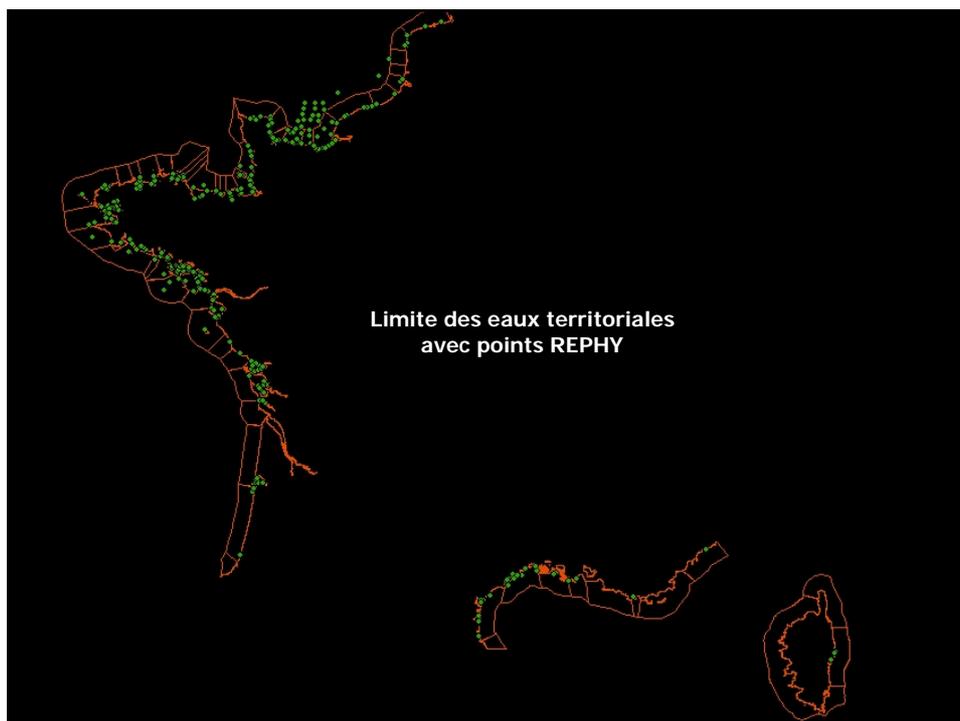


# Transition entre les deux sessions









## OPTIMISATION DU REPHY ET PERSPECTIVES A 4 ANS

- Déclaration de Politique Qualité « réseaux de surveillance » → optimisation, fin 2009
- Evolution à 4 ans dans le cadre du nouveau contrat quadriennal (2009-2012)

**REPHY => surveillance PHY3**  
[eau, coquillages]

- phytoplancton
- phycotoxines
- physico-chimie associée

Ensemble de surveillance cohérent et complexe répondant à une double exigence :

- environnementale : DCE, Conventions internationales  
→ phytoplancton et physico-chimie
- sanitaire : qualité des zones de production et de gisement naturels de coquillages  
→ phytoplancton toxique, phycotoxines

## Structuration du REPHY

- Réseau national REPHY
- Réseaux régionaux (SRN, RHLN, ARCHYD, RSL, RLC)
- Coordination hydrologie
- Soutien phycotoxines
- Expertise phytoplancton
- Structuration opérationnelle (prélèvements et analyses)

### Situation en 2007

- 440 points de prélèvements (200 réguliers)
- 3 000 observations phytoplancton + hydrologie
- 2 500 analyses phycotoxines (+ 75% en 3 ans)

### Évolution récente (2005 - 2008)

- intégration : réseaux régionaux et hydrologie
- DCE : mise en œuvre, nouveaux points de surveillance
- pectinidés : extension de la surveillance sanitaire aux coquillages de pêche
- *Ostreopsis* : surveillance expérimentale en Méditerranée

### Contexte réglementaire et besoins futurs

- maintien et extension des objectifs DCE et sanitaire
- extension de la côte → le large : DSM
- lien entre surveillance « environnement » et surveillance « ressource aquacole »

Optimisation  
à 4 ans



Optimisation du système  
Vision prospective

## Pistes d'optimisation

- 1- Consolidation et encadrement de la sous-traitance
- 2- Amélioration des stratégies d'échantillonnage (traitement des données historiques)
- 3- Intégration des l'océanographie opérationnelle
  - observations satellitaires (chlorophylle, turbidité, température)
  - modélisation (Prévimer)
  - interactions entre Q<sup>2</sup>, Nausicaa, Prévimer

- 4- Amélioration des techniques d'identification
  - flores totales (Flowcam /Phytoplankton)
  - flores toxiques (biologie moléculaire)
- 5- Relation entre les analyses chimiques des phycotoxines
- 6- Diffusion et valorisation des données de la surveillance
  - diffusion des bulletins en temps réels
  - bilan annuel
  - dossiers thématiques

## Organisation - calendrier

1. Bilan de l'existant
2. Optimisation de l'organisation opérationnelle
3. Apports de l'océanographie opérationnelle
4. Apports de l'innovation technologique

## Conclusion et enjeu stratégique

Maîtrise de l'ensemble du système  
de surveillance (Plan stratégique de l'Ifremer)

**Prélèvements → analyses → bancarisation  
→ diffusion/valorisation**

1. Optimisation du système
2. Importance de conserver un rôle d'opérateur

# 25 ans du REPHY

# Préhistoire du REPHY

Périodes paléolithiques et néolithiques



# 1969

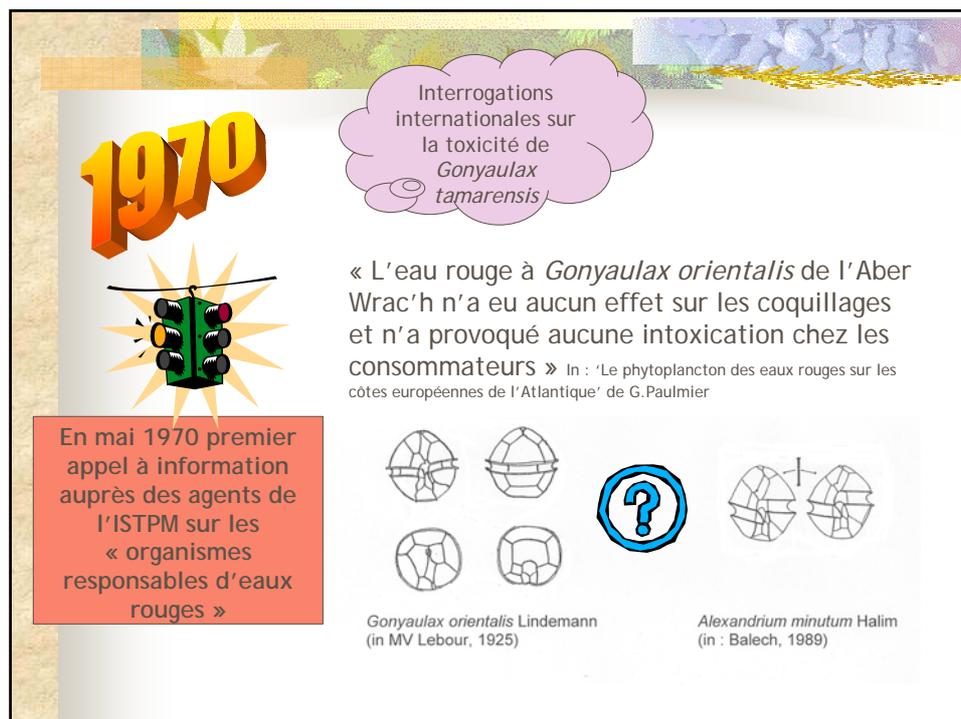
« De l'eau rosée ayant l'aspect d'une soupe de tapioca dont les grains étaient formés de Noctiluques » Laboratoire ISTPM d'Arcachon, Juillet 1969

Une eau rouge au nord du cap Ferret



« Les pêcheurs ont constaté que les moustiques qui survolaient l'eau rouge semblaient se détruire à son contact »



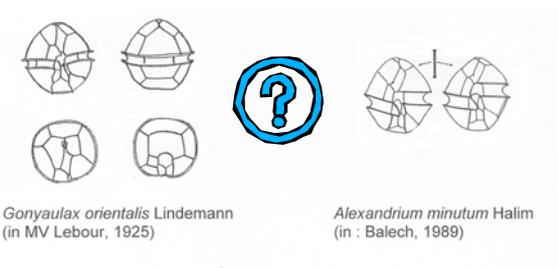


**1970**

Interrogations internationales sur la toxicité de *Gonyaulax tamarensis*

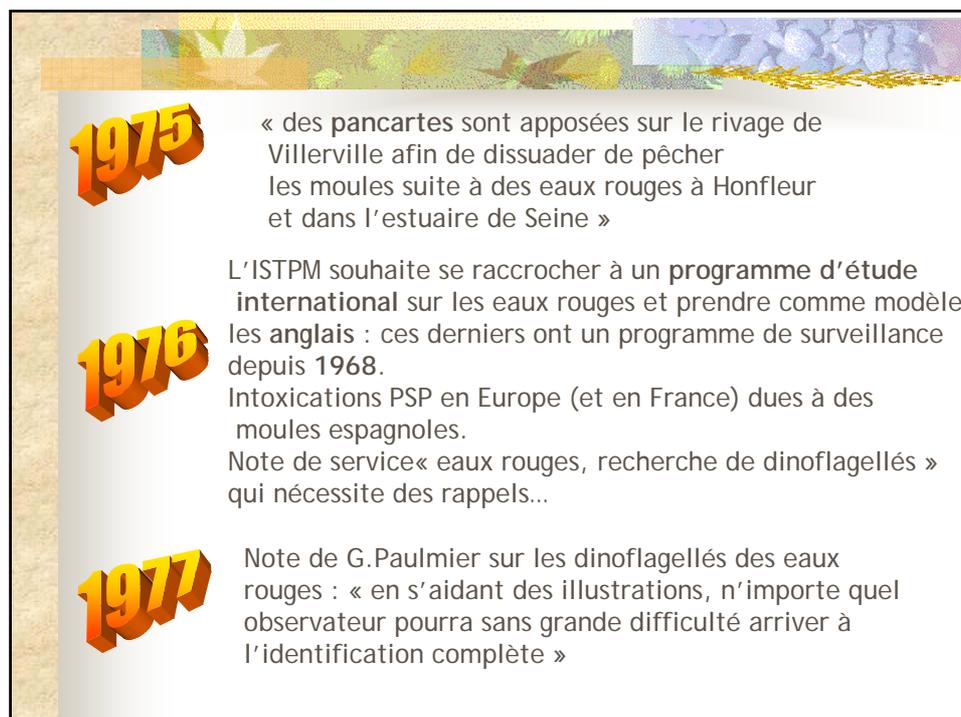
« L'eau rouge à *Gonyaulax orientalis* de l'Aber Wrac'h n'a eu aucun effet sur les coquillages et n'a provoqué aucune intoxication chez les consommateurs » In : 'Le phytoplancton des eaux rouges sur les côtes européennes de l'Atlantique' de G. Paulmier

En mai 1970 premier appel à information auprès des agents de l'ISTPM sur les « organismes responsables d'eaux rouges »



*Gonyaulax orientalis* Lindemann (in MV Lebour, 1925)

*Alexandrium minutum* Halim (in : Balech, 1989)



**1975** « des pancartes sont apposées sur le rivage de Villerville afin de dissuader de pêcher les moules suite à des eaux rouges à Honfleur et dans l'estuaire de Seine »

L'ISTPM souhaite se raccrocher à un **programme d'étude international** sur les eaux rouges et prendre comme modèle les anglais : ces derniers ont un programme de surveillance depuis 1968.

**1976** Intoxications PSP en Europe (et en France) dues à des moules espagnoles.  
Note de service « eaux rouges, recherche de dinoflagellés » qui nécessite des rappels...

**1977** Note de G. Paulmier sur les dinoflagellés des eaux rouges : « en s'aidant des illustrations, n'importe quel observateur pourra sans grande difficulté arriver à l'identification complète »

1978

Il se passe beaucoup de choses en 1978 !

- ❑ Signalement « d'huîtres rouges / roses » par La Rochelle (comme en 1974 à La Tremblade). Ce n'est pas neuf : en 1938 une étude histopathologique avait été réalisée par l'Institut Buisson-Bertrand sur des glandes digestives d'huîtres rouges
- ❑ Eaux rouges de grande ampleur sur le littoral du Calvados. Espèce responsable : *Gonyaulax polygramma*, et d'autres *Gonyaulax*. Il y a aussi des blooms de *Phaeocystis pouchetii*. Les rejets de phosphogypse en baie de Seine sont montrés du doigt. Arrêtés d'interdiction de « pêche des coquillages ». Plainte des ostréiculteurs, défendus par Me Huglo (lien avec le pétrole de l'Amoco ?)
- ❑ L'ISTPM diffuse en interne son « Instruction permanente sur la surveillance des phénomènes d'eaux rouges » : où l'on parle enfin de surveillance, instructions précises, premiers formulaires
- ❑ Mortalités importantes d'Arénicoles et de coquillages dans le port de Morgat, au Faou, à Roscanvel : un certain *Gyrodinium (aureolum)* qui deviendra plus tard *Karenia mikimotoi*



1979

L'ISTPM propose au CNEXO un « projet de convention visant à étudier les causes des eaux rouges ». Il n'y aura pas de suite avant...la fusion IFREMER !

Proposition (P.Lassus) en novembre 1979 d'un programme d'étude prévisionnel articulé sur plusieurs laboratoires côtiers et des sites ateliers. Proposition également d'utiliser le traitement mathématique des données recueillies (hydrologie, météorologie) et de s'appuyer sur une sous-traitance des tests souris à des laboratoires agréés de toxicologie

1980

Prolifération pendant 8 mois d'une très petite chlorophycée, à Salses Leucates : amaigrissement, puis mortalité des huîtres



**1981**



Plusieurs cas d'intoxications alimentaires en juillet, en Baie de Vilaine, suite à la consommation de moules. Pas d'espèces toxiques décelées dans l'eau.

« Projet de réorganisation du programme de surveillance... » : ne plus se contenter de surveiller les eaux colorées, liste des laboratoires aptes à effectuer le test souris, premières citations des travaux japonais incriminant *Dinophysis* dans les intoxications diarrhéiques

**1982**



Mise en place d'une procédure « d'alerte » pour le Morbihan. Tract : « l'eau de mer a une couleur inhabituelle, que faire ? »

Le réseau de surveillance espagnol en Gallice met en œuvre des tests souris DSP et PSP. Il y aura une mission à Vigo et La Coruna en contrepartie de la suppression d'une mesure contraignante à l'importation de moules espagnoles

**1983**

« Evènements » à *Dinophysis* en Bretagne sud et en Normandie



**Patrick Lassus**, Ifremer Nantes

Rétrospective des grandes mutations du REPHY. Interventions des principaux fondateurs et acteurs de l'évolution du REPHY

**1984**

« Note sur les aspects scientifiques des intoxications par les coquillages survenues en juillet 1983 en Loire Atlantique » : dénombrement des gastroentérites et doutes de la DRASS sur la responsabilité 'prouvée' d'une toxine de *Dinophysis*

« Programme de surveillance des phénomènes d'eaux colorées et autres perturbations du milieu ayant pour origine des organismes phytoplanctoniques » : prise en charge de la totalité de la surveillance par le CSRU, naissance des notions de surveillance continue et de régime d'alerte. Document fondateur avec 4 annexes : **Point de départ historique du REPHY**

## Préhistoire du REPHY : périodes paléolithiques et néolithiques

Dates	Sources (émetteur)	Sujet général	point d'intérêt	Autre point d'intérêt
09/07/1969	Laboratoire d'Arcachon	Eau rouge au nord du cap Ferret	"De l'eau rosée ayant l'aspect d'une soupe de tapioca dont les grains étaient formés de Noctiluques"	"les pêcheurs ont constaté que les moustiques qui survolaient l'eau rouge semblaient se détruire à son contact"
25/02/1970	Mme Furnestin, Université de Marseille, lettre à L.Marteil	Interrogations internationales sur la toxicité de <i>Gonyaulax tamarensis</i> et questionnement sur l'eau rouge à <i>Gonyaulax orientalis</i> de l'Aber Wrac'h	Identification de <i>G.orientalis</i> par Gérard Paulmier	
28/05/1970	Laboratoire de la Trinité	Premier appel à informations sur les organismes responsables d'eau rouge auprès des agents de l'ISTPM		
Juin 1970 ?	Note CIEM de Marteil et Paulmier	"Le phytoplancton des eaux rouges sur les côtes européennes de l'Atlantique"	Où il est dit que l'eau rouge de l'Aber Wrac'h à <i>G.orientalis</i> fût "sans effet sur les coquillages" et "ne provoqua aucune intoxication chez les consommateurs",	Dans le même document les auteurs attribuent à <i>Gonyaulax polyedra</i> les 'perturbations' observées chez les larves d' <i>Ostrea edulis</i> dans le secteur du Morbihan, en juin 1964
03/09/1975	Laboratoire de Ouistreham	"Phénomènes d'eaux rouges et pollutions bactériennes du rivage"	En juillet 1975 une eau rouge dans l'estuaire de Seine aurait coïncidé avec des dermatites de pêcheurs, A la mi-août le même phénomène au large de Honfleur aurait été associé, cette fois, avec des intoxications alimentaires suite à la consommation de moules de Villerville,	Des pancartes sont apposées sur le rivage par la municipalité de Villerville afin de dissuader les pêcheurs de moules
09/08/1976	laboratoire de La trinité	Phénomène d'eau rouge en Baie de Concarneau	Mortalités importantes de couteaux, coques et d'oursins	Fortes concentrations de <i>Prorocentrum micans</i> et d'un organisme non identifié
08/03/1976	Centre de Nantes	Réunion de février 1976 : Eaux rouges, recherche de dinoflagellés	L'ISTPM se raccroche à un programme international d'étude des eaux rouges,	Il est proposé de prendre comme modèle les anglais qui ont un programme de suivi depuis 1968 : première citation du TEST SOURIS
03/12/1976	Centre de Nantes	Note de Service de Mr Maurin : "Eaux rouges, recherche de dinoflagellés" RAPPEL (le premier appel de février n'avait pas du être suivi d'effets ?)	Demande faite auprès des chefs de laboratoire de "rechercher des formes de dinoflagellés dans le tube digestif des moules", selon la méthode développée en Grande bretagne'	Forte préoccupation après les intoxications PSP liées aux moules d'Espagne, La teneur de la note est déjà l'ébauche d'un réseau de surveillance,
25/01/1977	Laboratoire de Cayenne	Note de Gérard Paulmier sur les dinoflagellés des eaux rouges, avec planches illustrées,	"en s'aidant des illustrations, n'importe quel observateur pourra sans grande difficultés arriver à l'identification complète"	Diffusion de cette note le 8 février 1977 à tous les laboratoires côtiers, par J.Le Dantec

19/06/1978	Laboratoire de La Rochelle	"Présence en quantités importantes d'algues et de Noctiluques dans le Pertuis Breton, branchies et valves d'huîtres colorées en rose"	Premier signalement d'huîtres 'roses' (ou rouges selon les lieux) ? Non, un rapport manuscrit d'avril 1974, de La Tremblade, décrit déjà des "huîtres rouges", en lien avec des copépodes,,De plus une étude histopathologique avait été faite en,,janvier 1938 ! par l'Institut Bouisson-Bertrand sur des GD d'huîtres rouges : la surcharge graisseuse et dégénérative des cellules hépatiques était relevée,	Pas de lien entre les colorations des huîtres et les Noctiluques
23/06/1978	Centre de Nantes	Note concernant les apparitions récentes d'eaux rouges à dinoflagellés (mai-juin 1978)	Note émise par "IPM3 service Pollution"	
28/06/1978	Laboratoire de Ouistreham	"Rapport d'activité suite aux phénomènes d'eaux rouges sur le littoral du calvados"	Présence de <i>Gonyaulax</i> spp en grandes quantités au Luc sur Mer, à Ouistham, à Courseulles, à Honfleur, Villerville, Cabourg, etc,,A noter que les "tests de toxicité négatifs" consistaient à observer l'absence de <i>Gonyaulax</i> dans l'estomac des moules,	Arrêté interdisant la pêche des coquillages de Honfleur à ver sur Mer, des prélèvements sont effectués en Baie de seine au cas où les rejets de Phosphogypse pourraient être incriminés,
29/06/1978	Inspection de saint vaast la Hougue	"Rapport d'activité suite aux phénomènes d'eaux rouges sur le littoral de la Manche"	Même phénomène d'eau rouge ? non, en fait <i>Phaeocystis pouchetii</i> associé à la disparition des lançons et maquereaux	Plainte des ostréiculteurs et nomination par le tribunal administratif de Caen d'un expert, Me Huglo, avocat des ostréiculteurs, attribue cette prolifération à l'utilisation de dispersant par les anglais, suite à une nappe de pétrole de l'Amoco-Cadiz qui aurait dérivé vers les côtes britanniques
18/07/1978	Centre de Nantes	"Instruction permanente sur la Surveillance des phénomènes d'eaux rouges"	Où l'on parle enfin de surveillance et où l'on trouve des instruction sprécises sur les prélèvements à effectuer, les observations à relever etc,,Premier formulaire	"Prise en main" par le service IPM3, les échantillons d'eau lugolés doivent être adressés sans délai "au laboratoire TSTPM le plus proche" et aussi à un certain P.Lassus, à Nantes,
02/08/1978	Laboratoire de Ouistreham	"Rapport chronologique des travaux effectués en juin 1978 sur le phénomène d'eaux rouges en Basse-normandie"	Confirmation des informations précédentes, mais avec d'autres détails : "coloration s'étendant sur 30 milles au large, Toute la zone côtière était atteinte"	Espèce sresponsables : <i>Gonyaulax polygramma</i>
28/08/1978	laboratoire de Roscoff	"Phénomènes d'eaux rouges"	Mortalités importantes de coquillages et d'Arénicoles dans le port de Morgat en relation avec un "nombre important" de <i>Gyrodinium</i> dans l'eau du port	Mêmes mortalités et mêmes dinoflagellés au Faou et à Roscanvel

13/09/1978	Centre de Nantes	"Intoxications signalées à Fécamp"	Cinq cas d'intoxications attribués à tort à la consommation de moules : il s'agissait d'empoisonnement par monoxyde de carbone	
12/03/1979	Centre de Nantes	"Proposition de convention visant à faire étudier les causes des eaux rouges"	Lettre de Mlle Soudan à Mr Nounou (CNEOX)	Il n'y avait pas eu de suites ?
29/11/1979	Centre de Nantes	"Bilan des démarches en vue d'établir des programmes généraux de surveillance et de précision des phénomènes d'eaux rouges"	Note de Patrick Lassus à Mr Maurin, Directeur de l'ISTPM, Propositions de collaboration avec le labo municipal du Havre et avec la faculté des sciences de Caen, proposition d'expertise 'Alain Sourmia, Proposition de sites ateliers dans les bassins portuaires du havre, etc,,	proposition de "mise en place d'un programme d'étude prévisionnel articulé sur plusieurs laboratoires côtiers et faisant intervenir le traitement mathématique de toutes les données pouvant être exploitées", proposition de sous traitance des tests de toxicité sur souris à des laboratoires de toxicologie (faculté de Pharmacie de Paris) et de récupération des données météorologiques et hydrologiques (BNDO)
15/10/1980	Centre de Nantes	"Bilan des phénomènes d'eaux colorées recensés pour l'année 1980"	A retenir : un phénomène de prolifération pendant 8 mois d'une minuscule chlorophycée à Salses Leucates, responsable de l'amaigrissement puis de la mortalité des huîtres,	
15/07/1981	Laboratoire de La Trinité	"Intoxications alimentaires par des moules de Vilaine"	Plusieurs cas d'intoxications alimentaires en juillet 1981, à la suite de la consommation de moules : troubles digestifs et diarrhées, Pas d'espèces toxiques décelées dans l'eau,	
26/11/1981	Centre de Nantes, laboratoire EBN	"Projet de réorganisation du programme de surveillance en matière d'eutrophisation, de toxicologie conchylicole et d'eaux colorées"	P.Lassus sévit toujours en déclarant que malgré les deux notes "d'instruction permanente" il ne suffit pas de se limiter à l'observation des eaux colorées qui ne sont plus un indicateur assez sur, Indication d'une liste de laboratoires de toxicologie aptes à effectuer les tests souris,	Première citation de travaux japonais montrant que des espèces considérées jusqu'ici comme non toxiques ( <i>Dinophysis</i> ) pouvaient être associées à des intoxications diarrhéiques,
18/06/1982	Laboratoire de La Trinité	"Surveillance des phénomènes d'eaux colorées dans le Morbihan"	Mise en place d'une procédure 'd'alerte' pour le Morbihan et,, premières demandes d'équipements,	Projet de tract "L'eau de mer a une couleur inhabituelle, que faire ?"

07/09/1982	Centre de nantes laboratoire EBN	"Compte rendu de la mission à Vigo et à La Coruna des 24 et 25 août 1982"	Visite de politesse après que la France ait retiré une mesure obligeant les moules espagnoles importées à provenir de zones où le quota de dinoflagellés ne dépassait pas un certain pourcentage,	Le réseau de surveillance de Gallice (IEO et Conseil supérieur de la santé) commençait à mettre en œuvre conjointement les tests souris PSP et DSP
<b>JUIN et JUILLET 1983 : EVENEMENTS A DINOPHYSIS EN BRETAGNE SUD ET EN NORMANDIE</b>				
20/01/1984	CNEXO Paris ISTPM Nantes	Courrier co-signé JP Troadec et Y Sillard au ministre de l'environnement de l'époque pour répondre aux questions du ministère sur le rôle des apports anthropiques,	Site atelier de la Baie de Vilaine : suivi à distinguer du réseau de surveillance,	
23/01/1984	DRASS Rennes	"Note sur les aspects scientifiques des intoxications par les coquillages survenues du 25 juin au 31 juillet 1983 en Loire Atlantique",	Prédominance de Dinophysis acuminata lors des événements de Loire Atlantique, doutes des services de la DRASS sur la responsabilité "prouvée" d'une toxine produite par Dinophysis qui serait identique à celle mise en évidence par les néerlandais et les japonais	Dénombrement des gastroentérites : ces données existent donc bien,,,
10/05/1984	Centre de nantes	"Programme de surveillance des phénomènes d'eaux colorées et autres perturbations du milieu ayant pour origine des organismes phytoplanctoniques : responsabilités, organisation opérationnelle,	Prise en charge de la totalité du du programme de surveillance par le département CSRU, Naissance des notions de 'surveillance continue' et de 'régime d'alerte', Document 'fondateur' avec 4 annexes : i) le réseau de surveillance, ii) le système d'alerte, iii) les schémas d'action, iv) la surveillance phytoplanctonique	La constitution de 4 zones (Nord-Normandie, Bretagne-pays de Loire, centre Atlantique et méditerranée) est prévue ainsi qu'un plan d'équipement en matériels des laboratoires côtiers concernés,
14/05/1984	Centre de nantes	"Surveillance des phénomènes d'efflorescence phytoplanctonique : procédures inter-services	Bilan critique de la coordination des actions en 1983, adressé aux préfets de région Pays de Loire et Bretagne	Tentative d'analyse des responsabilités de chacun en cas d'alerte : ISTPM, DDASS, Direction de la consommation et de la répression des fraudes, AFMAR, services vétérinaires
24/05/1985	IFREMER Paris	"Contamination des coquillages par des algues unicellulaires toxiques	Courrier de JP Troadec au ministère, Rappel de la modernisation du réseau 'CSRU' en 1985 : 24 secteurs pour 30 stations échantillonnées ! Détail de la phase 'alerte', rappel des actions de recherche en cours et surtout, en réponse au Ministère, état des relations DDASS / Ifremer	Distribution de D.acuminata en Baie de Vilaine, comparaison de tests DSP, prédiction des eaux colorées dans les bassins portuaires du Havre, essais de mise en culture de Dinophysis, JP Troadec ne donne pas suite à la proposition du secrétariat d'état à la santé d'associer ses services au réseau de surveillance,

01/07/1985	Centre de Nantes Laboratoire EBN	"Recherches menées par IFREMER sur les eaux colorées"	Rappel des projets en cours : étude des toxines de <i>Dinophysis</i> et de <i>Gyrodinium</i> , mécanismes d'apparition des eaux colorées (Le Havre), cycles saisonniers de <i>Dinophysis</i> en Baie de Vilaine, mise en culture de <i>D.acuminata</i>	Rappel des contacts pris avec Yasumoto pour "perfectionner" le test souris, Première typologie des eaux colorées (incluant l'absence de coloration)
11/07/1985	IFREMER Paris	Courrier d'Y. Sillard à la ministre de l'environnement	Les résultats présentés comme positifs sont : i) l'identification de la toxine associée au <i>Dinophysis</i> et la réduction du test souris de 48 heures à 5 heures	IFREMER mobilise à l'époque sur ces questions 18 personnes à temps plein (recherche + surveillance)
16/05/1986	IFREMER Nantes	Courrier du chef de Centre de Nantes	Première convocation d'une conférence de presse	
15-16/09/1986	IFREMER Nantes	Groupe de travail toxicologie-écotoxicologie animé par JP Berthomé	Les perspectives et besoins pour améliorer le réseau de surveillance : préciser les seuils toxiques, accroître la fiabilité des tests, acquérir des données épidémiologiques, améliorer les connaissances sur l'écologie des espèces toxiques,	
07/07/1986	IFREMER Nantes	Note de P.Lassus à G.Ravoux "concernant les manifestations de DSP en Bretagne sud"	Question de savoir s'il fallait assimiler toutes les espèces de <i>Dinophysis</i> lors des comptages, malgré les différences évidentes de toxicité et de variation morphologique intra-spécifique	Souçons sur l'implication de <i>Prorocentrum lima</i> dans les contaminations DSP de juillet 1968 sur l'île de Sein, Demande de surveiller <i>P.lima</i> au même titre que <i>Dinophysis</i>
07/08/1987	IFREMER Paris	Lettre de Y.Sillard au Sénateur de la Vendée	Rappel des moyens mis en œuvre par Ifremer pour élucider la cause des efflorescences de <i>Dinophysis</i> , Mise en garde sur l'emploi abusif du terme "pollution" pour parler de ces phénomènes, ce travers accentuant la dégradation de l'image de marque du coquillage dans l'esprit des consommateurs,	Les méthodes de traitement direct du <i>Dinophysis</i> en milieu ouvert relèvent de l'utopie à l'inverse des essais de détoxification DSP à terre,
21/03/1988	IFREMER Paris	Note DRV et DERO conjointe : "compte rendu de réunion du 10 février 1988"	Les deux directions, qui couvraient l'une les actions de recherche et l'autre les actions de surveillance, décidaient de créer un groupe de travail "Efflorescences phytoplanctoniques" pour résoudre plusieurs questions émises par la DRV,	Les questions : i) quel réseau de surveillance optimal pour un coût de surveillance donné ? ii) comment accélérer la détoxification ? iii) comment orienter les activités aquacoles des zones soumises aux efflorescences toxiques ?

10-12/05/1988	CREMA L'Houmeau	"Report of the study group on the ecology of algal blooms"	Sous l'égide du CIEM réunion d'un groupe de travail à l'Houmeau réunissant des experts français, canadiens, suédois, espagnols, et américains,	Les recommandations étaient de : i) obtenir des séries d'observations à long terme, ii) d'acquérir des connaissances écologiques sur les espèces nuisibles, iii) de réunir des informations sur les facteurs de l'environnement provoquant les efflorescences, iv) de construire des modèles expérimentaux et numériques performants
---------------	-----------------	------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

## Ode au Dino

*Par Jean-Paul Berthomé, fondateur du réseau de surveillance phytoplanctonique,  
actuellement Responsable qualité du Centre de Nantes*

*Aquarelle originale de Jacques Denis, de la Direction des Programmes et de la Coordination  
des Projets, Toulon, 83*

*Illustrations originales de Daniel Masson, chercheur au laboratoire Environnement et  
ressources des Pertuis Charentais, La Tremblade, 17*



*Eté 1983....*

Un juillet d'été calme, apaisé, langoureux  
Un crépuscule douillet sur le bord de la côte  
Lueurs violacées d'un estran qui se couche  
Attablés dans les bars des touristes heureux

C'est la fête de la moule dans de nombreux villages  
Des tonnes de mollusques vont être ingurgités  
Dévorer à pleins crocs ils le font sans ambages  
Des mois qu'ils attendaient, c'était tant espéré

Ventres remplis, repus de chair  
Quelques heures plus tard quelques signes prémices  
Des soubresauts béats pour intestins amères  
Flatulences incongrues, des boyaux qui se tissent

Turgescence ventrale, œdème douloureux  
Oh vociférations anales et putrides  
C'est à saint Immodium que l'on prie pour du mieux  
C'est à l'Ercefuryl que l'on soumet son bide

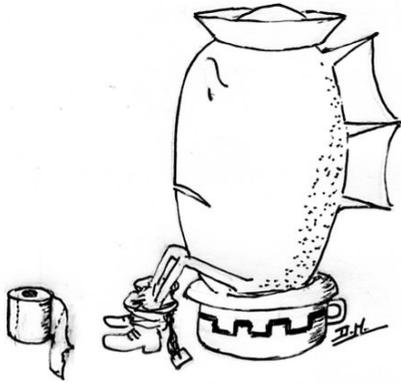
Mais le mal était là, n'allait pas s'arrêter  
Une vague de maux envahit le pays  
2500 diarrhées, ceci fut bien noté  
Par tant de médecins au regard ébahi

Imaginez un peu aux campings de plein air  
Les files compressées devant les sanitaires  
Les luttes acharnées pour défendre sa place  
Les perdants déconfis partant la mine basse

Et ce Belge un peu fou tractant sa caravane  
Retournant à Bruxelles contre vents et marées  
Stoppant dans la campagne n'importe où comme en panne  
Pour aller déféquer ...

Il travaillait le bois, il était ouvrier  
A chaque arrêt fatal ses enfants en premier  
Il attendait, patient, le ventre contracté  
Belle philanthropie d'ouvrier charpentier

Boyaux en scoubidou, estomacs en compote  
Céphalées nauséuses et le pylore trahi  
Tel était le destin de ces mytilophages  
Les excès à ce stade étant vraiment bannis



Et vous imaginez la crise médiatique  
 Tout est contaminé, on parle de « fléau » (a)  
 Toutes les moules sont toxiques, partout et tout le temps  
 « La conchyliculture malade de ce test souris » (b)

C'est un vrai florilège dont voici des extraits :  
 « Dinophysis, le visiteur indésirable » (c)  
 « Biotoxines marines, un manteau dangereux » (d)  
 « Des souris, des huîtres et un Ministre sur le Bassin » (e)

Et tous se demandaient qui était responsable  
 Et de tant de douleur et de tant de souffrance  
 Je vais le dénoncer car il est plein de vices  
 Il s'agit bel et bien de ce *Dinophysis*

Cette amphore qui tourne (1) nous fit perdre la tête  
 Il se la joue joli, attirant en photo  
 Mais il se venge méchant, cette sale petite bête  
 En larguant des toxines pour nous mener au pot

Alors c'est le branle-bas dans tout l'Istpm (2)  
 Rechercher cet intrus ,dans les eaux dans les chairs  
 Des mollusques pêchés, sont-ils contaminés ?  
 Faire arrêter les ventes, la santé protéger

Une armée est levée, partout dans les labos  
 Vrai peuple de fourmis défenseurs du colon  
 Armée de combattants pour un avenir sans tache  
 Techniciens et chercheurs et même les stratifs



Découverte étonnante car certains d'entre nous  
 Pensaient que les planctons gardaient dans les casernes  
 Il fallait informer, pas ménager sa peine  
 Si l'on voulait gagner et bien en voir le bout

Alors c'est un combat qu'il faut organiser  
 Commandos de l'étron, soldats de la diarrhée  
 Tous les jours des agents sont réquisitionnés  
 Pour faire des prélèvements et les décoquiller

Et pendant ce temps là d'autres observent les eaux  
 Est-il présent ici et en quelle quantité  
 Et bien d'autres encore en ces folles journées  
 Font les tests souris, ce n'est pas un cadeau

Et tout arrive à Nantes , alors ce n'est pas rien  
 Il en vient de partout et par tous les moyens  
 Postes et transporteurs, parfois gendarmerie  
 Agents de l'Institut et même des spahis

Et un seul spécialiste, qui fut un de mes maîtres,  
 Du seul au pied levé remplir toutes les têtes  
 Il sut canaliser toutes les connaissances  
 Pour que plein d'entre nous puissent entrer dans la danse

D'autres, aussi, de plus loin nous ont beaucoup aidé  
 Certains en poste à Brest, d'autres à Ouistreham

Grâce à leur savoir faire qu'ils ont communiqué  
Toutes ces informations sitôt valorisées

Et le Chef dut partir en congés mérités  
Un homme est désigné et je suis chocolat : c'est moi  
Je n'avais vu qu'une fois un seul *Dinophysis*  
Je devais remplacer un maître incontesté

J'étais intéressé et c'était une chance  
Organiser encore toujours dans les urgences  
Répondre à la télé, observer le phyto  
Faire les tests souris, les contenus stomacaux

Fallait voir le matin, action réquisition  
De soixante personnes pour préparer du bon  
Retirer un à un hépatopancreas  
Il en faut 30 grammes croyez-moi bien ça lasse

De très hauts responsables devenus recruteurs  
Faisant tout pour convaincre un lot d'écoquilleurs  
Avec grande volonté nous imitions le maître  
Nous pointions chaque soir l'ensemble des paramètres

Et notre Directeur avec un grand bon sens  
Prenait les décisions lourdes de conséquences  
Fermer toute une zone sitôt contaminée  
Rouvrir dès que possible mais en sécurité

Toutes les hiérarchies étaient très concernées  
Et pour bien parodier un certain Général  
Qui voulait qu'en commun les troupes caracolent  
« Pour que les troupes adhèrent il faut que les Chefs s'y collent »

Et puis bien trop souvent c'était le système D  
Souris à observer sur 24 heures chrono  
Des cages à la maison, la chienne fait le gros dos  
Elle aurait bien aimé des cages non fermées



Mes enfants très émus voulurent en sauver une  
Qui avait survécu au prélèvement Morgat  
Ils lui donnèrent ce nom et grand plaisir nous eûmes  
De la garder deux ans avant qu'un jour elle parte

Observer, pauvres bêtes, les regarder mourir  
S'endormir à jamais, comme en ces temps de peste  
Perdre la vie pour nous, pour valider les tests  
Et nous donner enfin résultat pour agir

Malgré ce monde en crise, l'humour restait bien là  
Des slogans débridés lancés dès le matin  
« Mieux que la dragée Fuca, *Dinophysis acuminata* »  
« Purger vous les intestins avec les moules de Pénestin »

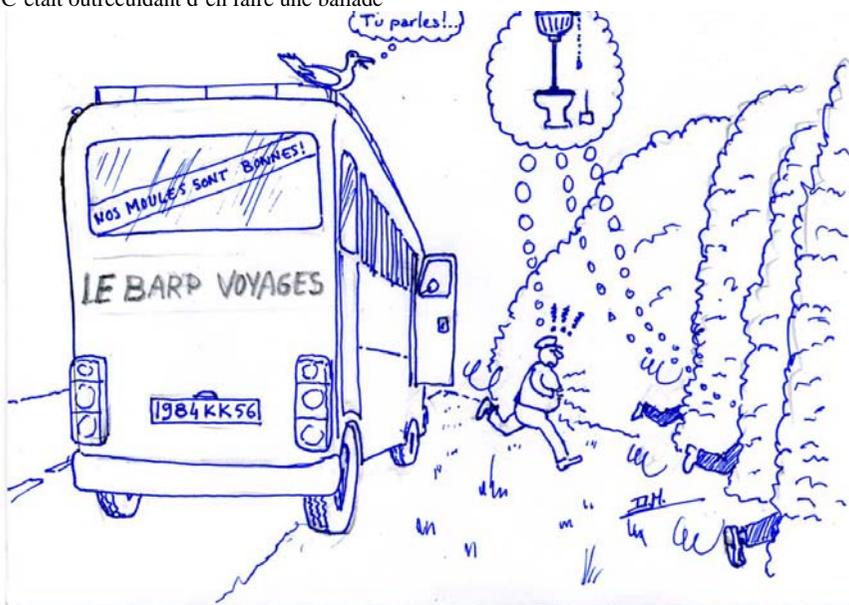
Humour certes mais sans méchanceté  
Face à tous ces producteurs si durement touchés  
Dégâts économiques, conséquences sociales  
Comment faire éviter trop de pertes fatales

Profession responsable à qui je rends hommage  
Défenseurs très musclés des mytiliculteurs  
Des conflits parfois forts, entre nous difficiles  
Mais toujours en franchise et avec du respect

Puis un jour pour nous voir ils sont tous arrivés  
Manger une mouclade assis sur la pelouse  
Professionnels sérieux qui voulaient s'informer  
Mais aussi partager avec les hommes en blouse

Nous avons discuté, échangé nos avis  
Beaucoup argumenté, jamais polémique  
Nous apprenions ensemble, presque un nouveau métier  
C'était motivation pour travail effréné

La grande innocuité ils voulaient démontrer  
Nous sûmes bien plus tard, était-ce vérité ?  
Qu'un bon nombre d'entre eux avaient été malades  
C'était outrecuidant d'en faire une ballade



1984...le début du réseau

Mettre en place un réseau, j'étais sollicité  
En mai 84 à Nantes suis arrivé  
La tâche était immense, surtout ne rien rater  
Grâce à tous les collègues nous y sommes arrivés

Partout avons cherché, les meilleurs compétences  
C'est la chasse aux meilleurs, tant que nous avons pu  
Et chacun acceptait d'être inclus dans la danse  
Malgré de vraies contraintes, n'y eut pas de refus

Et grâce à la fusion qui créa Ifremer  
Nous eûmes les moyens de nous organiser  
Achat de matériel, formations intensives  
Pour que chacun de nous puisse avoir part active

Pour les observateurs que l'on devait former  
De nombreuses sessions pour chercher dans les eaux  
Y trouver à coup sûr les espèces toxiques  
Des listes floristiques bouclaient le scénario

Pour les observations, les microscopes sont chers  
Un tiers d'investissement de l'année précédente  
Pour le seul Institut des Pêches maritimes  
Effort sans précédent, la solution flagrante

Pour mieux s'organiser nous rédigeons des notes  
Pour décrire au plus fin les actions à mener  
Qui fait quoi et pour quand, selon quelle méthode  
A la Monsieur Jourdain venait la qualité

Et pourtant une fois, sans base scientifiques  
Des prélèvements dimanche furent sitôt demandés  
Pour éviter barrage, professionnels fâchés  
Lors du passage éclair d'un Ministre concerné (\*)



Le réseau tenu bon, il accomplit sa tâche  
Sans cesse améliorer pour répondre au plus vite  
C'est tout un savoir faire qui s'est ainsi créé  
Devenant un point d'orgue de nos activités

Déjà sous ce réseau, c'est un peu mon bébé  
Se pointait le Rephy, son efficacité  
Il est devenu grand, un solide gaillard  
Très bien positionné sur de bonnes amarres

Le réseau fut si fort qu'il servit de modèle  
Aux pays étrangers, exemple au Danemark  
Européens, partout avons les mêmes marques  
Pour travailler ensemble sur des données fidèles

Et ça fait 25 ans que le réseau progresse  
Il ne faut surtout pas que notre garde baisse  
Protéger la santé, recueillir des données,  
Aider l'économie, la science pour nous aider

Glossaire :

- 1, Dinophysis : de dino, qui tourne et physis : qui a la forme d'une amphore
- 2, Istpm : Institut scientifique et technique des pêches maritimes

Références presse :

- a, L'écho de la presqu'île guérandaise
- b, Ouest France
- c, Infos-Sub
- d, La semaine vétérinaire
- e, Libération

\* : Il s'agissait du Ministre de la mer Louis Le Pen en déplacement dans le Morbihan, les mytiliculteurs ayant menacé de barrer le pont de La Roche Bernard pour stopper son convoi si certaines zones en contamination décroissante n'étaient pas immédiatement réouvertes.



## Intervention de Catherine Belin, actuelle coordinatrice nationale du REPHY

J'ai commencé à travailler avec Jean Paul Berthomé en 1985 et ai pris la coordination du réseau en 1989, cela fait donc 20 ans déjà... A cette époque, le réseau n'avait pas encore de petit nom et était nommé "réseau phytoplanctonique" ou "réseau de suivi phytoplanctonique". Les sigles REPHY et REMI sont nés simultanément, lors d'une conversation entre la coordinatrice REMI de l'époque, Laurence Miossec, et moi même : nous avons lancé ces noms par jeu, sans trop y croire, et avons été surprises de voir que leur adoption avait été quasi immédiate. Il faut dire qu'alors, des petits plaisantins nous avaient affublés de noms d'oiseaux, nous les coordinateurs de réseaux nationaux REPHY, REMI et RNO, puisque dans un dessin resté célèbre, Daniel Masson nous avait dessinés comme les petits canards de Donald : Riri, Fifi et Loulou. De Riri et Fifi à REMI et REPHY, il n'y avait qu'un pas qui a été allègrement franchi...

Pour les 25 ans du REPHY, je vais bien sûr sacrifier à la tradition des remerciements, mais je serai très brève. En premier lieu, Jean Paul Berthomé que je remercie pour sa confiance lorsqu'il m'a transmis la coordination de ce réseau en 1989. Une mention particulière pour Bruno Barnouin, qui a permis à tous les responsables de réseaux nationaux de prendre leur place avant même que les projets n'existent, et qui toujours été un soutien formidable. Ensuite, Benoit Beliaeff, l'ancien responsable du programme surveillance, qui a énormément contribué à faire du REPHY ce qu'il est actuellement. Et enfin Michel Marchand, qui a brillamment succédé à Benoit –et ce n'était pas facile-, et avec lequel c'est un véritable plaisir de travailler.

Et puis bien sûr un grand merci à tous mes collègues et amis des LERs, et ceux du laboratoire Phycotoxines et de DYNECO/Vigies : sachez que si parfois, dans les moments difficiles –il y en a eu et il y en aura encore-, l'idée m'a effleurée de laisser ma place de coordinatrice REPHY, c'est en grande partie ma motivation pour continuer à travailler avec vous tous qui m'a retenue. Ce que je peux vous dire, c'est qu'au cours de ces 20 ans je ne me suis jamais ennuyée, pas une seule minute. Quelqu'un du LER de Sète –il se reconnaîtra- m'a dit un jour : « pour nous tu seras toujours madame REPHY ». Je l'ai pris comme un compliment : tous ces petits retours positifs contrebalancent largement les difficultés, aussi allez vous devoir supporter encore quelque temps madame REPHY....

# Session sanitaire

Animation de la session : Philipp Hess, responsable du département EMP

  
Liberté • Égalité • Fraternité  
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

**Direction Générale de l'Alimentation**  
Bureau des produits de la mer et d'eau douce

**Bilan des plans de surveillance  
phycotoxines marines  
2005-2008  
Plan de surveillance 2009  
Actualités**

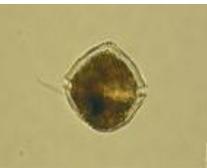
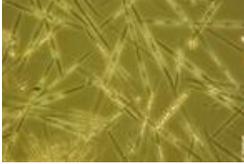
Myriam Carpentier  
DGAL/SA/SDSSA/BPMED

Journées REPHY 1-2/04/2009

  
Liberté • Égalité • Fraternité  
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

**Direction Générale de l'Alimentation**  
Bureau des produits de la mer et d'eau douce

**I - Bilan des plans de surveillance DGAL des  
phycotoxines marines dans  
les coquillages mis sur le  
marché de 2005 à 2008**

*Dinophysis* - source : JM Cavanilhac  
Alexandrium et Pseudo-nitzschia – Source : Ifremer

Journées REPHY 1-2/04/2009



**Plan de surveillance des phycotoxines et des contaminants chimiques dans les mollusques vivants**

**Stratégie d'échantillonnage**



**MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PÊCHE**

Nombre de prélèvements : environ 400 (1200 analyses) en fonction des données de production

Matrices : huîtres, moules, pectinidés et autres...

Origines : élevage et pêche

Provenance : nationale, CEE, pays tiers

Lieux de prélèvements : production et mise sur le marché

Journées REPHY 1-2/04/2009



**I- Bilan PS DGAL- phycotoxines marines 2005 - 2008**



**MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PÊCHE**

**I – 1 Bilan des toxines lipophiles (ex DSP) :**

		2005	2006	2007	2008 *	
Coquillages de Conchyliculture	Nb de prélèvements réalisés	190	199	198	Coquillages de Conchyliculture	200
	Nb de non-conformités	3	4	1	Coquillages de pêche	1
Pectinidés	Nb de prélèvements réalisés	164	147	158	Coquillages de pêche	147
	Nb de non-conformités	3	0	0	Coquilles Saint-Jacques (CE et Pays Tiers)	1
Coquilles Saint-Jacques (CE et Pays Tiers)	Nb de prélèvements réalisés	69	84	100	Coquilles Saint-Jacques (CE et Pays Tiers)	60
	Nb de non-conformités	0	0	0	Coquilles Saint-Jacques (CE et Pays Tiers)	0

\* sous réserve des extractions SIGAL

Journées REPHY 1-2/04/2009



**I- Bilan PS DGAL- phycotoxines marines 2005 - 2008**

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PÊCHE

**I – 2 Bilan des phycotoxines amnésiantes (ASP) :**

		2005	2006	2007			2008 *
Coquillages de Conchyliculture	Nb de prélèvements réalisés	189	198	198	Coquillages de Conchyliculture		201
	Nb de non-conformités	0	0	0			0
Pectinidés	Nb de prélèvements réalisés	179	147	151	Coquillages de pêche		147
	Nb de non-conformités	0	0	0			0
Coquilles Saint-Jacques (CE et Pays Tiers)	Nb de prélèvements réalisés	69	84	100	Coquilles Saint-Jacques (CE et Pays Tiers)		60
	Nb de non-conformités	0	0	0			0

\* sous réserve des extractions SIGAL

Journées REPHY 1-2/04/2009



**I- Bilan PS DGAL- phycotoxines marines 2005 - 2008**

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PÊCHE

**I – 3 Bilan des phycotoxines paralysantes (PSP) :**

		2005	2006	2007			2008 *
Coquillages de Conchyliculture	Nb de prélèvements réalisés	186	197	197	Coquillages de Conchyliculture		199
	Nb de non-conformités	0	0	0			0
Pectinidés	Nb de prélèvements réalisés	152	148	150	Coquillages de pêche		148
	Nb de non-conformités	0	0	0			0
Coquilles Saint-Jacques (CE et Pays Tiers)	Nb de prélèvements réalisés	69	84	100	Coquilles Saint-Jacques (CE et Pays Tiers)		60
	Nb de non-conformités	0	0	0			0

\* sous réserve des extractions SIGAL

Journées REPHY 1-2/04/2009

  
Liberté • Égalité • Fraternité  
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTÈRE  
DE L'AGRICULTURE  
ET DE LA PÊCHE

## Plan de surveillance des phycotoxines et des contaminants chimiques dans les mollusques vivants



### II - Plan de surveillance des phycotoxines et des contaminants chimiques dans les mollusques vivants 2009

Note de service :  
DGAL/SDSSA/SDQA/N2008-8338  
du 22 décembre 2008

Journées REPHY 1-2/04/2009

  
Liberté • Égalité • Fraternité  
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTÈRE  
DE L'AGRICULTURE  
ET DE LA PÊCHE

## Plan de surveillance des phycotoxines et des contaminants chimiques dans les mollusques vivants

### 1. Introduction et objectifs

Les propriétés d'accumulation des coquillages à l'égard des phycotoxines et des contaminants de l'environnement rendent nécessaire le maintien du présent plan de surveillance, institué en 1998.

En effet, ce plan permet d'évaluer la contamination des coquillages au stade de leur mise sur le marché et de disposer de données en la matière, comme le prévoient le chapitre 2, point D.2 de l'annexe 2 du règlement (CE) n°854/2004 et le règlement (CE) n°1881/2006.

En décembre 2006, la DGAL a demandé à l'AFSSA un appui scientifique et technique relatif à la stratégie d'échantillonnage du plan de surveillance des phycotoxines dans les mollusques bivalves vivants .

En avril 2008, l'AFSSA a rendu un avis (n°2007-SA-0009) relatif à l'évaluation de la stratégie d'échantillonnage du plan de surveillance des phycotoxines dans les mollusques bivalves vivants. Les recommandations de cet avis ont été prises en compte dans la stratégie d'échantillonnage du plan 2009.

Journées REPHY 1-2/04/2009



**Plan de surveillance des phycotoxines et des contaminants chimiques dans les mollusques vivants**

**2. Stratégie d'échantillonnage**



**VENTILATION DES PRÉLÈVEMENTS PAR ESPÈCES ET ANALYTES :**

	Moules		Huîtres		Péctinidés		Autres mollusques bivalves *	Total
	Origine nationale	Origine non-nationale	Origine nationale	Origine non-nationale	Origine nationale	Origine non-nationale		
Phycotoxines lipophiles	53	100	135	5	20	110	10	433
Phycotoxines amnésiantes	43	85	135	5	30	120	10	428
Phycotoxines paralysantes	43	85	135	5	20	110	10	408

\* Toutes espèces de mollusques bivalves vivants autres que les espèces de moules, huîtres et péctinidés.

Les prélèvements sont réalisés aussi bien en production qu'au niveau de la remise au consommateur final (GMS, poissonneries, etc...).

L'ensemble des régions métropolitaines sont concernées par ces prélèvements.

Journées REPHY 1-2/04/2009



**Plan de surveillance des phycotoxines et des contaminants chimiques dans les mollusques vivants**

**III – Actualités 2009**

- compétences DGAL
- mise en ligne du statut des zones conchycolles
- travaux nationaux
- Travaux communautaires





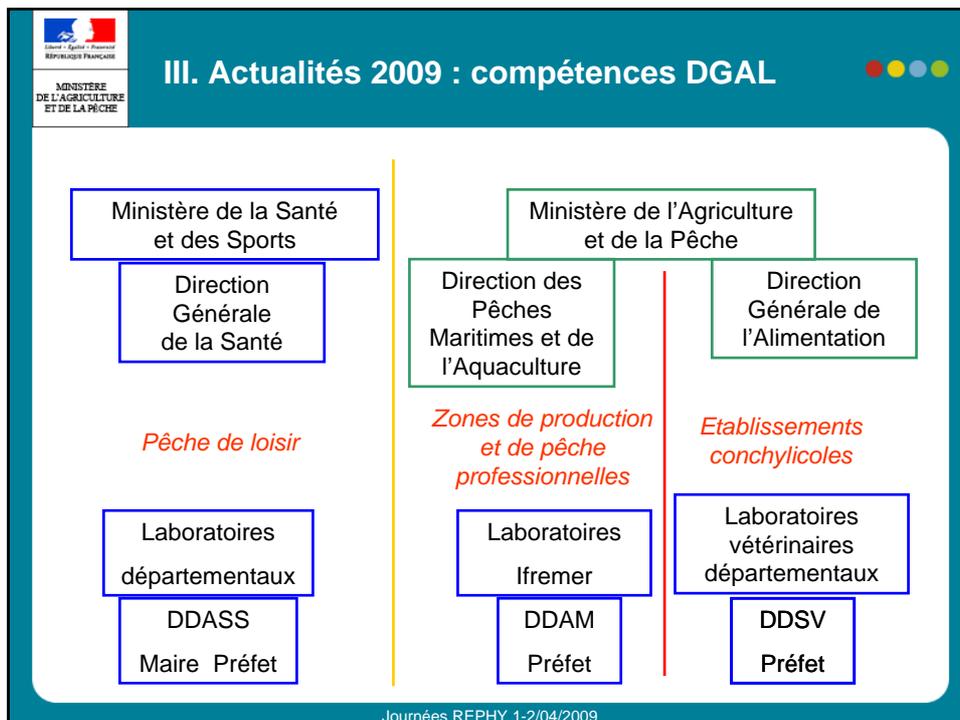
Journées REPHY 1-2/04/2009

  
MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PÊCHE

### III. Actualités 2009 : compétences DGAL

- Parution Décret et AM 30/06/2008
- transfert des missions relatives au classement et à la gestion des zones conchylicoles  
DPMA → DGAL
  - Au niveau central (sanitaire et **zoosanitaire**)
  - Pas de changement au niveau local

Journées REPHY 1-2/04/2009





  
MINISTÈRE  
DE L'AGRICULTURE  
ET DE LA PÊCHE

### III. Actualités 2009 : travaux nationaux (1)

- avis AFSSA 16 sept 2008 relatif à la pertinence des tests de détection des phycotoxines lipophiles dans les coquillages
- avis AFSSA du 28 avril 2008 relatif aux biotoxines marines dans les coquillages : recherche des phycotoxines dans les coq groupe 1
- extension des PS aux coquillages du groupe 1 (gastéropodes, échinodermes, tuniciers) : 2010
- avis AFSSA 14 nov 2008 maîtrise du risque phycotoxinique dans les pectinidés (filière éviscération)
- AST 19 déc 2008 (AFSSA et Ifremer) dans le cadre du protocole de fonctionnement des Ets conchylicoles en période de fermeture (pompage et utilisation de l'eau de zone fermée)

Journées REPHY 1-2/04/2009

  
MINISTÈRE  
DE L'AGRICULTURE  
ET DE LA PÊCHE

### III. Actualités 2009 : travaux nationaux (2)

- Ostreopsis : avis AFSSA 11 juillet 2008 pertinence de compléter le dispositif de surveillance par prise en compte d'*Ostreopsis*
- intégré dans le cahier REPHY en 2009 + étude Ifremer pour déterminer les espèces bioaccumulatrices (oursins, PP...)

Journées REPHY 1-2/04/2009

  
Liberté • Égalité • Fraternité  
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTÈRE  
DE L'AGRICULTURE  
ET DE LA PÊCHE

### III. Actualités 2009 : travaux communautaires

- avis de l'AESA relatifs aux biotoxines marines dans les coquillages : AO et analogues (publié 31 janvier 2008), AZA (publié 8 octobre 2008)...  
autres avis à venir fin 1<sup>er</sup> semestre 2009
- groupe de travail communautaire (DG SANCO) pour discuter des suites qui seront données à ces avis  
2<sup>nd</sup> semestre 2009
- attente d'un avis de l'AESA sur les seuils en phycotoxines à retenir sur les coquillages transformés (produits de la pêche) (idem coquillages vivants ?)
- Commission motivée pour favoriser le développement de méthodes alternatives au bio-essai sur souris (tox lipophiles)

Journées REPHY 1-2/04/2009

  
Liberté • Égalité • Fraternité  
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTÈRE  
DE L'AGRICULTURE  
ET DE LA PÊCHE

### Direction Générale de l'Alimentation

Bureau des produits de la mer et d'eau douce



Merci de votre attention

Journées REPHY 1-2/04/2009



afssa  
AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ SANITAIRE  
DES ALIMENTS

## Méthodes d'analyse des phycotoxines et essais d'aptitude

Ronel BIRE  
AFSSA – LERQAP, LNR Biotoxines marines

Journées Réphy  
IFREMER Nantes, le 2 avril 2009

Journées Réphy, 1 – 2 avril 2009

### Plan de la présentation



- Méthodes d'analyse
  - Réglementation et méthodes d'analyse
  - Processus de modification des méthodes d'analyse
  - Exemple de modifications
- Essais interlaboratoires (EIL)
  - EIL 2007
    - Toxines lipophiles
    - Toxines paralysantes
  - EIL 2008
    - Toxines amnésiantes



afssa  
AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ SANITAIRE  
DES ALIMENTS

2

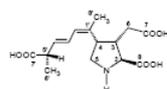
Journées Réphy, 1 – 2 avril 2009

## Toxines réglementées et méthodes d'analyse

853/2004 (Paquet Hygiène) → seuils réglementaires

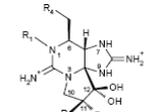
**Hydrophiles**

**Groupe acide domoïque**



**M. Réf**  
2074/2005/CE

**Saxitoxines**

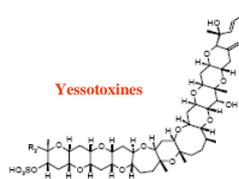


**M. Réf**  
2074/2005/CE

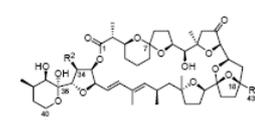
**M. Alt.**  
1664/2006/CE

**Lipophiles**

**Yessotoxines**



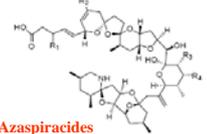
**Pecténotoxines**



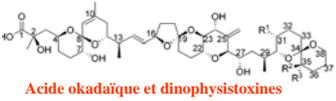
**M. Réf**  
2074/2005/CE

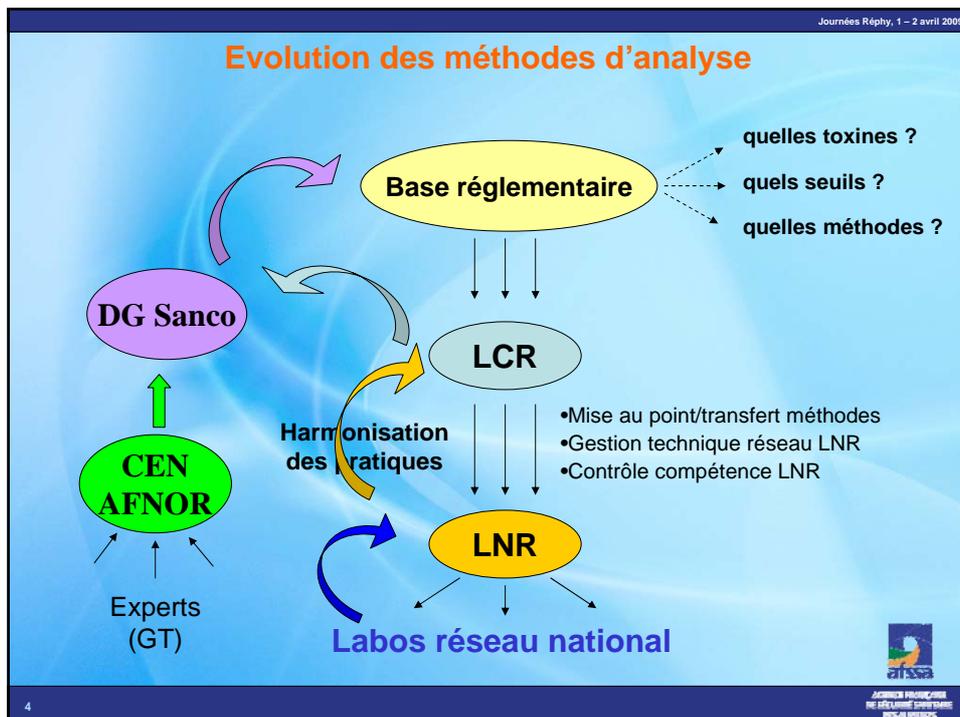


**Azaspiracides**



**Acide okadaïque et dinophysistoxines**





Journées Réphy, 1 – 2 avril 2009

### Exemple d'évolution des méthodes d'analyse

- Nouveau référencement des méthodes
  - simplification de leur intitulé
  - meilleure traçabilité

Méthode AOAC n°959.08, 1990 - rév. 00 du 19/07/2004  
Méthode du LNR adaptée de la méthode diffusée par le LCR "Biotoxines Marines" basée sur la méthode AOAC n° 959.08, 1990 " Dosage des Phycotoxines Paralysantes (Saxitoxine et dérivés) par bioessais sur souris "

➔

**LNRBM-PSP 01**  
**Rév. 00 du 10 mars 2008**

- Utilisation de contrôles internes (positifs / négatifs)
  - Meilleure garantie de la fiabilité des résultats

5



Journées Réphy, 1 – 2 avril 2009

### EIL toxines lipophiles sur HP : méthode Yasumoto et al. 1984 modifiée (renommée depuis LNRBM-LIP 01)

- EIL organisé en mai 2007
- 14 participants dont 8 labos de l'IFREMER
- Caractéristiques des 3 échantillons envoyés pour analyse (broyat HP)
  - Nature :
    - Echantillon 1 : moules précuites, **non contaminées**, origine Chili
    - Echantillon 2 : pétoncles **naturellement contaminées**, France
    - Echantillon 3 : moules **naturellement contaminées**, France
  - Test d'homogénéité et de stabilité :
    - réalisé par BES (comparaison temps de survie et des symptômes)
    - test réalisé sur 10% des portions préparées / échantillon
    - échantillons considérés comme homogènes et stables

6



Journées Réphy, 1 – 2 avril 2009

- Profil toxinique (LC-MS/MS) :

- Echantillon 1  
Aucune toxine lipophile détectée
- Echantillon 2  
AO : 95,6 µg / kg de chair ; DTX-3 : 365,8 µg / kg de chair  
SPX 13deMeC : 0,5 µg / kg de chair  
↳ **toxicité totale 461,4 µg éq. AO / kg + 0,5 µg SPX / kg**
- Echantillon 3  
AO : 43,6 µg / kg de chair ; DTX-3 : 113,1 µg / kg de chair  
SPX 13deMeC : 6,7 µg / kg de chair  
↳ **toxicité totale de 156,7 µg éq. AO / kg + 6,7 µg SPX / kg**

7



AFSSA  
AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ ALIMENTAIRE  
ET DES PHARMACOVIGILANCES

Journées Réphy, 1 – 2 avril 2009

- Résultats

- Echantillon 1 :

- résultat attendu (LNR) : BES négatif (0/3 souris morte), aucun symptôme
- 11 participants → BES négatif (0/3 souris morte) + démangeaisons observées (3 participants)
- 3 participants → BES positif (3/3 souris mortes) + démangeaisons observées, têtes gonflées (3 participants)

- Echantillon 2 :

- résultat attendu (LNR) : BES positif (2-3/3 souris mortes)
- 13 participants → BES positif (2-3/3 souris mortes)
- 1 participant → BES négatif (0/3 souris morte). « Diarrhées » rapportées pour 2 souris

- Echantillon 3 :

- résultat attendu (LNR) : BES positif (2-3/3 souris mortes)
- 14 participants → BES positif (2-3/3 souris mortes)

8



AFSSA  
AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ ALIMENTAIRE  
ET DES PHARMACOVIGILANCES

Journées Réphy, 1 – 2 avril 2009

### EIL toxines lipophiles sur chair totale : méthode Hannah et al. 1995 (renommée depuis LNRBM-LIP 02)

- EIL organisé en juin 2007
- 10 participants dont 5 labos de l'IFREMER
- Caractéristiques des 2 échantillons envoyés pour analyse (noix+corail)
  - Nature :
    - Echantillon 1 : noix + corail de coquilles St Jacques (France) **non contaminées**
    - Echantillon 2 : échantillon 1 avec ajout std AO ( $\approx 195 \mu\text{g}/\text{kg}$ )
  - Test d'homogénéité et de stabilité:
    - réalisé par BES (comparaison temps de survie et des symptômes)
    - test réalisé sur 10% des portions préparées / échantillon
    - échantillons considérés comme homogènes et stables
  - Profil toxinique (LC-MS/MS) :
    - Echantillon 1 : aucune toxine lipophile détectée

9



AFSSA  
AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ ALIMENTAIRE  
ET DES PHARMACOVIGILANCES

Journées Réphy, 1 – 2 avril 2009

- Résultats
  - Echantillon 1 :
    - résultat attendu (LNR) : BES négatif (0/3 souris morte), aucun symptôme
    - 10 participants → BES négatif (0/3 souris morte), aucun symptôme
  - Echantillon 2 :
    - résultat attendu (LNR) : BES positif (2-3/3 souris mortes)
    - 9 participants → BES positif (2-3/3 souris mortes)
    - 1 participant → BES négatif (0/3 souris morte 24h après injection).  
Cependant 3/3 souris mortes au delà de 24h

10



AFSSA  
AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ ALIMENTAIRE  
ET DES PHARMACOVIGILANCES

Journées Réphy, 1 – 2 avril 2009

### EIL toxines paralysantes sur chair totale : méthode AOAC 959.08 1990 (renommée depuis LNRBM-PSP 01)

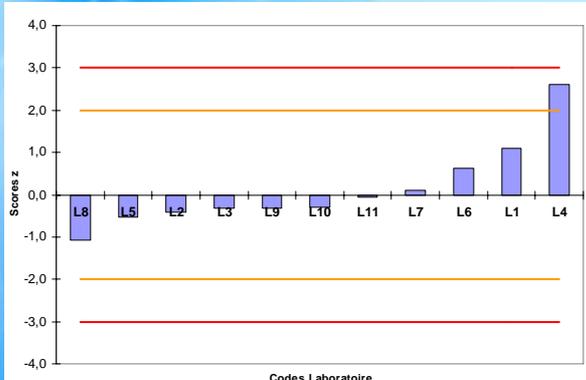
- EIL organisé en décembre 2007
- 11 participants dont 5 labos de l'IFREMER
- Caractéristiques des 2 échantillons envoyés pour analyse (broyat chair totale de moules)
  - Nature :
    - Echantillon 1 : moules précuites, **non contaminées**, origine Chili
    - Echantillon 2 : moules **naturellement contaminées** origine France (étang de Thau)
  - Test d'homogénéité et de stabilité :
    - réalisé par BES
    - test réalisé sur 10% des portions préparées / échantillon
    - échantillons homogènes ([éch. 2]<sub>moy</sub> = 50 µg éq. STX di-HCl/100g et CV éch. 2 = 10%) et stables

11



Journées Réphy, 1 – 2 avril 2009

- Résultats
  - Echantillon 1 :
    - résultats participants < LD ( $\approx 40 \mu\text{g éq STX di-HCl} / 100\text{g}$ )
  - Echantillon 2 :



Code Laboratoire	Score z
L8	-1.2
L5	-0.5
L2	-0.5
L3	-0.5
L9	-0.5
L10	-0.5
L11	-0.5
L7	0.1
L6	0.5
L1	1.0
L4	2.5

- 1 résultat discutable ( $2 < \text{Z-score} < 3$ )
- 10 résultats satisfaisants

12



Journées Réphy, 1 – 2 avril 2009

### EIL toxines amnésiantes sur chair totale : méthode LNRBM-ASP 01

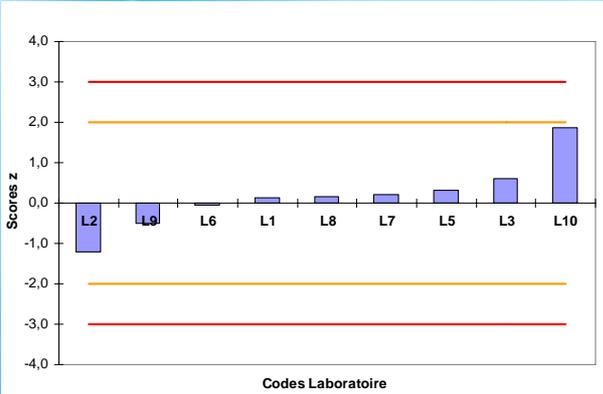
- EIL organisé en octobre 2008
- 10 participants dont 2 labos de l'IFREMER
- Caractéristiques des 2 échantillons envoyés pour analyse
  - Nature :
    - Echantillon 1 : coquilles St Jacques naturellement contaminées origine France
    - Echantillon 2 : solution AD
  - Test d'homogénéité et de stabilité :
    - réalisé par CLHP-UV
    - test réalisé sur 10% des portions préparées / échantillon
    - échantillons homogènes et stables

13



AFSSA  
AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ ALIMENTAIRE  
ET MÉDICAMENTS

Journées Réphy, 1 – 2 avril 2009

- Résultats
  - Echantillon 1 :

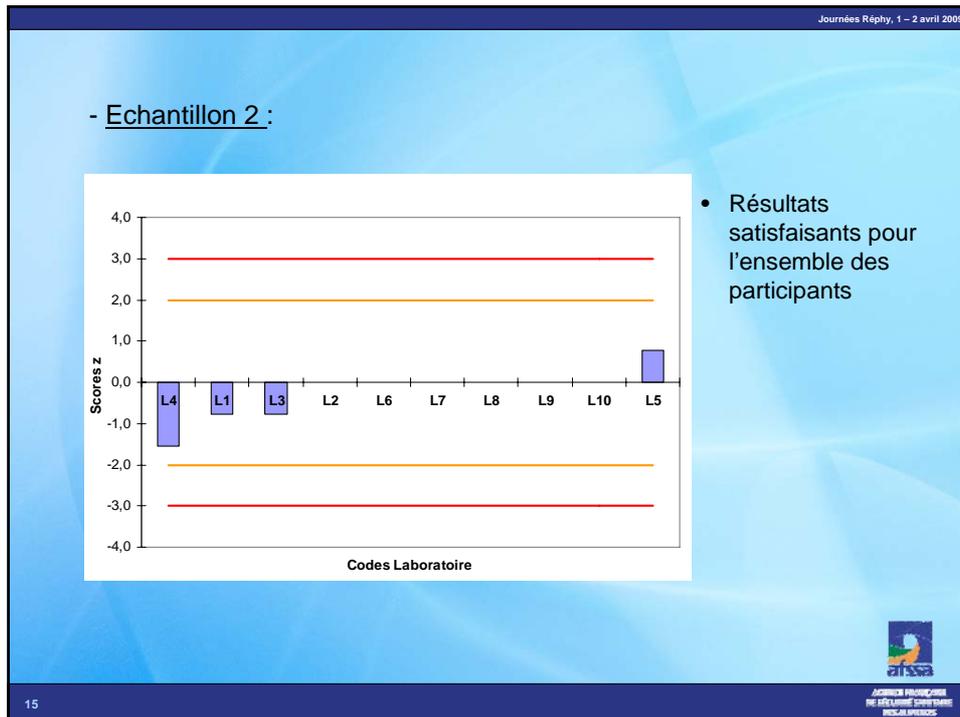
Code Laboratoire	Score z
L2	-1.2
L9	-0.5
L6	0.0
L1	0.1
L8	0.2
L7	0.3
L5	0.4
L3	0.6
L10	1.8

    - 9 résultats satisfaisants
    - Calcul de Z-score impossible pour 1 participant (répétabilité intra-laboratoire non conforme)

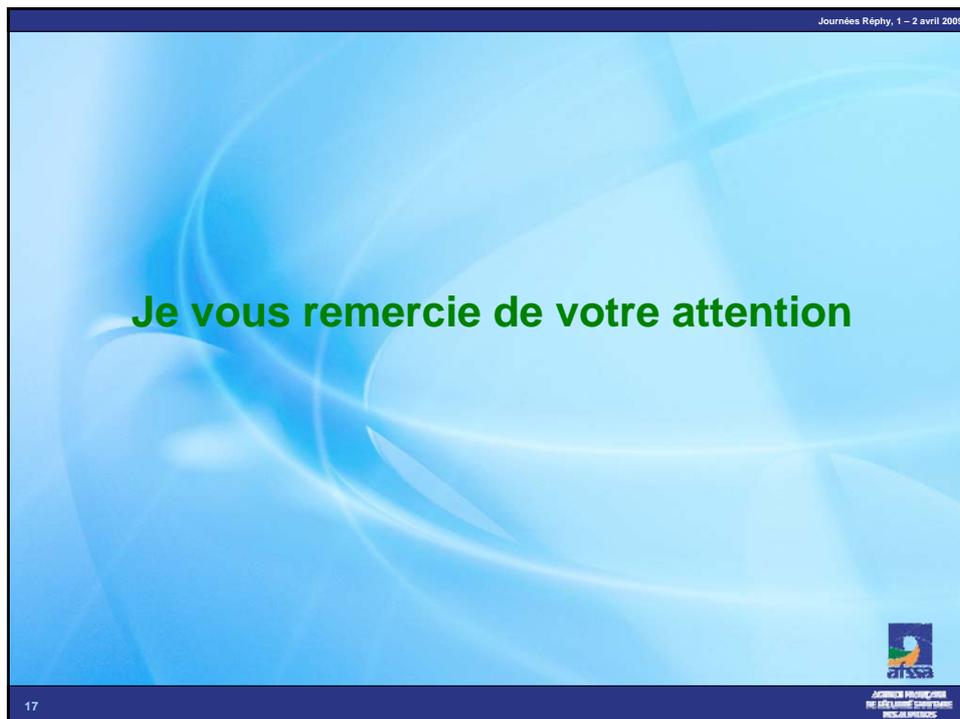
14

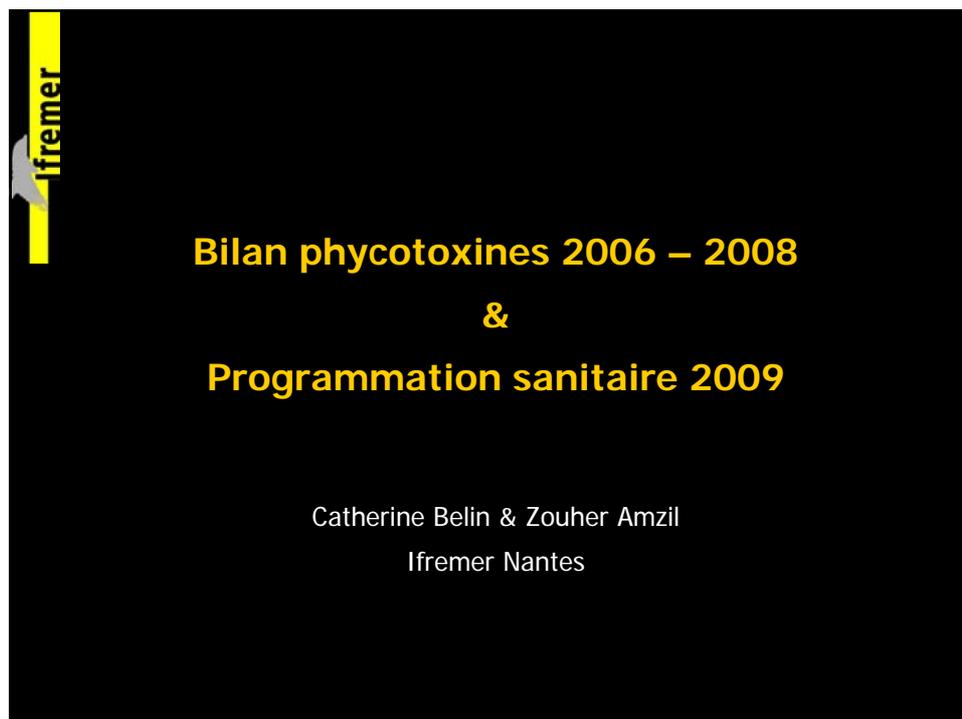


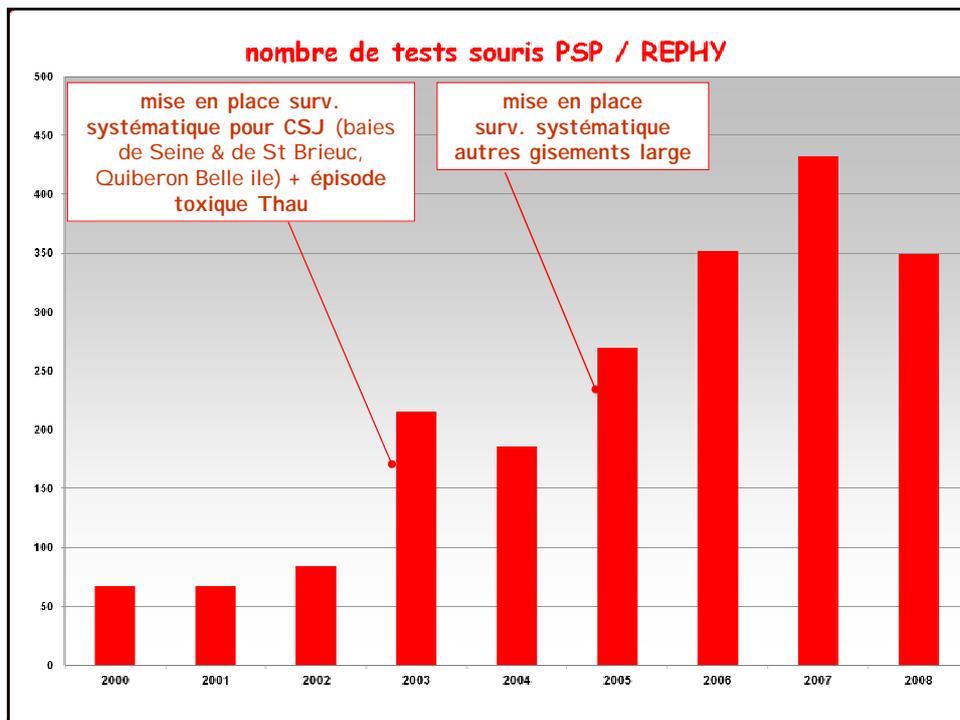
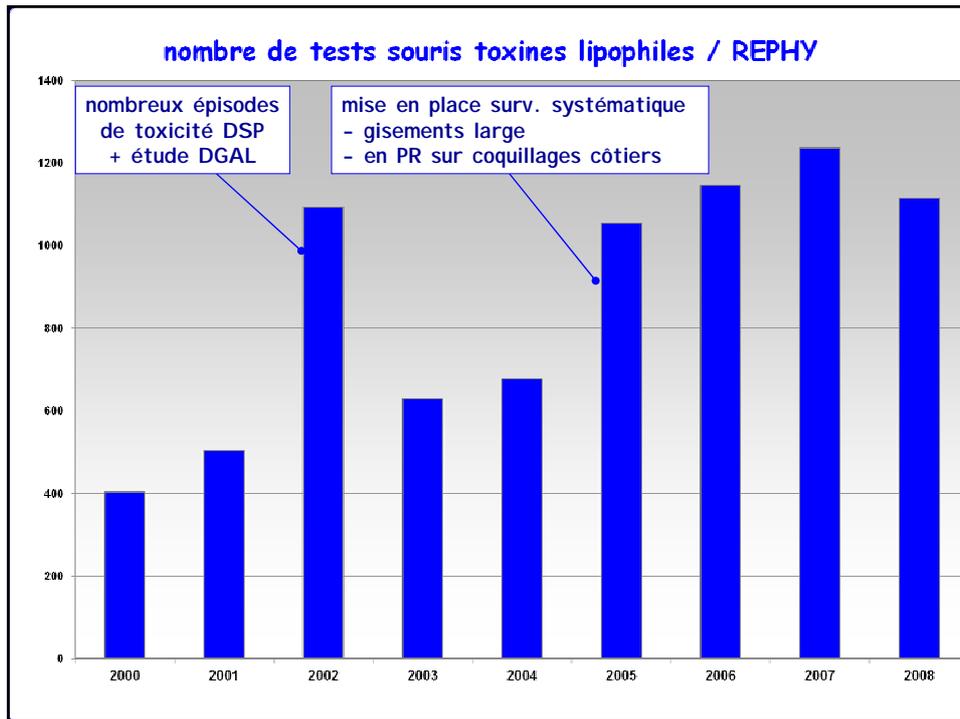
AFSSA  
AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ ALIMENTAIRE  
ET MÉDICAMENTS

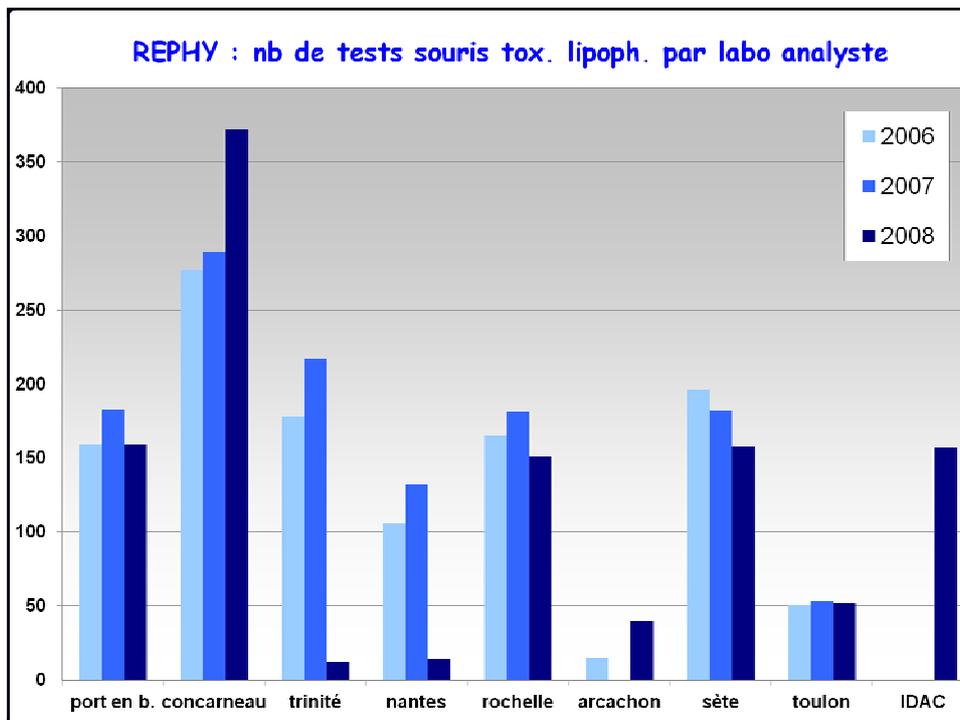
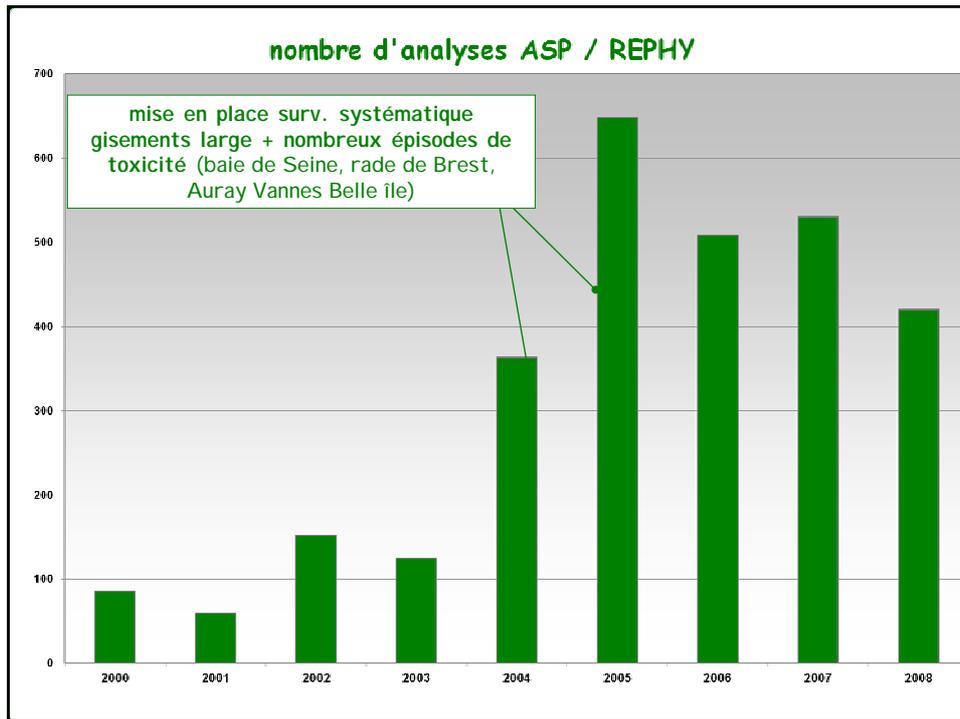


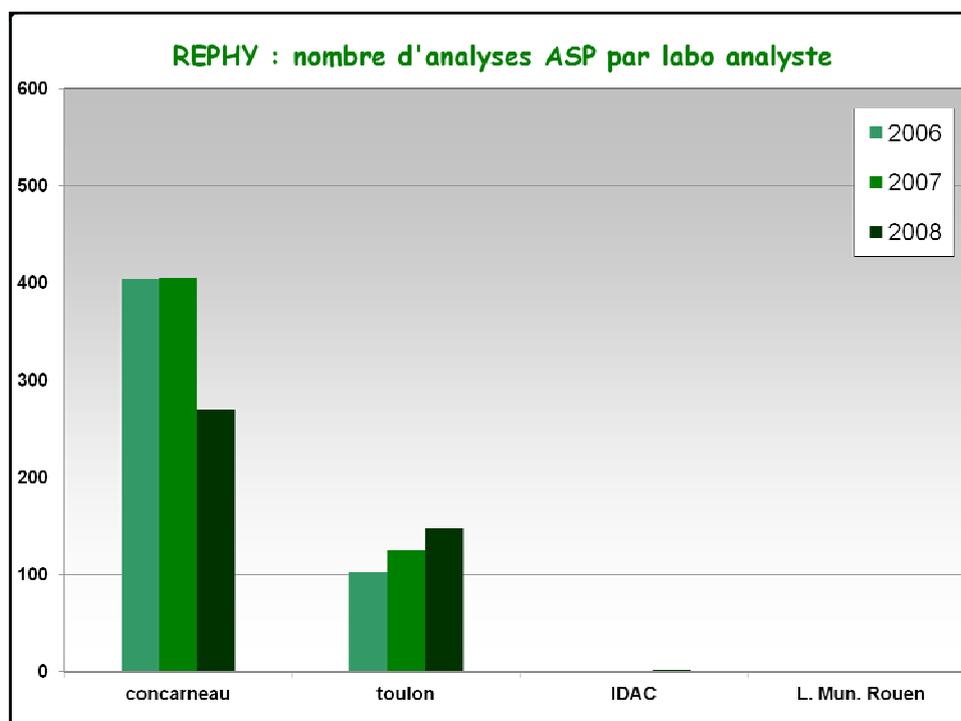
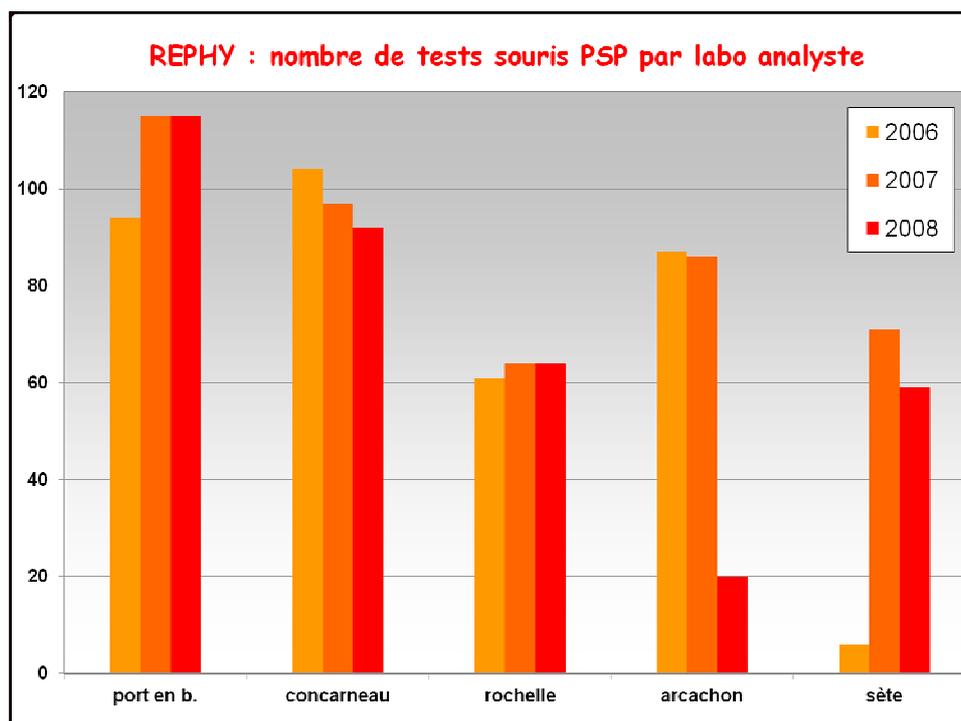
- Journées Réphy, 1 – 2 avril 2009
- ### Suites données aux EIL
- Envoi d'un courrier de synthèse à l'ensemble des participants (synthèse des résultats)
  - Identification des écarts relevés
  - Demande de mise en place d'actions correctives dans les laboratoires concernés
  - Envoi du rapport final (incluant les actions mises en place) aux participants + DGAI
- ↪ Suivre la compétence des laboratoires impliqués dans le contrôle officiel afin de permettre une amélioration continue des pratiques
  - ↪ Pas vocation à se substituer au COFRAC ou à la DGAI
- 16
- 
- AFSSA  
AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ ALIMENTAIRE  
ET MÉDICAMENTS

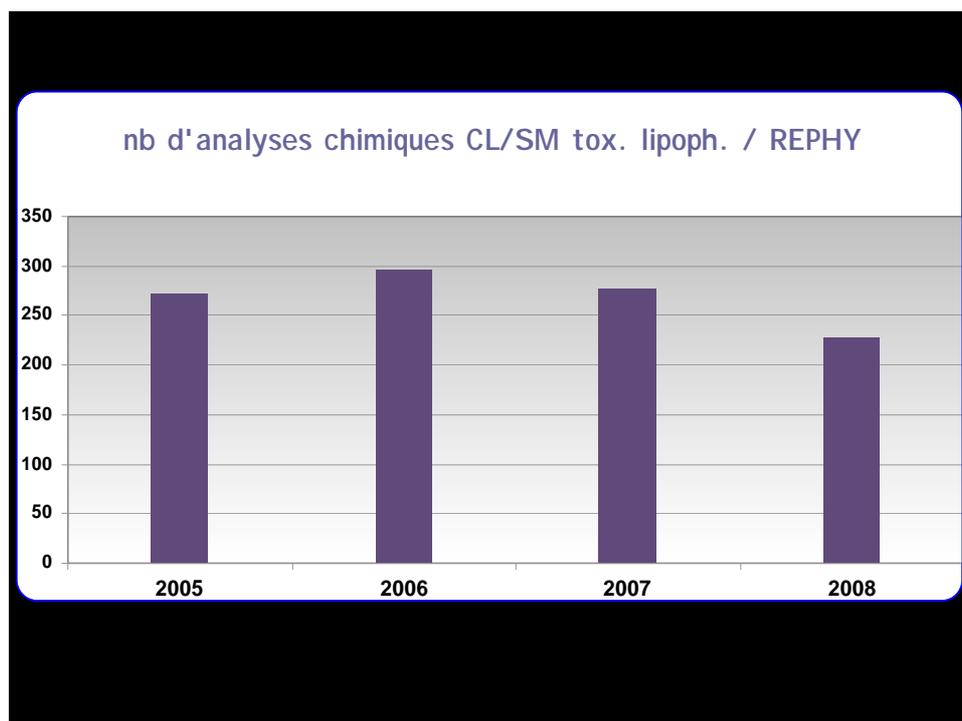








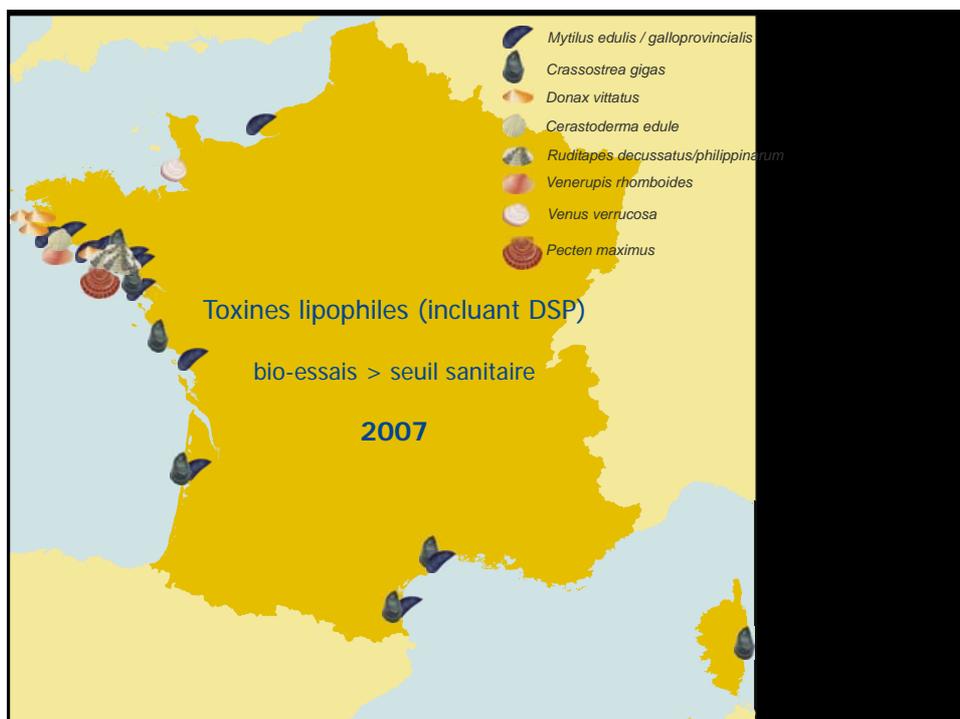




**ifremer**

**Bilan bio-essais toxines lipophiles  
2006 - 2008**

Catherine Belin, Journées REPHY, 1<sup>er</sup> et 2 avril 2009





**Comparaison des résultats  
bio-essais / analyses chimiques  
pour les toxines lipophiles**

cf. tableau 4 de l'avis de l'Afssa du 16 septembre 2008

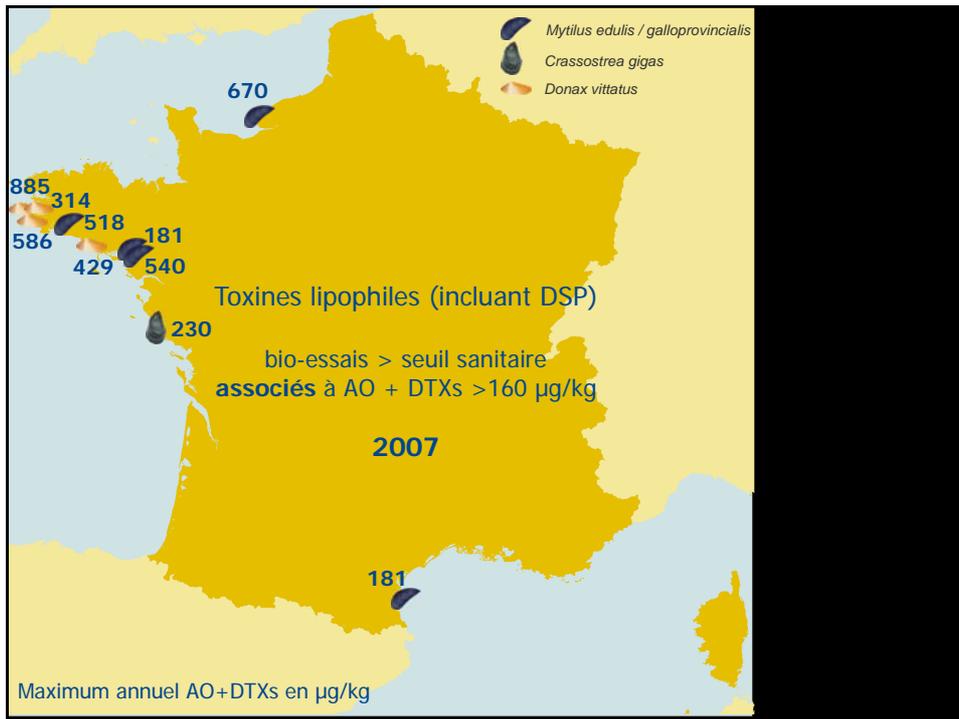
Catherine Belin, Journées REPHY, 1<sup>er</sup> et 2 avril 2009

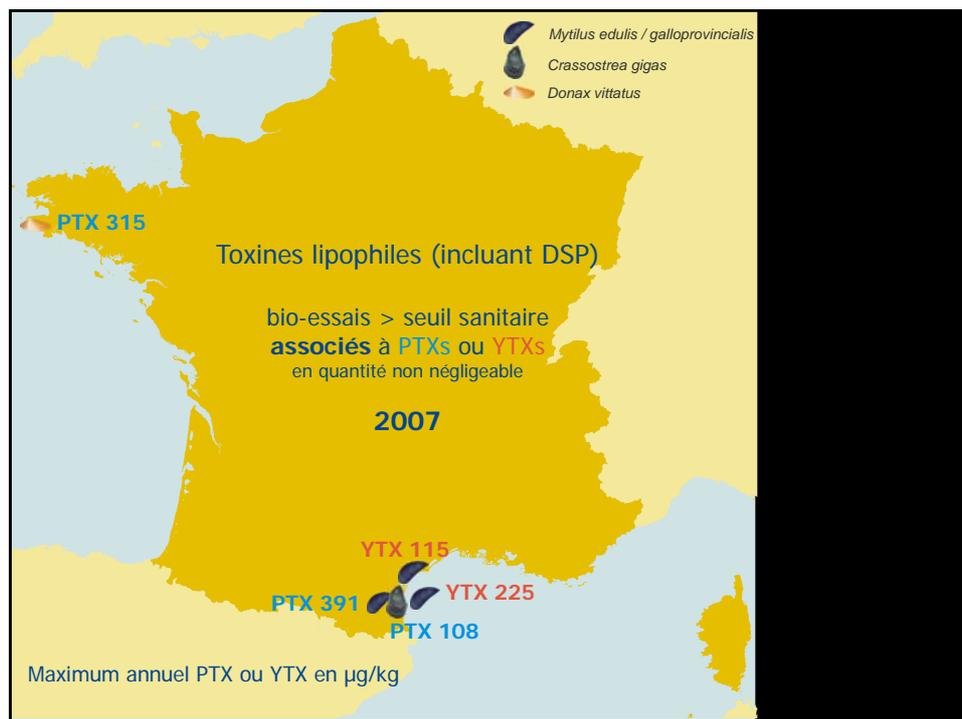


**Bio-essais / analyses chimiques  
toxines lipophiles**

**2007**

Catherine Belin, Journées REPHY, 1<sup>er</sup> et 2 avril 2009

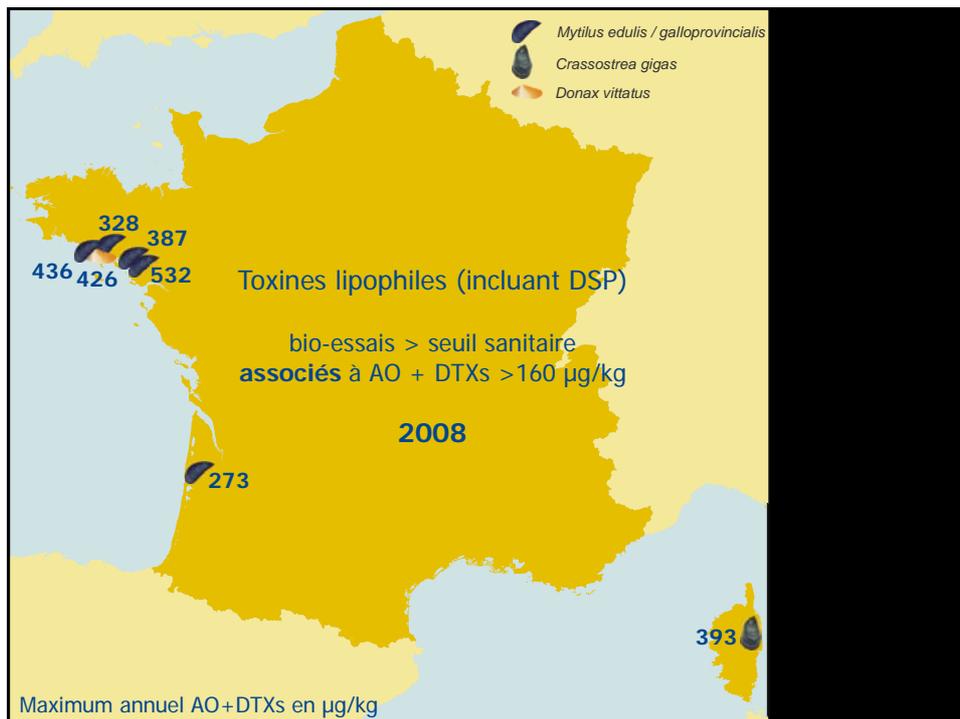


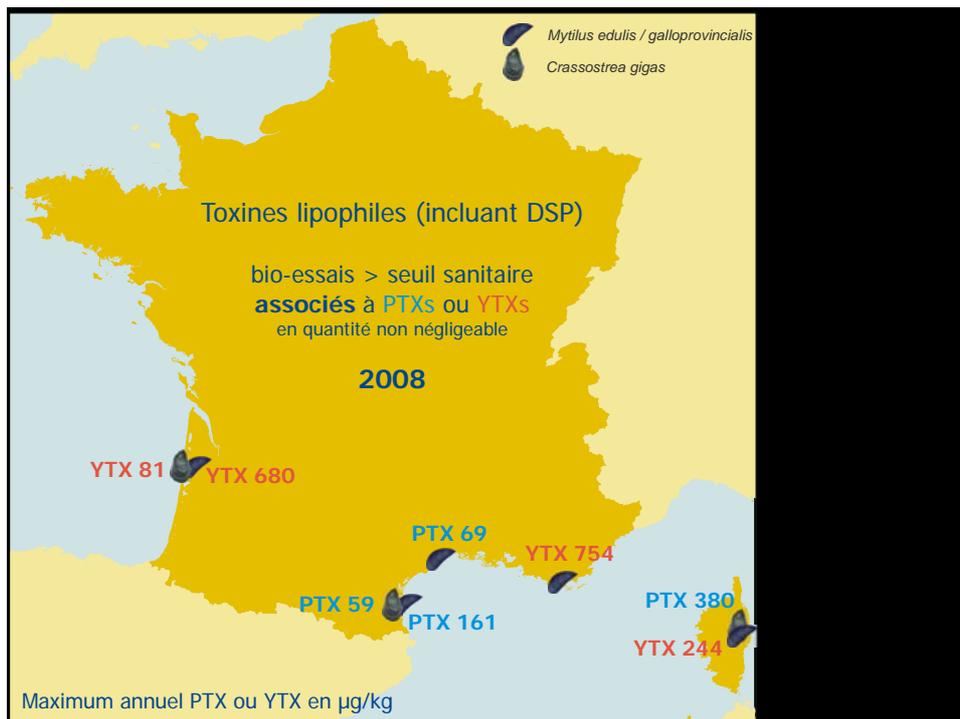


**Bio-essais / analyses chimiques  
toxines lipophiles**

**2008**

Catherine Belin, Journées REPHY, 1<sup>er</sup> et 2 avril 2009



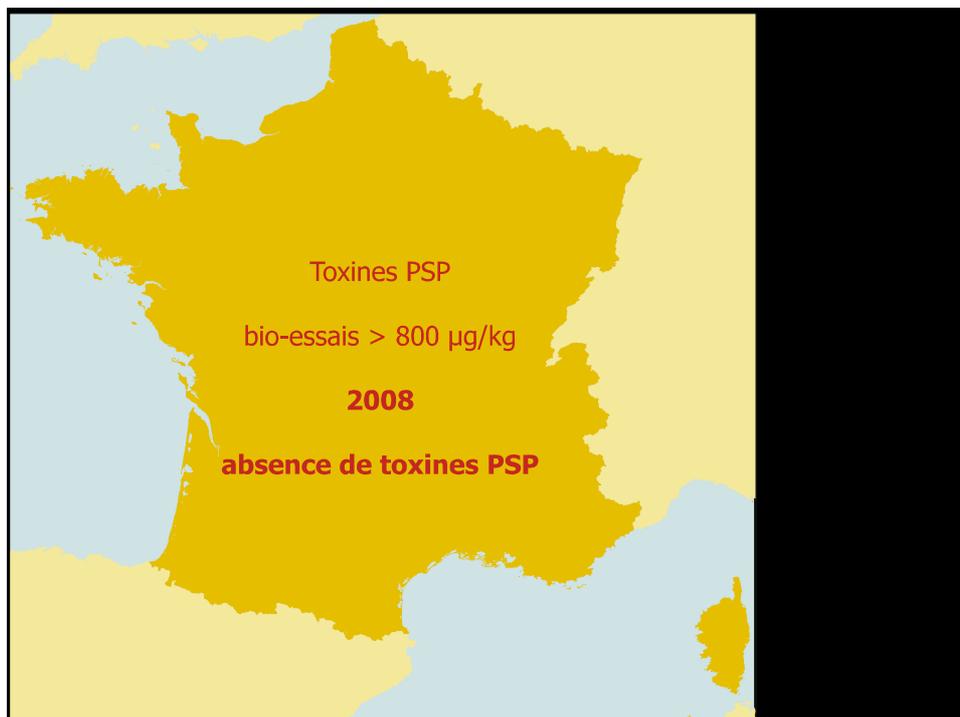
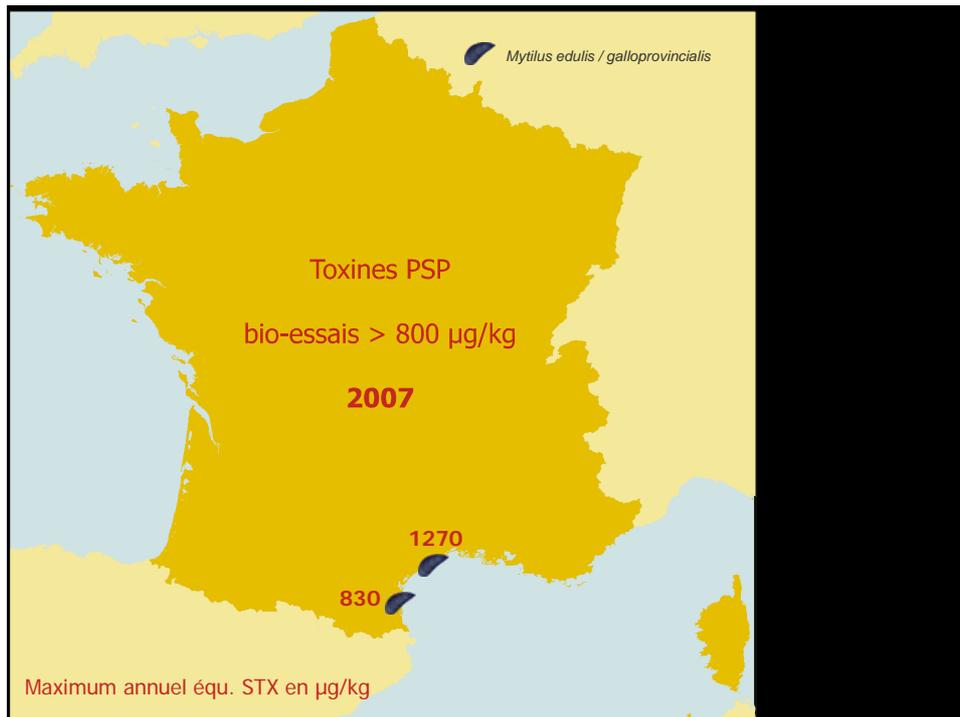


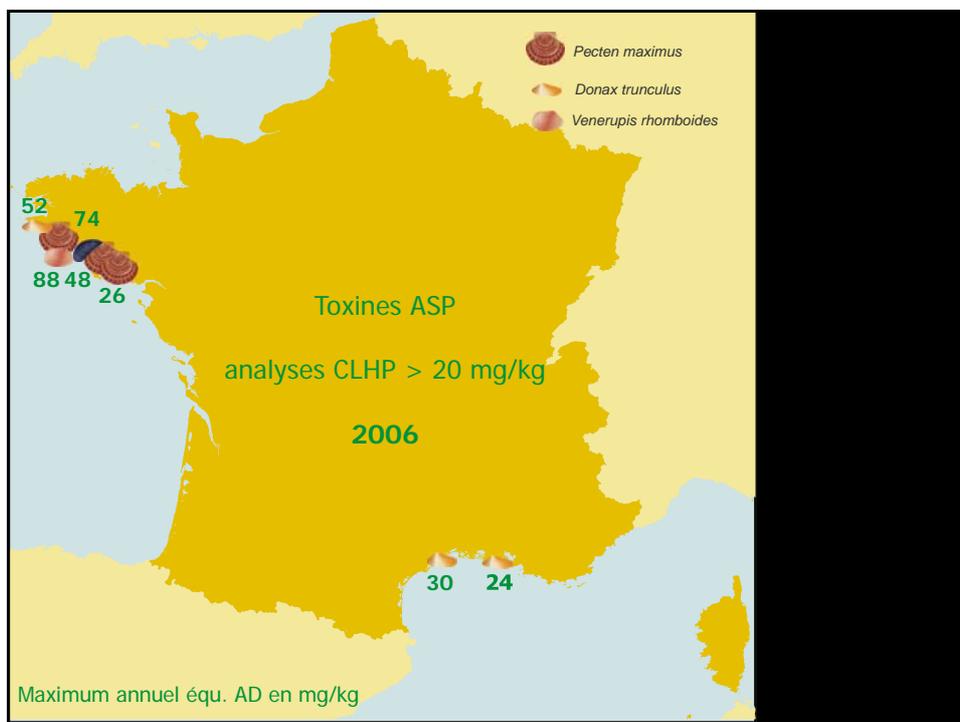
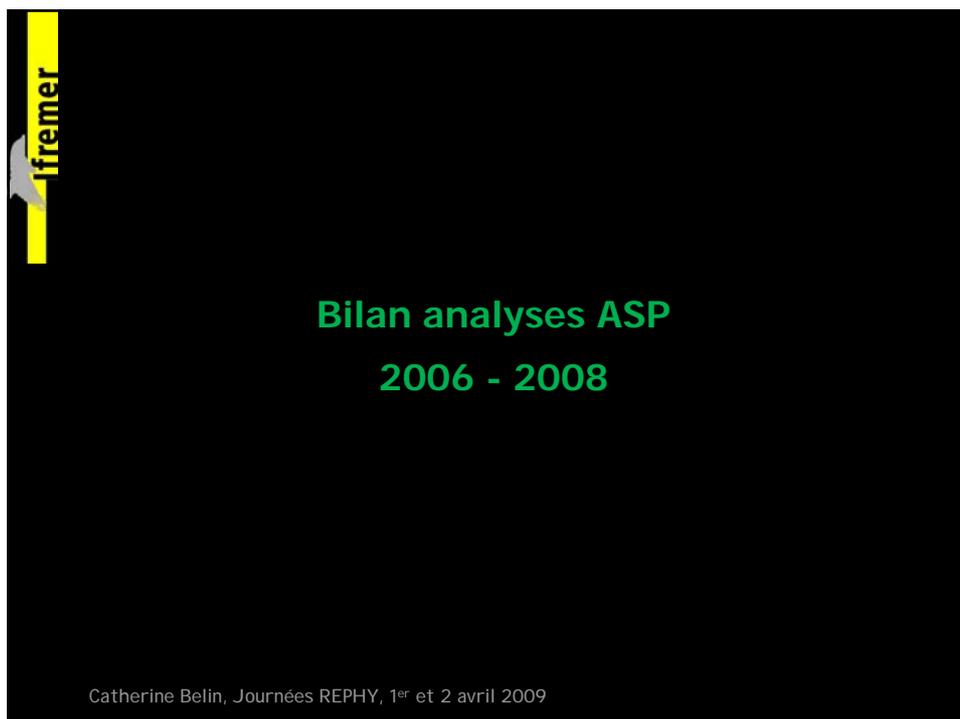
## Données toxines lipophiles

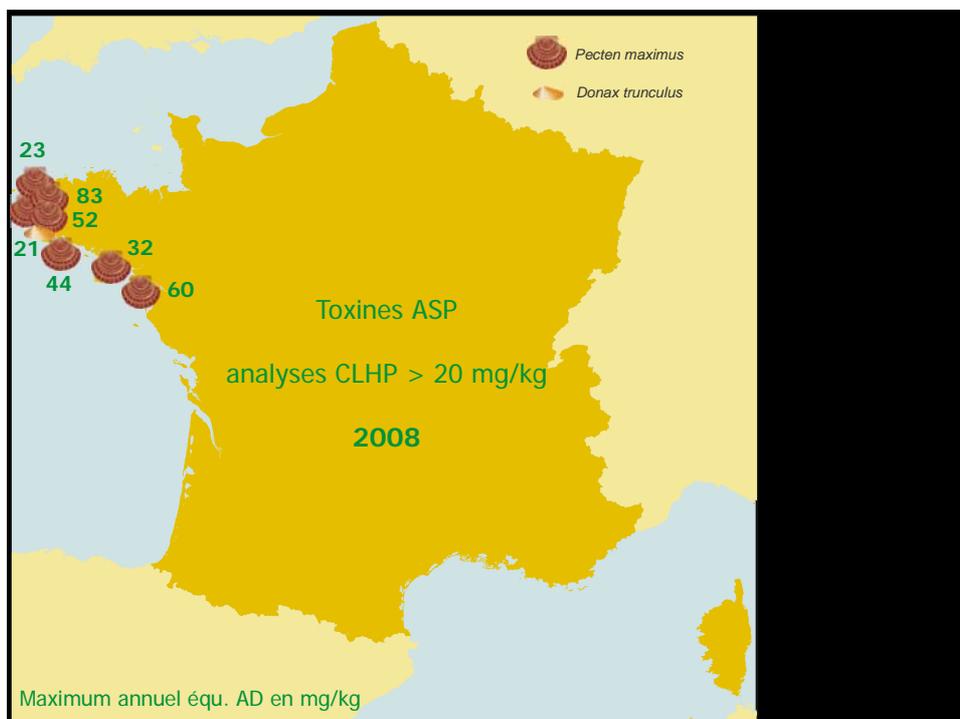
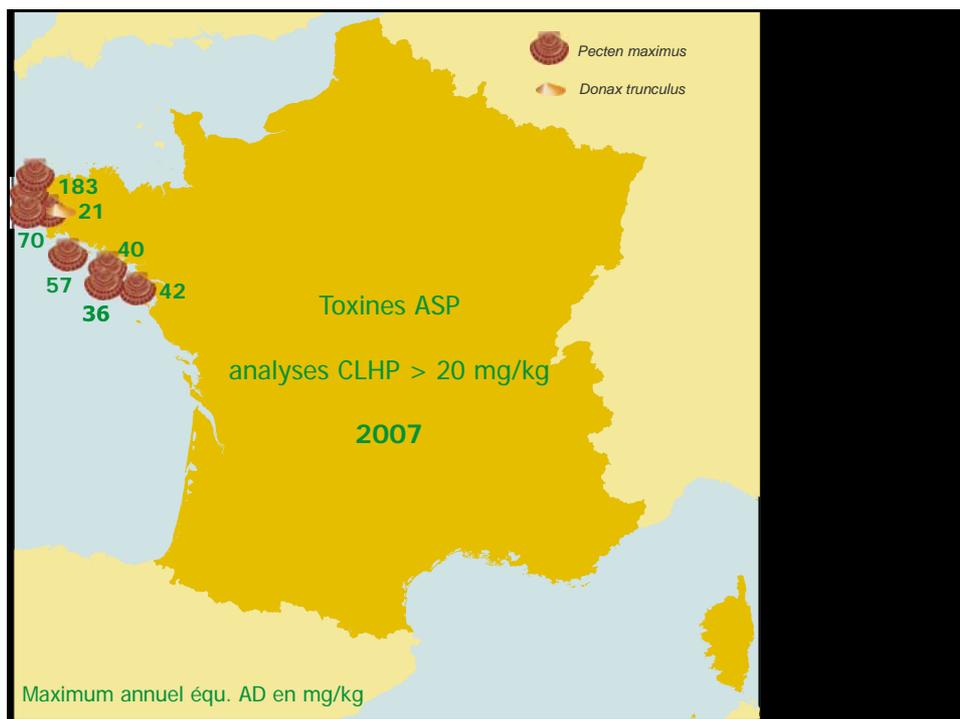
### • Etude statistique en cours

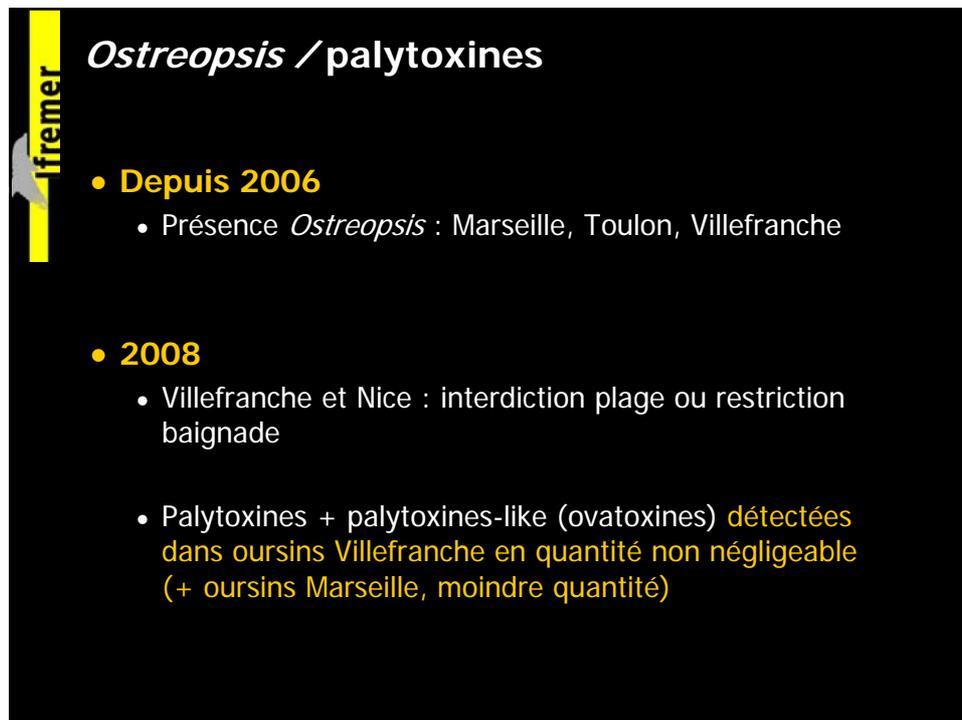
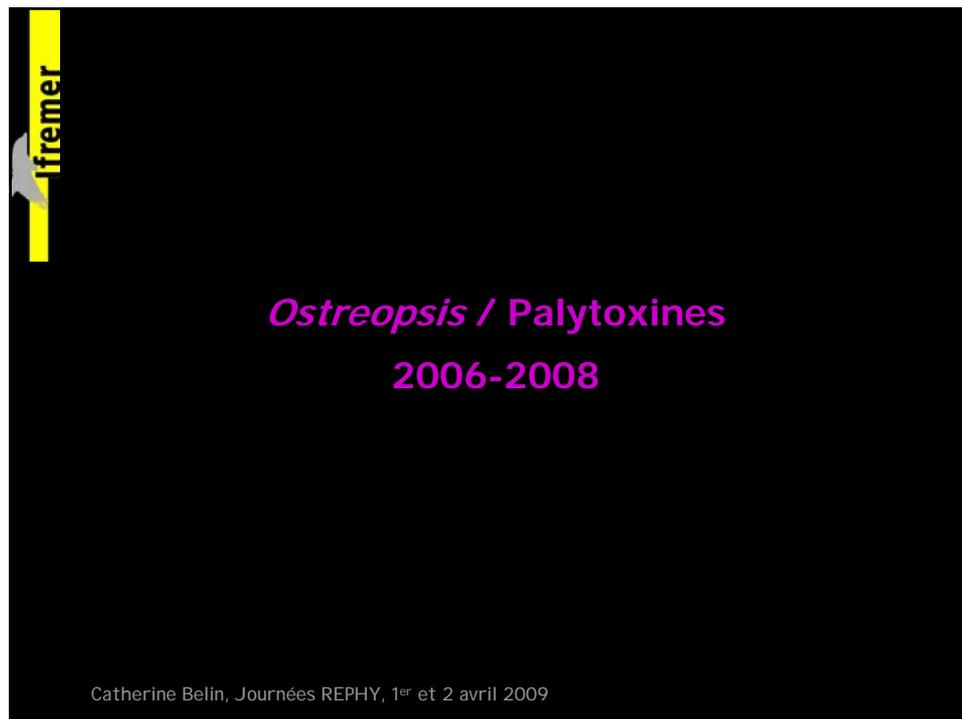
- pour comparaison des bio essais et des analyses CL/SM, afin d'établir une typologie des concordances et des discordances constatées entre les résultats obtenus par ces différentes méthodes
- le traitement statistique des données sera basé sur une exploration descriptive des données. Le cas échéant, une approche inférentielle via un test de concordance pourra être mis en œuvre.













## Programmation REPHY sanitaire pour 2009

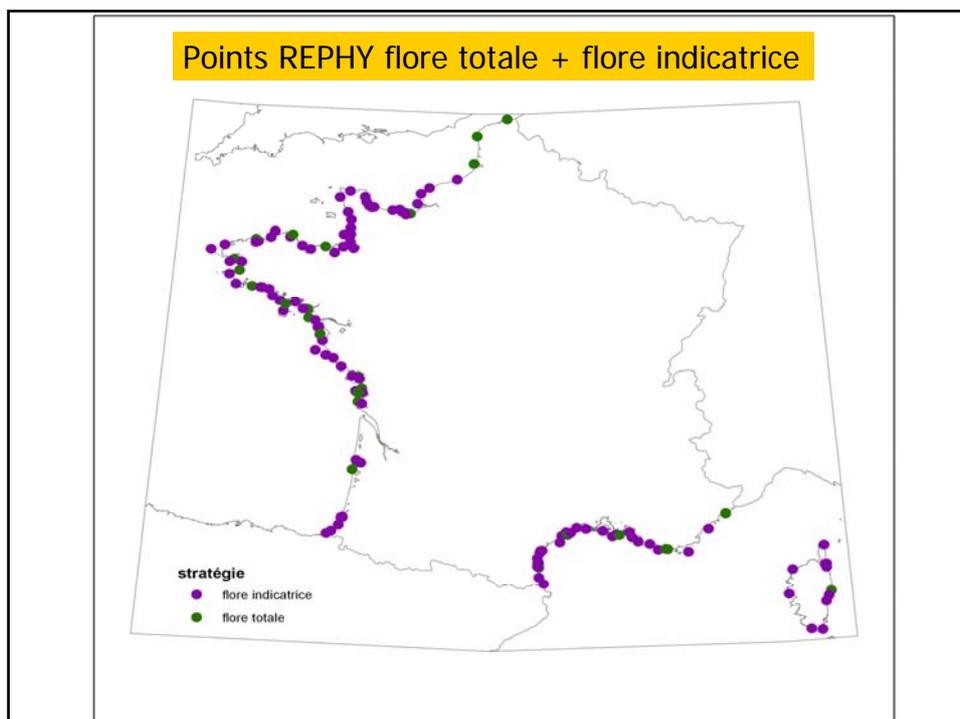
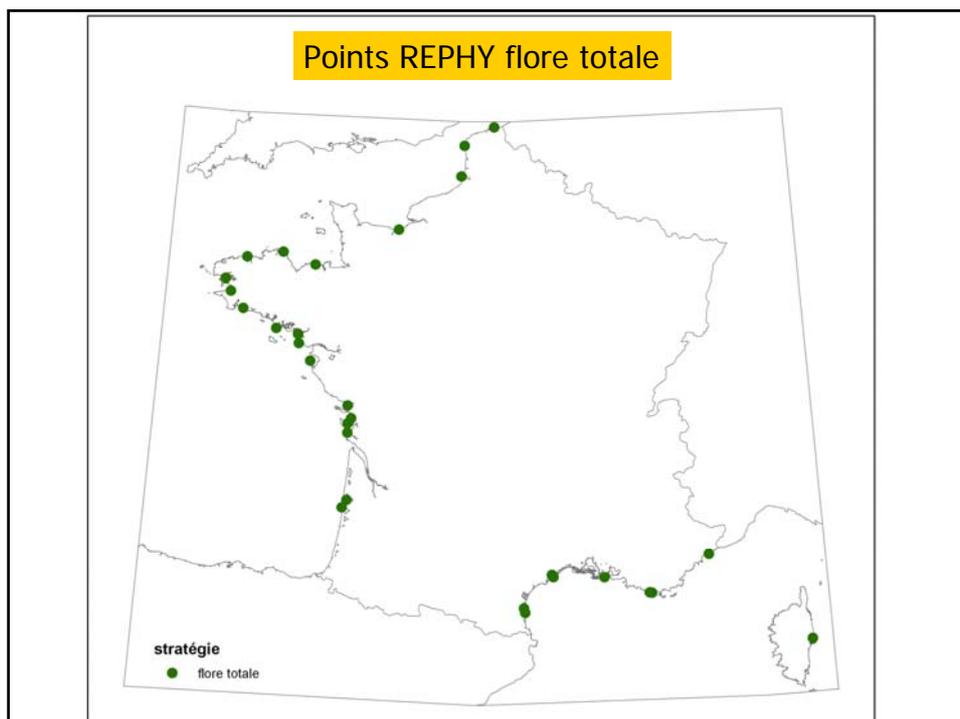
Catherine Belin, Journées REPHY, 1<sup>er</sup> et 2 avril 2009



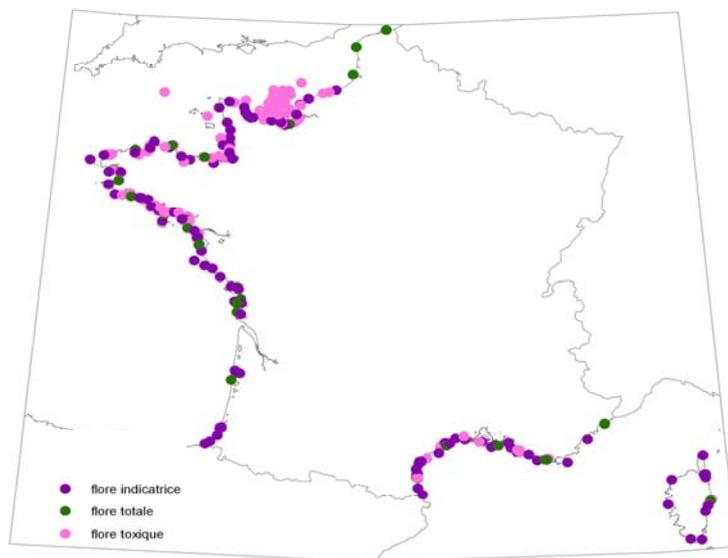
### Stratégie sanitaire -1

- Zones de production et gisements côtiers
  - Toxines PSP et ASP
    - détection de phyto toxique > seuil d'alerte  
↓
    - recherche des toxines dans les coquillages

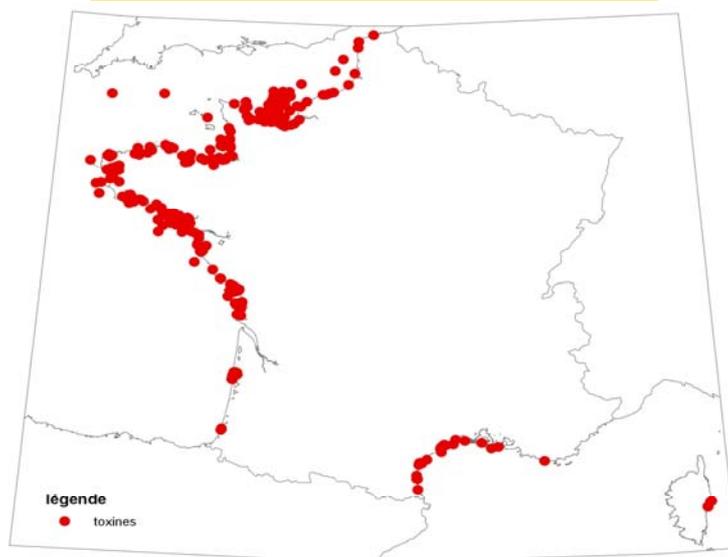
Catherine Belin, Journées REPHY, 1<sup>er</sup> et 2 avril 2009



Points REPHY flore totale + flore indicatrice + flore toxique



Points REPHY coquillages pour toxines

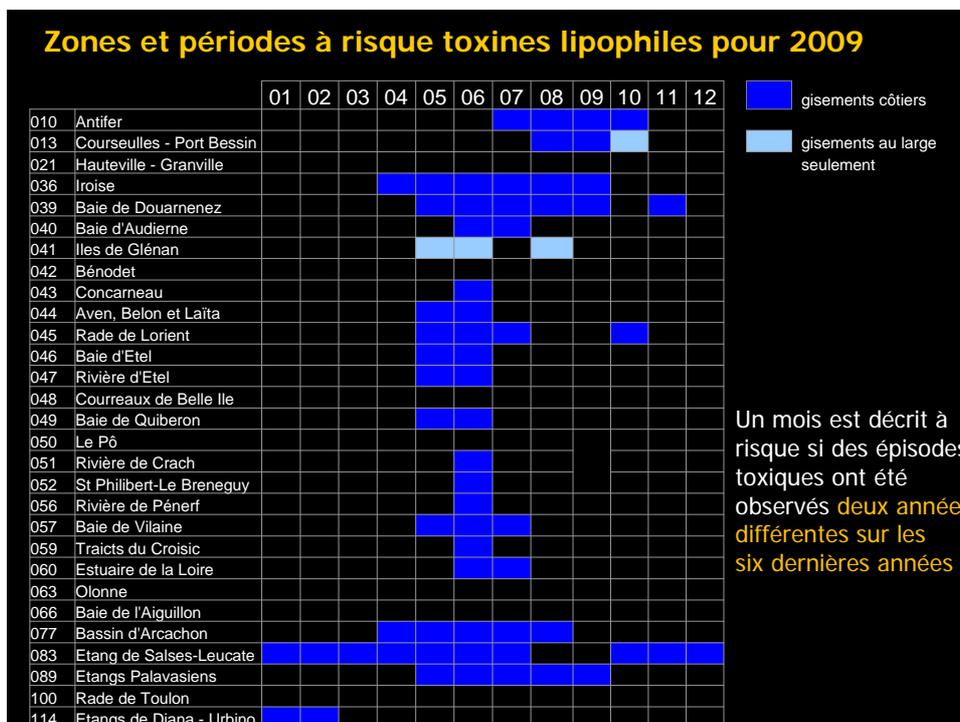


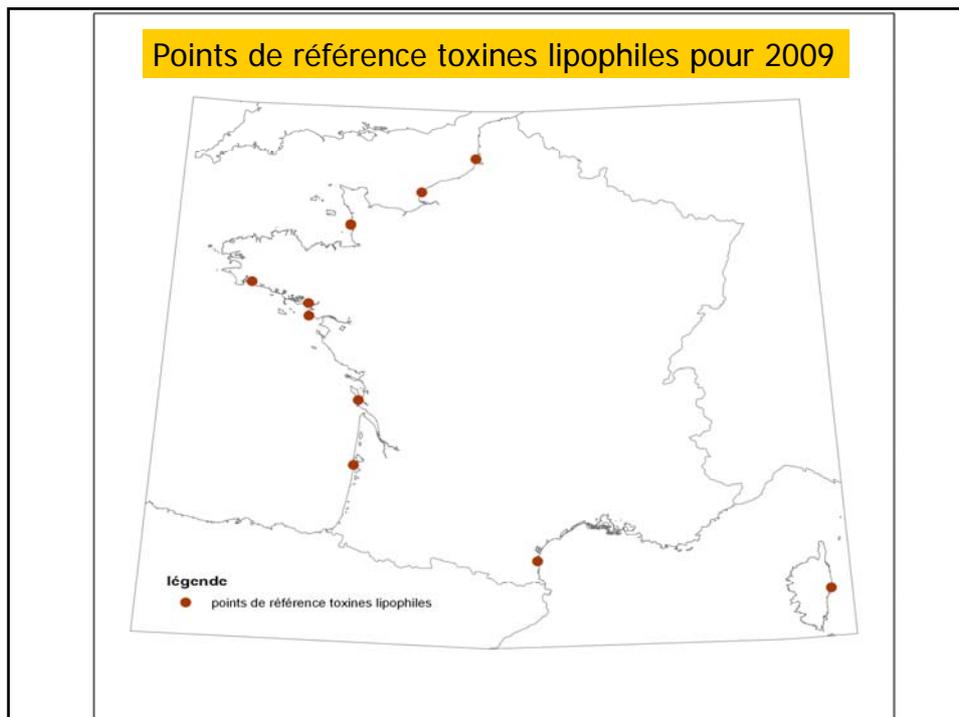
**Stratégie sanitaire -2**

- Zones de production et gisements côtiers
  - Toxines PSP et ASP
    - détection de phyto toxique > seuil d'alerte
    - ↓
    - recherche des toxines dans les coquillages
- toxines lipophiles (dont DSP)
  - recherche systématique dans zones à risque pdt périodes à risque
  - hors périodes à risque : recherche si présence *Dinophysis*

*une fois par semaine*

Catherine Belin, Journées REPHY, 1<sup>er</sup> et 2 avril 2009





## Points de référence toxines lipophiles

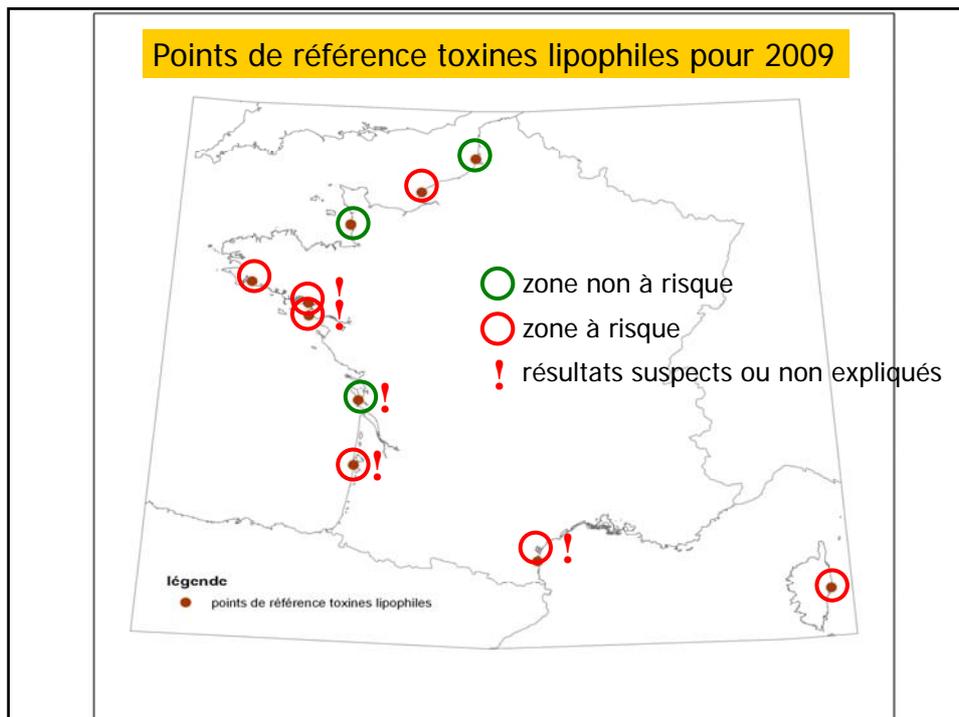
### ● Échantillonnés une fois par mois toute l'année

- bio-essais systématiques
- analyses CL/SM, quelque soit le résultat du bio-essai

### ● Choix des points

- répartition homogène sur la France
- dans des zones de production actives toute l'année
- points dans zones à risque, dont certains avec présence de tests suspects ou non expliqués
- points dans zones non à risque, pour détection éventuelle de toxines émergentes

Catherine Belin, Journées REPHY, 1<sup>er</sup> et 2 avril 2009



### Stratégie sanitaire -3

#### ● Palytoxines

- analyses chimiques CL/SM pendant périodes de blooms d'*Ostreopsis* (été) et pendant périodes de pêche professionnelle des oursins (automne – hiver)
  - surtout oursins + coquillages si nécessaire

Catherine Belin, Journées REPHY, 1<sup>er</sup> et 2 avril 2009

## Méthodes toxines

### • Tests et analyses réglementaires

- Bioessais sur souris pour la détermination des phycotoxines lipophiles dans les coquillages (méthode sur hépatopancréas). **Méthode LNRBM-LIP 01. Révision 00 du 10 mars 2008**
- Bioessais sur souris pour la détermination des phycotoxines lipophiles dans la chair des coquillages. **Méthode LNRBM-LIP 02. Révision 00 du 10 mars 2008.**
- Bioessai sur souris pour la détermination des phycotoxines paralysantes dans les coquillages. **Méthode LNRBM-PSP 01. Révision 00 du 10 mars 2008.**
- Analyse quantitative de l'acide domoïque (toxine ASP) dans les coquillages par CLHP avec détection UV. **Méthode LNRBM-ASP 01. Révision 00 du 10 mars 2008**

### • Analyses chimiques supplémentaires

- Lipophiles : par CL/SM
  - quantification AO, DTXs, PTXs, YTXs, AZAs, SPXs, GYMs
- PSP : par CL/FLD
- ASP : par CL/SM
- Palytoxines : par CL/SM

Catherine Belin, Journées REPHY, 1<sup>er</sup> et 2 avril 2009

## Conclusion : perspectives d'amélioration

### • Stratégies d'échantillonnage

- étude d'optimisation du REPHY

### • Méthodes phytoplancton

- PhytoImage
- techniques de biologie moléculaire

### • Méthodes toxines

- en attente évolution réglementation

Catherine Belin, Journées REPHY, 1<sup>er</sup> et 2 avril 2009

LER Finistère Bretagne Nord  
Laboratoire de Concarneau

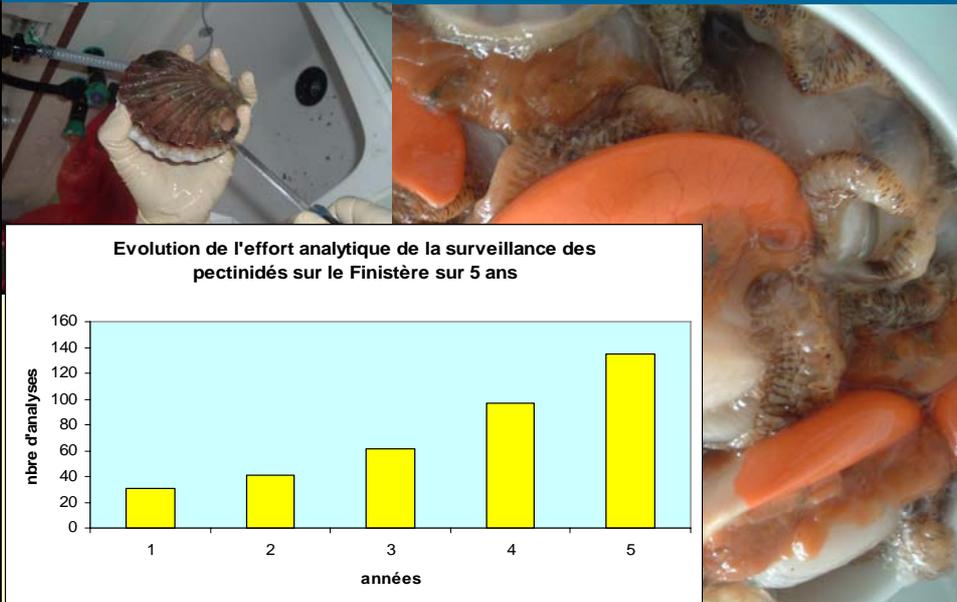


### ASP et PECTINIDES en FINISTERE

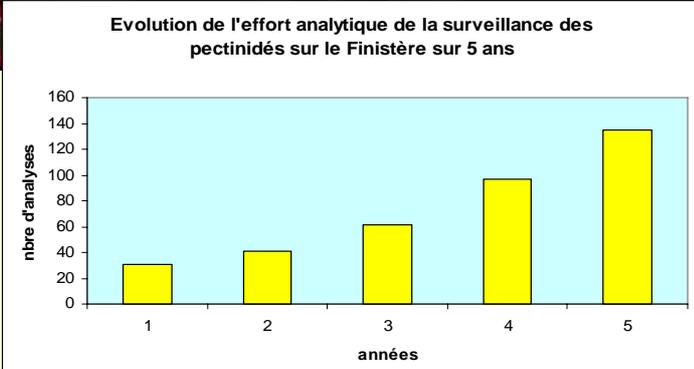


Journées REPHY - NANTES 01 & 02 avril 2009  
D.Le Gal - C. Le Bec - A. Duval - H. Goraguer - A.Terre - LER FBN -CC

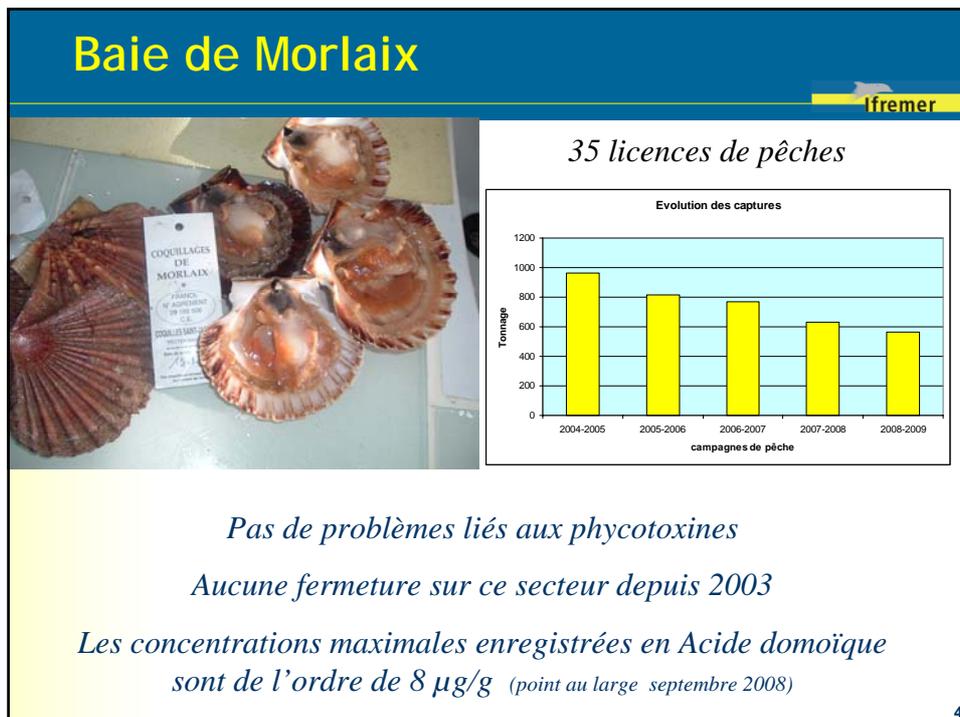
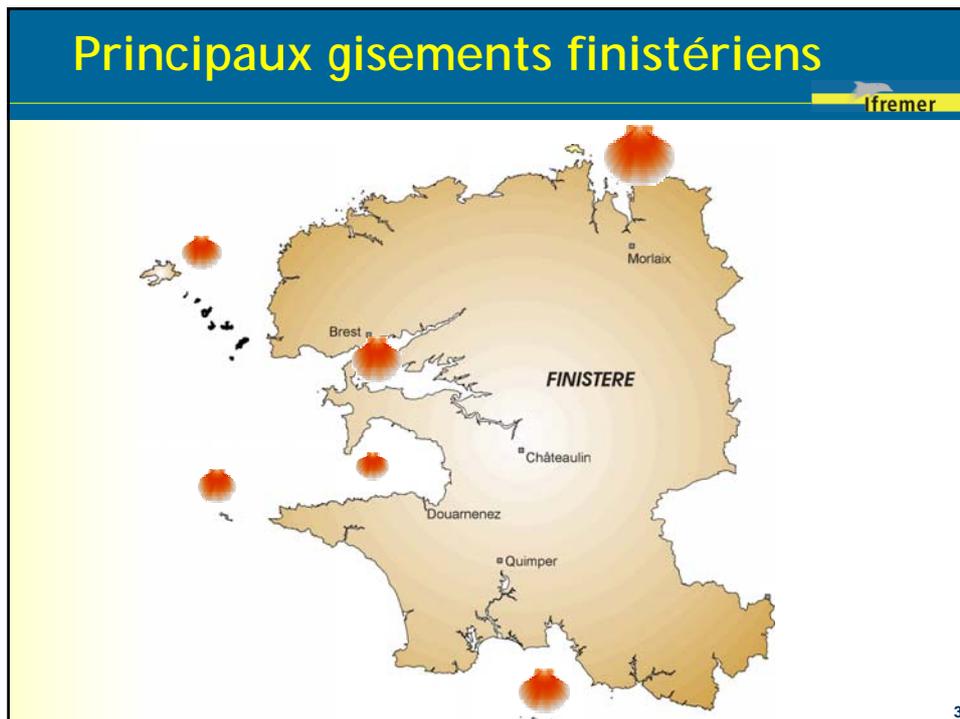
## Importance analytique

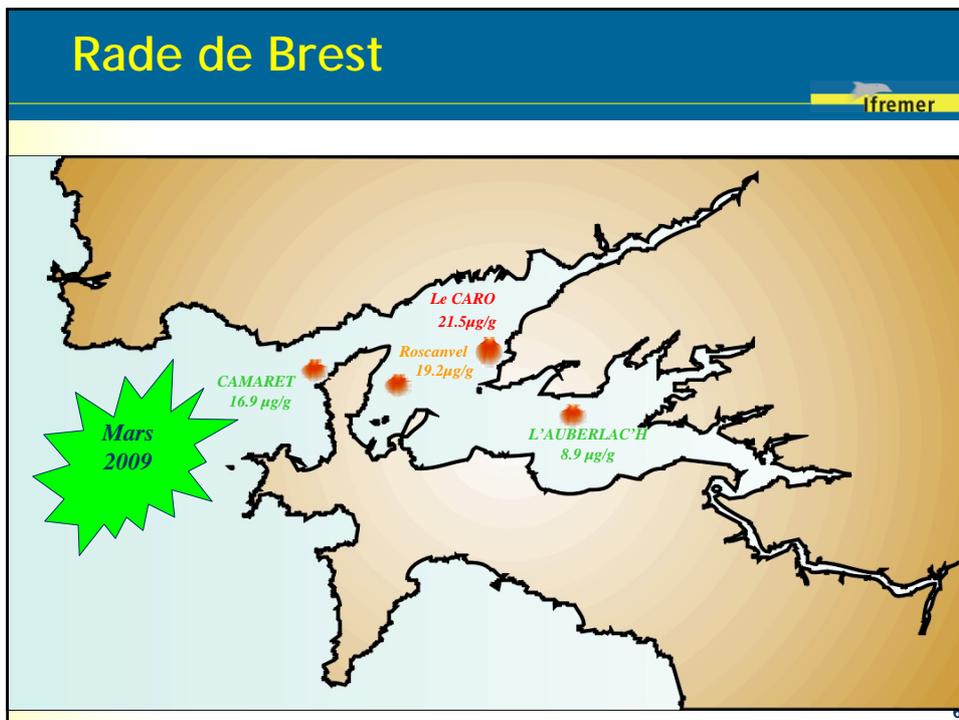
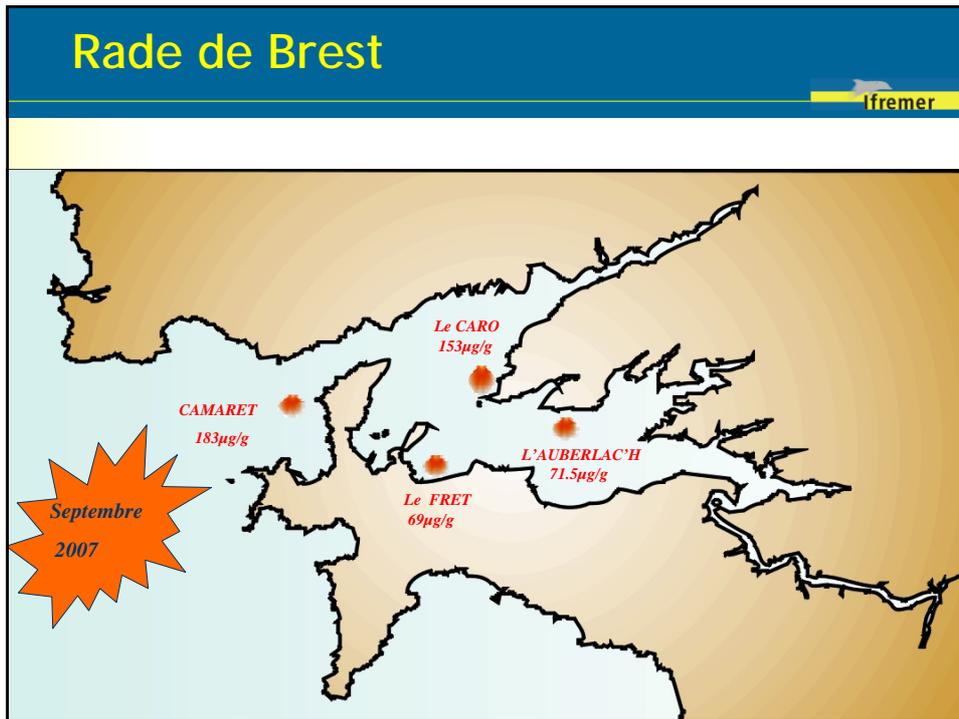


### Evolution de l'effort analytique de la surveillance des pectinidés sur le Finistère sur 5 ans



années	nbre d'analyses
1	30
2	40
3	60
4	95
5	135





## Iroise - Ouessant - Sein

Ifremer



20 licences de pêche

Production réduite : environ 30 tonnes /campagne  
(éloignement/conditions météorologiques/densité).

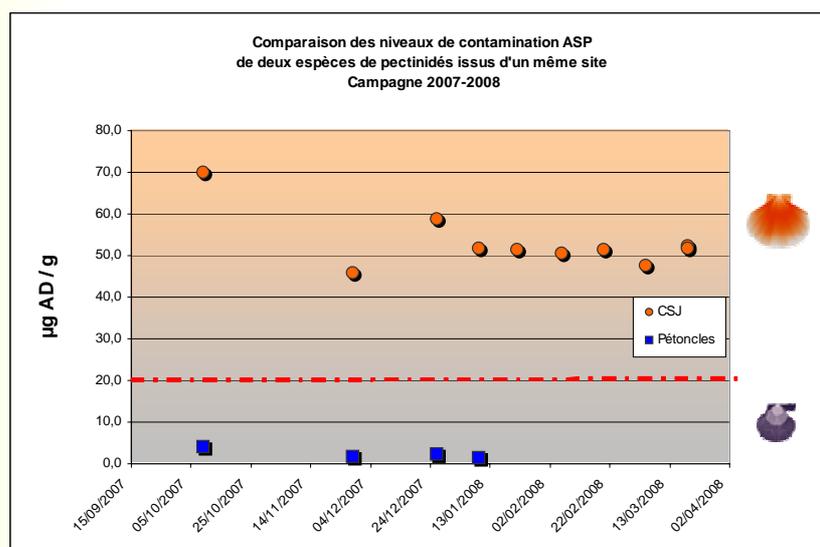
2007-2008 : **Interdiction d'exploitation**  
AD ( 39- 50 µg/g)

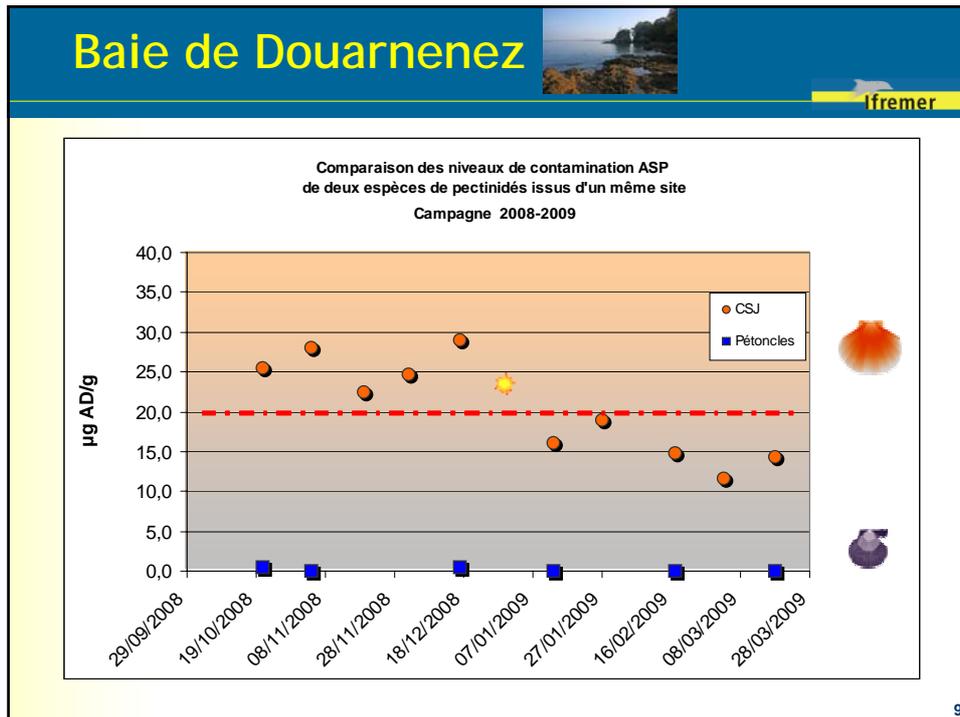
2008-2009 : **Autorisation d'exploitation**  
mais toujours présence d' AD ( 4-12 µg/g)



## Baie de Douarnenez

Ifremer





## Les GLENAN



Ifremer

26 licences

Deux ports de débarquement

- Concarneau
- Loctudy

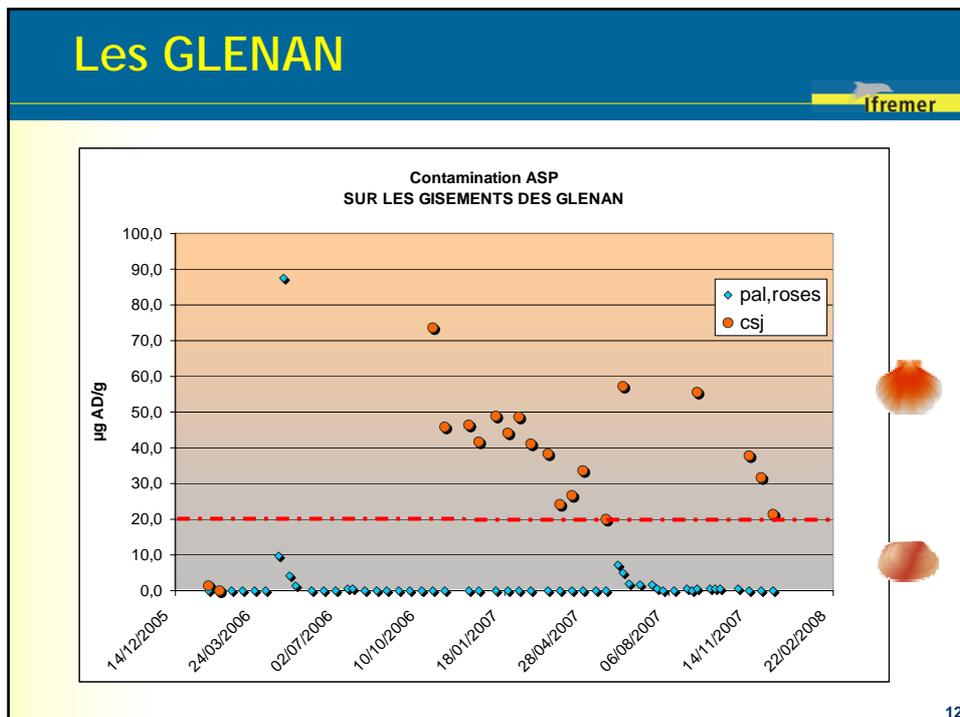
Campagnes de Pêche :

2006-2007 : **Interdiction de pêche**  
contamination par ASP (de 30 à 74 µg AD/g)

2007-2008 : **campagne retardée à janvier**  
**et sur la partie sud uniquement**  
contamination par ASP (de 20 à 60 µg AD/g)

2008-2009 : **campagne normale**  
mais toujours présence d' AD ( 6 – 18 µg/g)

11



## observations questions

Ifremer



*L' hétérogénéité du rapport gonado somatique constatée sur différents individus d' un même prélèvement peut elle expliquer les variations constatées dans les fluctuations des résultats du suivi rapproché sur un même secteur ?*

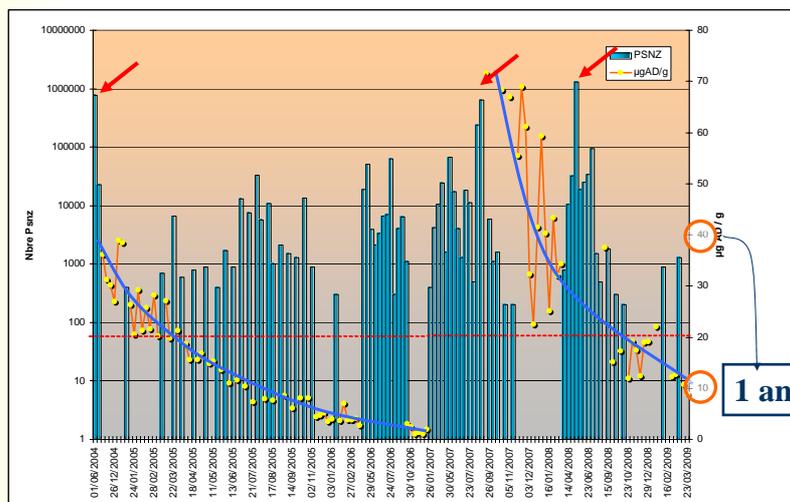
*La classe d' âge peut elle également interférer sur les résultats obtenus ?*

13

## Quelques observations questions

Ifremer

Rade de Brest, gisement de l' Auberlac' h



14

## Quelques observations questions

Ifremer

.Blooms multispécifiques avec des **espèces difficilement ou pas identifiables** en microscopie optiques

.Variations inter-annuelles et saisonnières dans les assemblages d'espèces

.Variation du pouvoir toxique d'une espèce à l'autre et d'une souche à l'autre

Groupe	Espèce	A. domoïque (pg/cel)	Toxicité	Nbre de cell, seuil d'alerte
Fines	<i>P. turgidula</i>	0.03	0,14	300 000
	<i>P. delicatissima</i>	0.12	0,25	300 000
	<i>P. calliantha/pseudo del</i>	0.22	<b>1</b>	300 000
Effilées	<i>P. pungens</i>	0.47	2	100 000
	<i>P. multiseris</i>	21.0	95	100 000
Larges asym	<i>P. australis</i>	37.0	<b>170</b>	100 000
	<i>P. seriata</i>	33.6	150	100 000
	<i>P. subpacificica</i>	ND	ND	100 000
Larges sym	<i>P. fraudulenta</i>	0.12	0,25	100 000
Sigmoïdes	<i>P. multistriata</i>	0.70	3	100 000

Or, actuellement les seuils d'alerte sont à 300 000 cell/l pour les fines & 100 000 cell/l pour les autres groupes

15

## Quelques observations questions

Ifremer

.Blooms multispécifiques avec des **espèces difficilement ou pas identifiables** en microscopie optiques

.Variations inter-annuelles et saisonnières dans les assemblages d'espèces

.Variation du pouvoir toxique d'une espèce à l'autre et d'une souche à l'autre

Groupe	Espèce	A. domoïque (pg/cel)	Toxicité	Nbre de cell, seuil d'alerte
Fines	<i>P. turgidula</i>	0.03	0,14	<b>3000</b>
	<i>P. delicatissima</i>	0.12	0,25	<b>3000</b>
	<i>P. calliantha/pseudo del</i>	0.22	<b>1</b>	<b>3000</b>
Effilées	<i>P. pungens</i>	0.47	2	<b>3000</b>
	<i>P. multiseris</i>	21.0	95	<b>3000</b>
Larges asym	<i>P. australis</i>	37.0	<b>170</b>	<b>3000</b>
	<i>P. seriata</i>	33.6	150	<b>3000</b>
	<i>P. subpacificica</i>	ND	ND	<b>3000</b>
Larges sym	<i>P. fraudulenta</i>	0.12	0,25	<b>3000</b>
Sigmoïdes	<i>P. multistriata</i>	0.70	3	<b>3000</b>

Donc, le principe de précaution implique que les seuils d'alerte soient au moins à 3 000 cell/l pour tous les groupes !

16

## Quelques observations questions

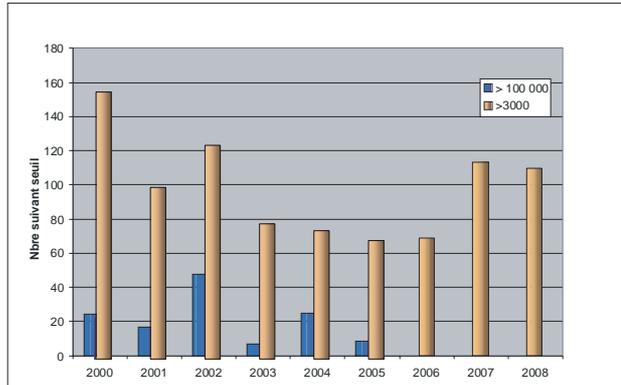
Ifremer

### Pseudo-nitzschia en Finistère

Sur 6 ans : 130 blooms > 100 000 cell. / litre

✿ Sur 6 ans :  
604 blooms  
> 3 000 cell. / litre

~ 900 blooms  
sur 9 ans

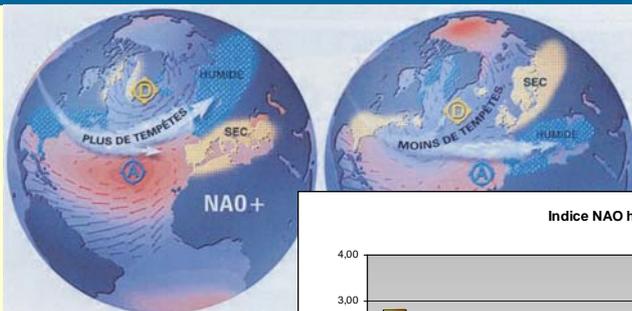


... d'où l'intérêt du développement d'outils d'aide à la surveillance :  
outils d'identification spécifiques, outils prédictifs...

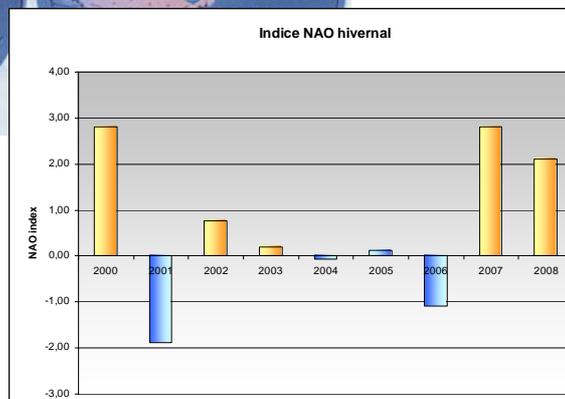
17

## Quelques observations questions

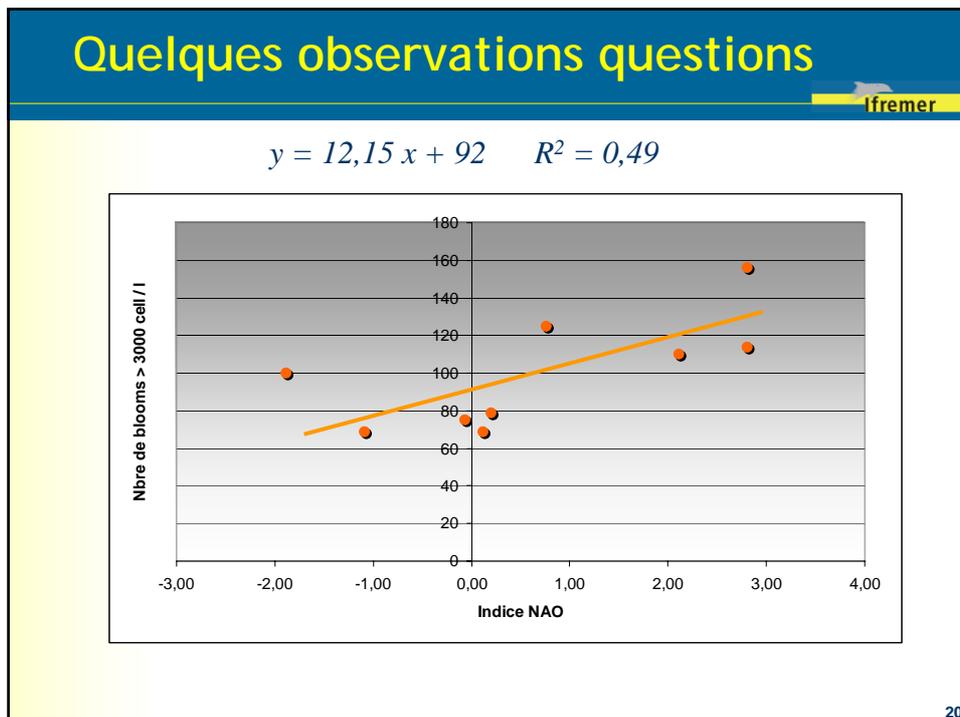
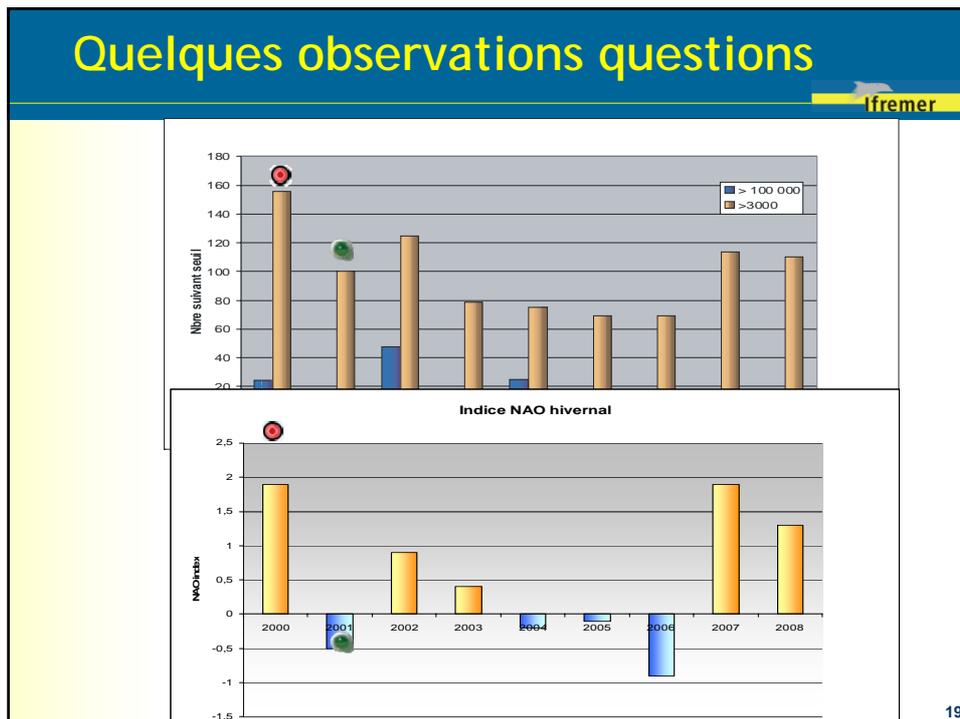
Ifremer



Indice hivernal de  
l'oscillation nord-  
Atlantique, calculé  
sur décembre, janv.,  
févr., mars



18



## Conclusion

Ifremer

- ✓ Une multitude de gisements et sous-gisements à gérer
- ✓ Une contamination différente suivant les espèces de coquillages
- ✓ Une décontamination très lente des coquilles Saint-Jacques
- ✓ Une toxicité des coquillages qui peut aussi bien provenir :
  - d'un bloom majeur à espèce(s) faiblement toxique(s) (*P. calliantha*, *P. pseudodelicatissima*)
  - d'un bloom mineur à espèce(s) hautement toxique(s) (*P. australis*, *P. seriata*)
- ✓ Des espèces difficilement identifiables  nécessité de nouveaux outils de biologie moléculaire, d'immunologie,...
- ✓ Des conditions climatiques hivernales prédictives des efflorescences?

21

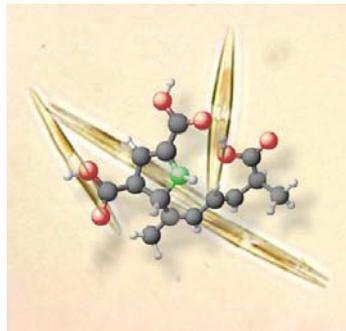
## Conclusion

Ifremer



Ifremer

Contribution à l'étude de la toxicité de *Pseudo-nitzschia*: mécanismes régulateurs et production de toxines amnésiantes et développement de capteurs de détection



Thèse co-financée Ifremer / Région Pays de la Loire

Guillaume Calu  
2 Avril 2009

Ifremer

Objectifs de ce sujet de thèse :

- Maîtriser les paramètres écophysiologiques de la production toxinique  
(*Véronique Séchet, Ifremer Nantes*)
  - ✓ Comparaison de conditions de culture
  - ✓ Influence de l'urée comme substrat azoté
  - ✓ Réalisation de plans expérimentaux
- Élaborer un outil de détection innovant des toxines amnésiantes grâce à la méthode SELEX (*Pierre Weigel, U3B - Université de Nantes*)
  - ✓ Synthèse d'un analogue chimique des kanoïdes
  - ✓ Sélection de ligands ADNsb par la méthode SELEX
- Approfondir au niveau moléculaire les mécanismes de toxicogénèse  
(*Véronique Martin-Jézéquel, Laboratoire MMS - Université de Nantes*)



Guillaume Calu  
2 Avril 2009

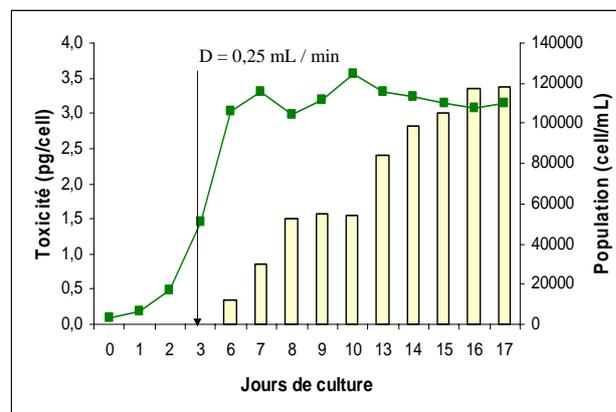
### Travaux sur la croissance et la production toxinique de *Pseudo-nitzschia multiseriis*

#### Premiers résultats :

- Choix d'une formulation *eau de mer artificielle* **nouvelle** favorisant une forte biomasse et une forte toxicité cellulaire.
- Amélioration des cultures en continu : toxicité cellulaire > **3 pg/cellule**



### Culture en continu de *Pseudo-nitzschia multiseriis*



Ifremer

### Travaux sur la croissance et la production toxinique de *Pseudo-nitzschia multiseriis*



#### Plans expérimentaux :

- Méthode statistique d'analyse des effets de trois facteurs co-variants (17 expériences simultanées) :
- Plan « macronutriments » : Silicium, Nitrate, Phosphate.
- Plan « TIP » : Température, Irradiance, pH.



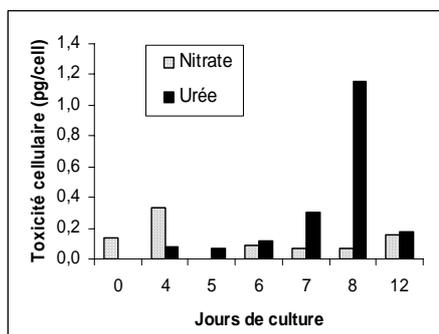
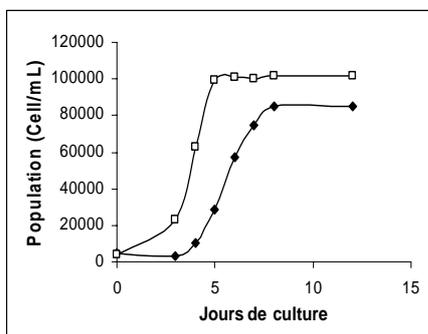
UNIVERSITÉ DE NANTES

Guillaume Calu

2 Avril 2009

Ifremer

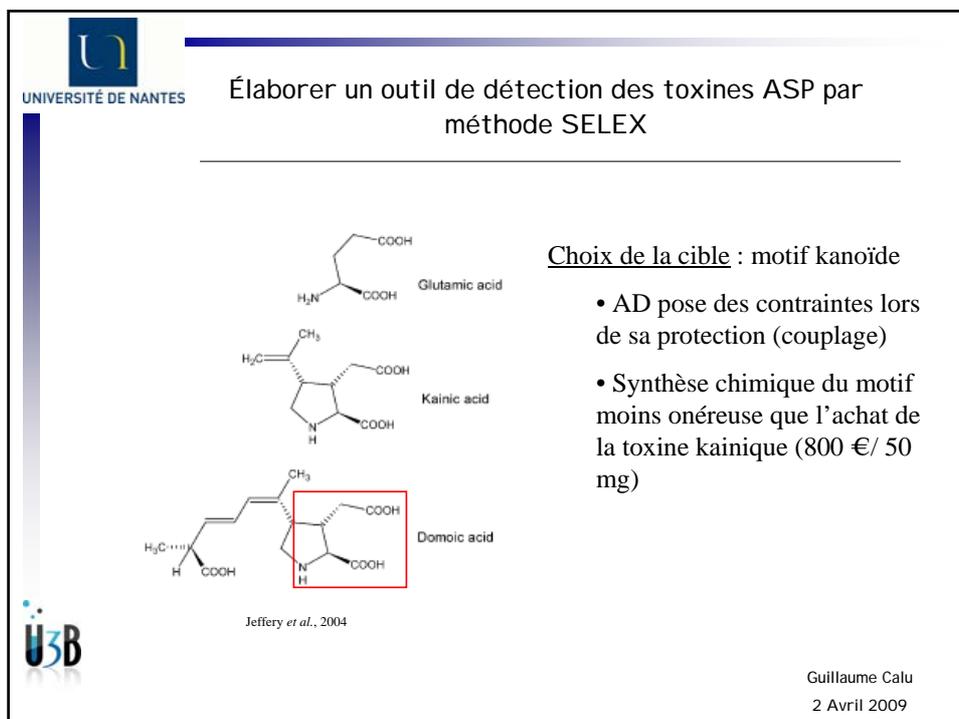
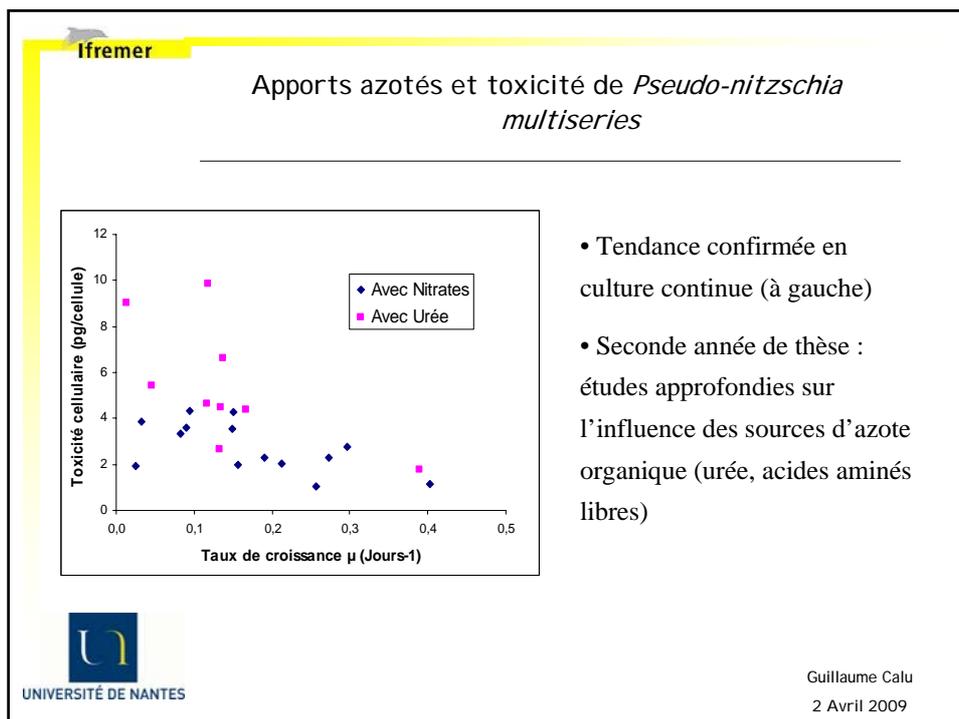
### Apports azotés et toxicité de *Pseudo-nitzschia multiseriis*



UNIVERSITÉ DE NANTES

Guillaume Calu

2 Avril 2009

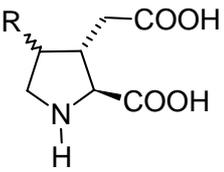


UNIVERSITÉ DE NANTES

### Élaborer un outil de détection des toxines ASP par méthode SELEX

- Cible retenue à synthétiser :

- Synthèse linéaire proposée : Baldwin *et al.*, 1997 [1]



[1] Baldwin, J.E.; Bamford, S.J.; Rudolph, M.P.W.; Wood, M.E.; Fryer, A.M. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 5233-5254.

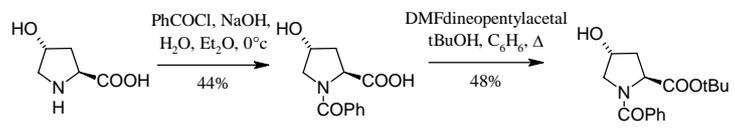
U3B

Guillaume Calu  
2 Avril 2009

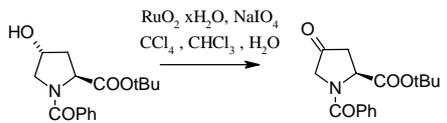
UNIVERSITÉ DE NANTES

### Élaborer un outil de détection des toxines ASP par méthode SELEX

- **Étape 1 & 2** : protection des fonctions amine et acide carboxylique



- **Étape 3** : oxydation de la fonction alcool secondaire



U3B

Guillaume Calu  
2 Avril 2009

UNIVERSITÉ DE NANTES

### Élaborer un outil de détection des toxines ASP par méthode SELEX

**A réaliser :**

- Étape 4** : addition de la pyrrolidine
- Étape 5** : introduction de la seconde fonction acide carboxylique protégée

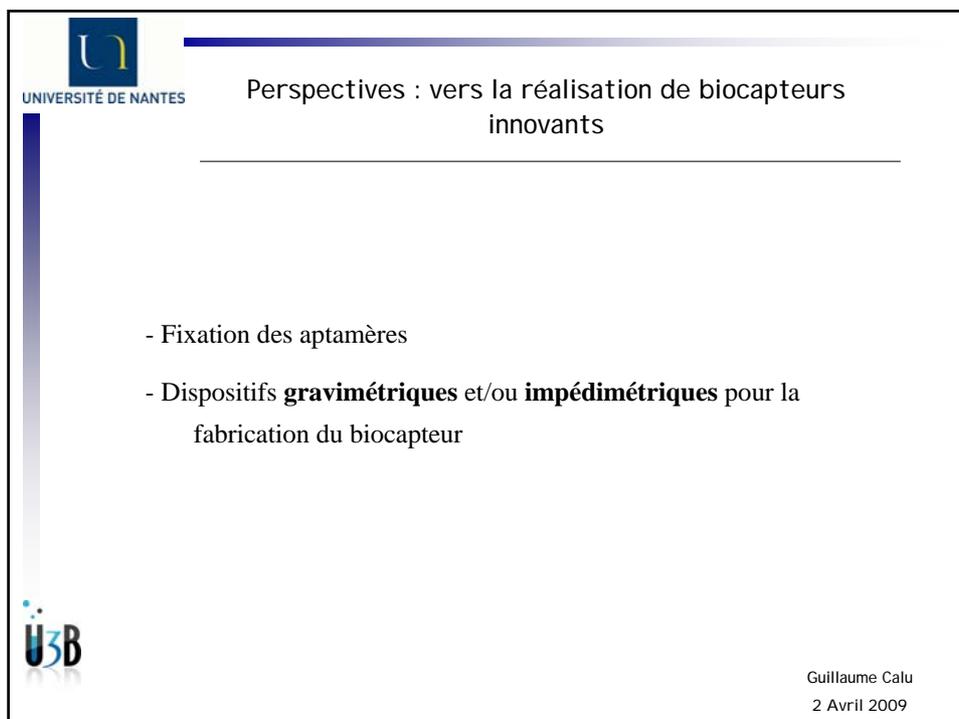
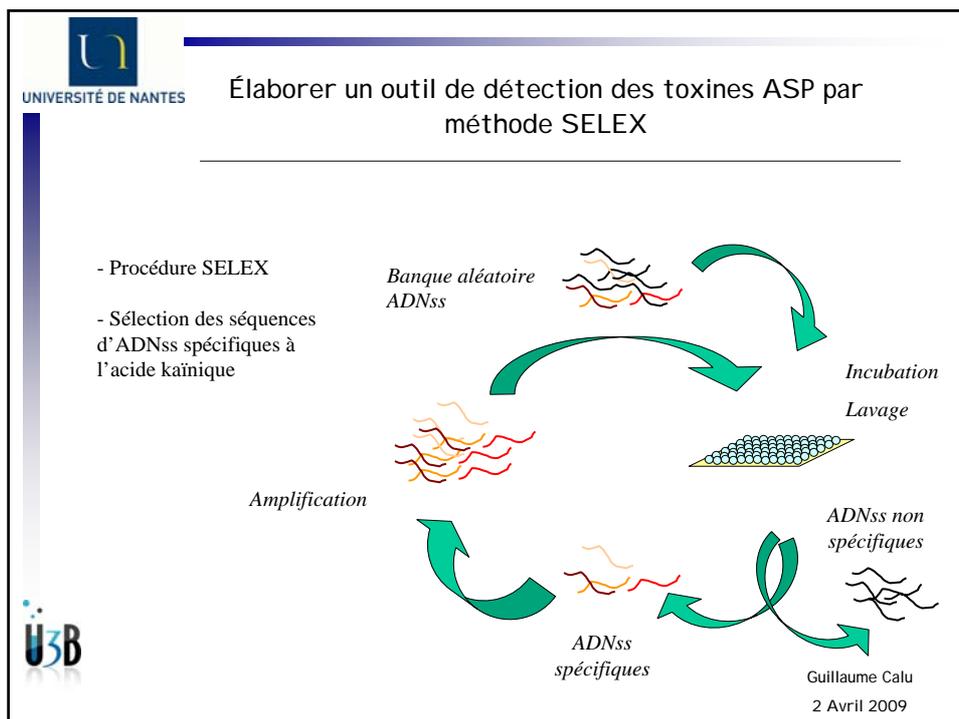
Guillaume Calu  
2 Avril 2009

UNIVERSITÉ DE NANTES

### Élaborer un outil de détection des toxines ASP par méthode SELEX

1. **Fixation** : sur support solide pour la procédure SELEX
2. **Déprotection** de la molécule-cible

Guillaume Calu  
2 Avril 2009



ceci

Journées du REPHY 02/04/09

## Nouveaux tests de détection d'*Alexandrium minutum*




### HAB-SEACHIP



**IFREMER – BREST**  
Service Interface et Capteurs: **C. COMPERE**, **E. ANTOINE**

**CNRS-Université Pierre et Marie Curie – PARIS**  
Laboratoire Interface et système électrochimique: **H. PERROT**

**INSA/LBB – TOULOUSE**  
Plateforme transcriptome Biopuce **V. LEBERRE**, **JM. François**

**Greiner Bio- one SAS – P. Phamtrung**

**CEA Marcoule/DSV/IBEB/LDCAE: F. GAS**, **E. Quéméneur**











Fabienne GAS
CEA/DSV/IBEB/SBTN/LDCAE
1

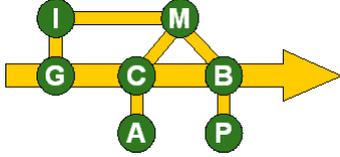
ceci

## Plate-forme de biochimie "post-génomique" de Marcoule

Direction Sciences du Vivant (DSV)  
 Institut Biologie Environnementale et Biotechnologie (IBEB)  
 Service de Biochimie Toxicologie Nucléaire (SBTN)  
 Laboratoire de Détection et Caractérisation des Agents du risque Environnemental (LDCAE)



ADN ou  
séquence protéique



5-50 mg  
Protéine recombinante  
purifiée et caractérisée

**Technologies**

- A** Animalerie
- B** Biochimie
- C** Culture Cellulaire
- G** Génétique
- I** BioInformatique & modélisation protéine
- M** Microscopies
- P** Proteomiques & spectrométrie de masse



Fabienne GAS
CEA/DSV/IBEB/SBTN/LDCAE
2

**La protéine de choix pour la détection : L'anticorps**

Exemple IgG1 150 KDa : 80 % des immunoglobulines du sérum  
Produites lors de la seconde exposition de l'organisme à un antigène (bactérie virus...)

paratope

**Fonction spécifique**  
Liaison à l'antigène, épitope

**Fonction non spécifique**  
Fonction effectrice, Catabolisme  
Traversée du placenta  
Fixation du complément  
Fixation aux récepteurs des fragments Fc  
Fixation à des protéines microbiennes

**Fabienne GAS** CEA/DSV/iBEB/SBTN/LDCAE 3

**Stratégie d'obtention d'un anticorps**

➔ **Injection de l'antigène chez le lapin**

↻  
**Sérum de l'animal**

➔ **Immunsérum polyclonal**  
Mélange de différents Anticorps  
reconnaissant plusieurs épitopes

➔ **Injection de l'antigène chez la Souris / le Rat**

↻  
**Rate de l'animal**

**Technologie des hybridomes**

➔ **Anticorps monoclonal**  
Une seule population d'anticorps issue  
d'un clone et spécifique d'un seul épitope

**Monoclonal Antibody Production**

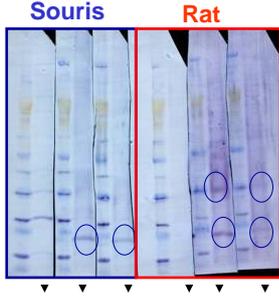
**Fabienne GAS** CEA/DSV/iBEB/SBTN/LDCAE 4

**PROJET HAB-SEACHIP**

**Obtention d'anticorps spécifique d'*Alexandrium minutum***

**Antigène : *Alexandrium minutum* détoxifié (Disruption, sonication)**

Révélation de la présence d'anticorps dans les sérums par la technique de western-blot



**Souris**      **Rat**

Témoin S   S1   S2   Témoin R   R   R

Lapin : Pas de production d'anticorps spécifiques

Souris 1: Rate indétectable  
Souris 2 : Rate avec très peu de lymphocytes

8 mois d'immunisations

Fabienne GAS      CEA/DSV/iBEB/SBTN/LDCAE      5

**Sélection et Production d'anticorps spécifiques**

**Fusion et Production d'anticorps spécifiques d'*Alexandrium minutum***

1536 puits après fusion  
(lymphocytes de la rate de l'animal avec du myélome)

31 puits positifs

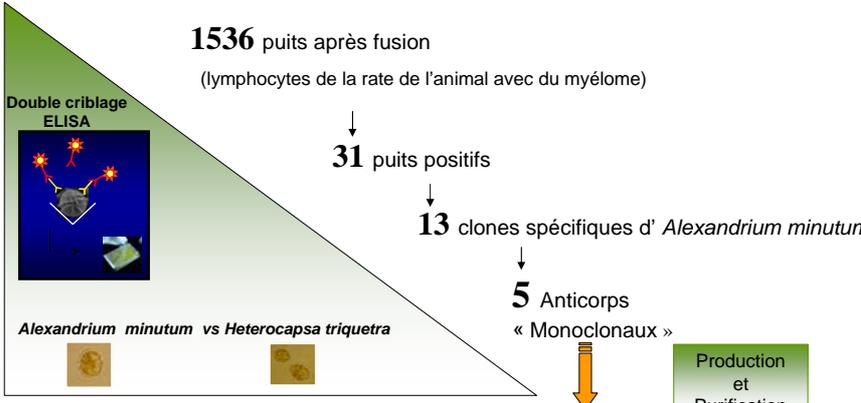
13 clones spécifiques d'*Alexandrium minutum*

5 Anticorps « Monoclonaux »

Production et Purification

**AMI 2, AMI 5, AMI 6, AMI 11 et AMI13**

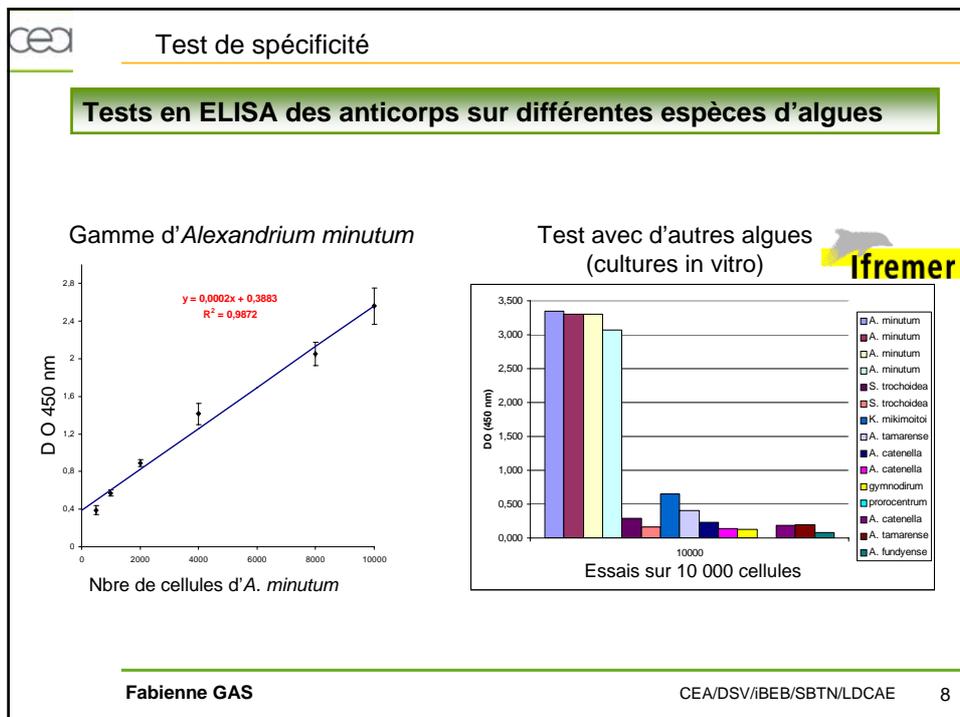
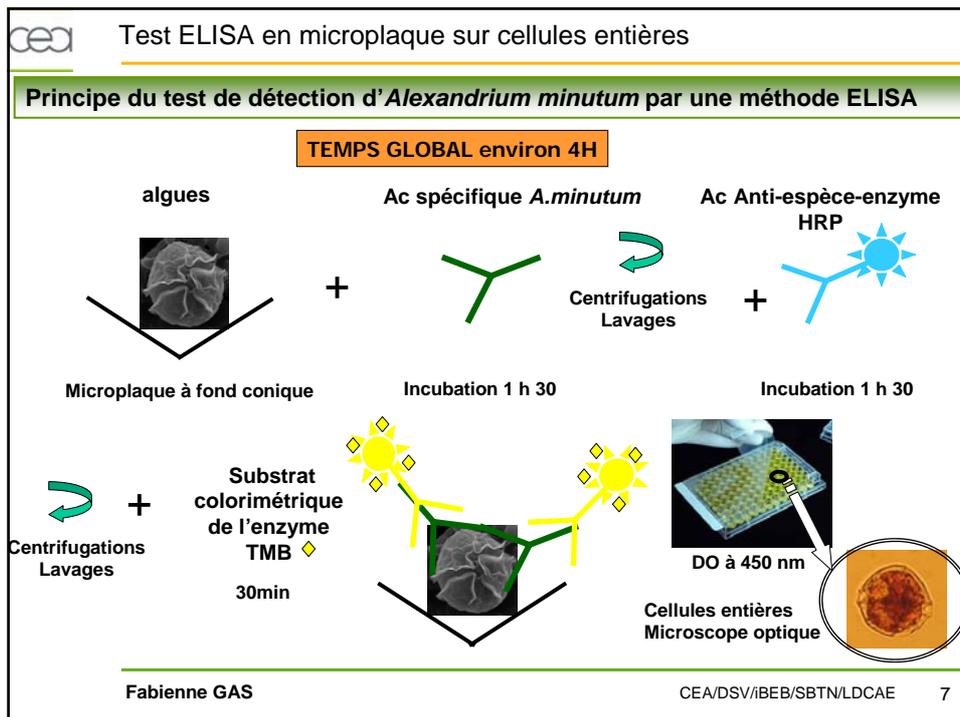
**Double criblage ELISA**



*Alexandrium minutum* vs *Heterocapsa triquetra*

**ELISA**  
Enzyme Linked Immunosorbent Assay  
Dosage d'immunosorption liée à une enzyme

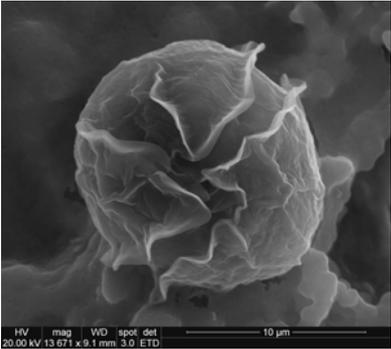
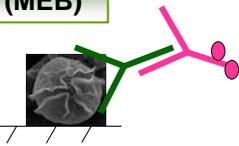
Fabienne GAS      CEA/DSV/iBEB/SBTN/LDCAE      6



Localisation de l'anticorps **Ifremer**

**Images de Microscopie Electronique à Balayage (MEB)**

1er Anticorps : AMI6 sur *Alexandrium minutum*  
2ème Anticorps : anti-Rat couplé à l'or colloïdal

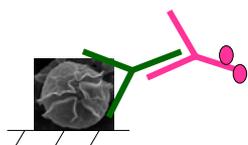


Contrôle billes d'or sur support

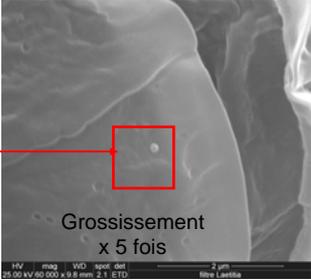
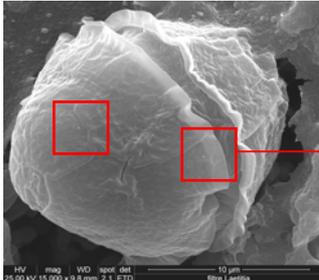
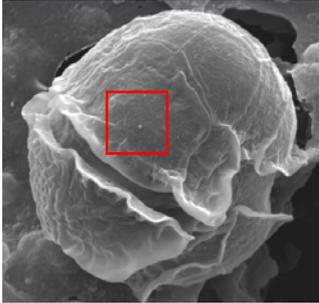
Témoin du test : Contrôle intégrité de la cellule

Fabienne GAS CEA/DSV/IBEB/SBTN/LDCAE 9

Localisation de l'Anticorps à la surface d'*Alexandrium minutum*

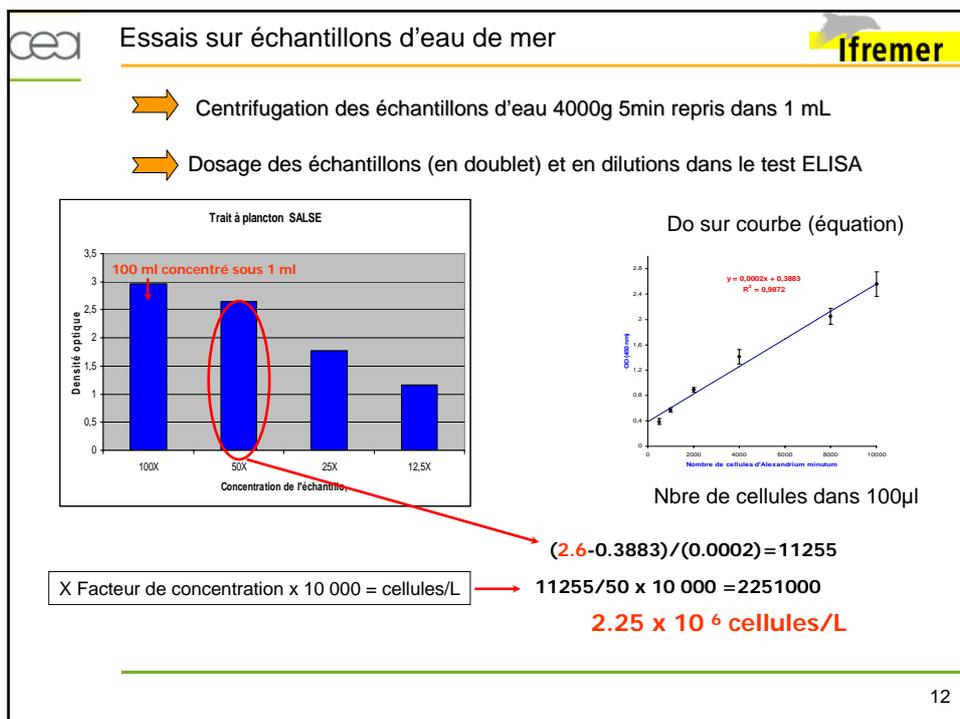
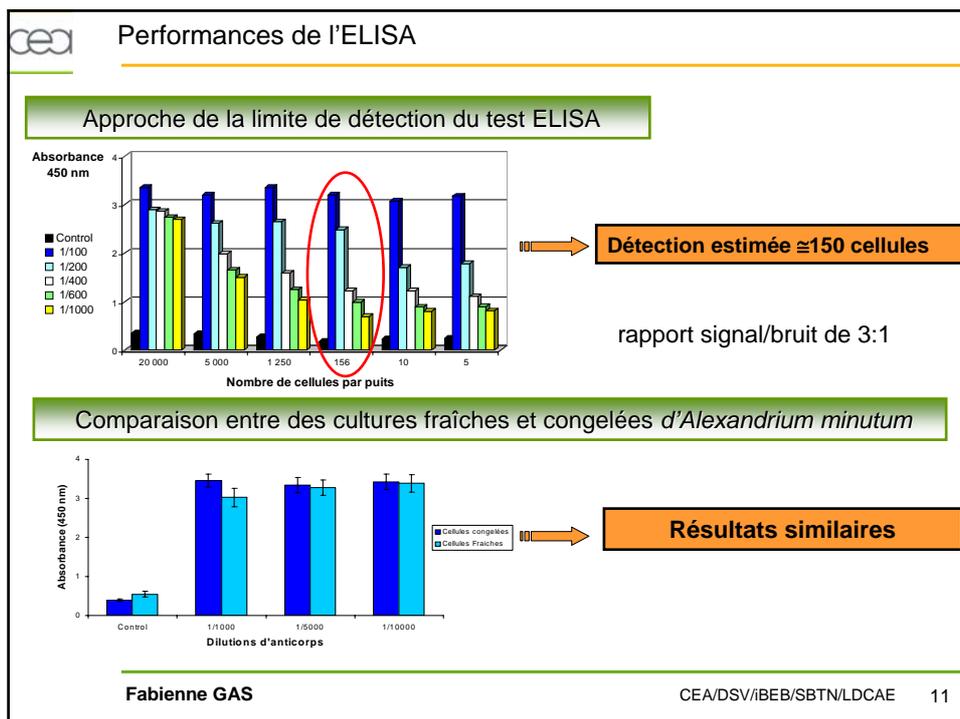


**Ifremer**



Grossissement x 5 fois

Fabienne GAS CEA/DSV/IBEB/SBTN/LDCAE 10



**ceci** Résultats préliminaires

**Estimation du nombre de cellules /L**

Prélèvements d'eaux	Comptage IFREMER	Estimation ELISA
BACCARES (négatif)	0	Absence de détection
SETE (négatif)	0	Absence de détection
SALSES 2	$1,2 \times 10^3$	$45,9 \pm 9,2 \times 10^3$
SALSES 1	$3,6 \times 10^3$	$43,1 \pm 8,6 \times 10^3$
SALSES Trait plancton 1	$1,8 \times 10^6$	$2,2 \pm 0,4 \times 10^6$
SALSES Trait plancton 2	$x 10^6$	$6,8 \times 10^6$

- Pas de détection non spécifique sur des échantillons négatifs
- Détection spécifique de *A. minutum* de méditerranée dans son milieu naturel
- Estimation du nombre de cellules/L : même ordre de grandeur

**Nécessité de validation / corrélation avec plus d'échantillons**

Fabienne GAS CEA/DSV/IBEB/SBTN/LDCAE 13

**ceci** Test immunochromatographique ou test bandelette

**TEMPS GLOBAL environ 15mn**

**PRINCIPE**

Immobilisation anticorps anti-espèce → Contrôle

Immobilisation 1er anticorps spécifique → Test

Immobilisation 2ème anticorps spécifique couplé à l'or colloïdal

Dépôt échantillon

**ANTI-CORPS CONJUGUE A L'OR COLLOÏDAL**

Couplage par adsorption des anticorps sur billes d'or

**MONTAGE DE LA BANDELETTE**

Membrane Nitrocellulose

Papier Absorbant

Support plastique

Ligne Contrôle

Ligne Test

Fibre de verre: Conjugué à l'or colloïdal

Dépôt échantillon

← Sens de Migration

(a) charge

(b) hydrophobic

(c) dative

Au

Positively charged ion layer

Fabienne GAS CEA/DSV/IBEB/SBTN/LDCAE 14

cea **Test bandelette**

Premiers résultats

**APPROCHE QUANTITATIVE**

Ligne Contrôle	Ligne Test	Nombre <i>A. minutum</i>
		100 000
		50 000
		10 000
		5 000
		1 000

**MONTAGE FINAL**

Ligne contrôle    Ligne Test    Dépôt d'échantillon

négatif

positif

-    +

Fabienne GAS
CEA/DSV/iBEB/SBTN/LDCAE 15

cea **CONCLUSIONS**

- ➔ **5 Anticorps monoclonaux dirigés contre *Alexandrium minutum***  
↳ **Reproductibilité de production**
- ➔ **Anticorps Spécifiques de l'espèce (Par rapport aux algues testées)**  
↳ **Blooms d'*Alexandrium minutum***
- ➔ **Anticorps testé reconnaît un épitope à la surface de la cellule**  
↳ **Dosage « direct » sans traitement de l'algue**
- ➔ **Anticorps adaptables à différentes techniques (ELISA, test bandelette..)**  
↳ **Gain de temps, « pré-tri » d'échantillons**

Fabienne GAS
CEA/DSV/iBEB/SBTN/LDCAE 16

REMERCIEMENTS	
	Chantal COMPERE Marie- Pierre CRASSOUS Elisabeth ANTOINE Catherine DREANNO ERT – IC Service Interfaces & Capteurs Plouzané
	Philippe CRASSOUS DEEP-LEP Plouzané
	Eric ABADIE Département des laboratoires côtiers Environnement littoral et Ressources aquacoles Laboratoire LER-LR de Sète
	Laetitia PINTO Béatrice BAUS CEA/DSV/iBEB/SBTN/LDCAE Bagnols sur Cèze
<small>Harmful Algae 9 (2009) 539–545 Contents lists available at ScienceDirect Harmful Algae journal homepage: www.elsevier.com/locate/hal</small>	
<small>Review Monoclonal antibody against the surface of <i>Alexandrium minutum</i> used in a whole-cell ELISA Fabienne Gas<sup>a,*</sup>, Laetitia Pinto<sup>a</sup>, Béatrice Baus<sup>a</sup>, Laure Goufres<sup>a</sup>, Marie-Pierre Crassous<sup>b</sup>, Chantal Compere<sup>b</sup>, Eric Quémener<sup>b</sup> <sup>a</sup>CEA Marcoule, Direction des Sciences du Vivant, Bagnols-sur-Cèze, France <sup>b</sup>IFREMER, Centre de Recherche Service Interfaces et Capteurs, Plouzané, France</small>	
Fabienne GAS	CEA/DSV/iBEB/SBTN/LDCAE 17



Journées Réphy, 1 - 2 avril 2009

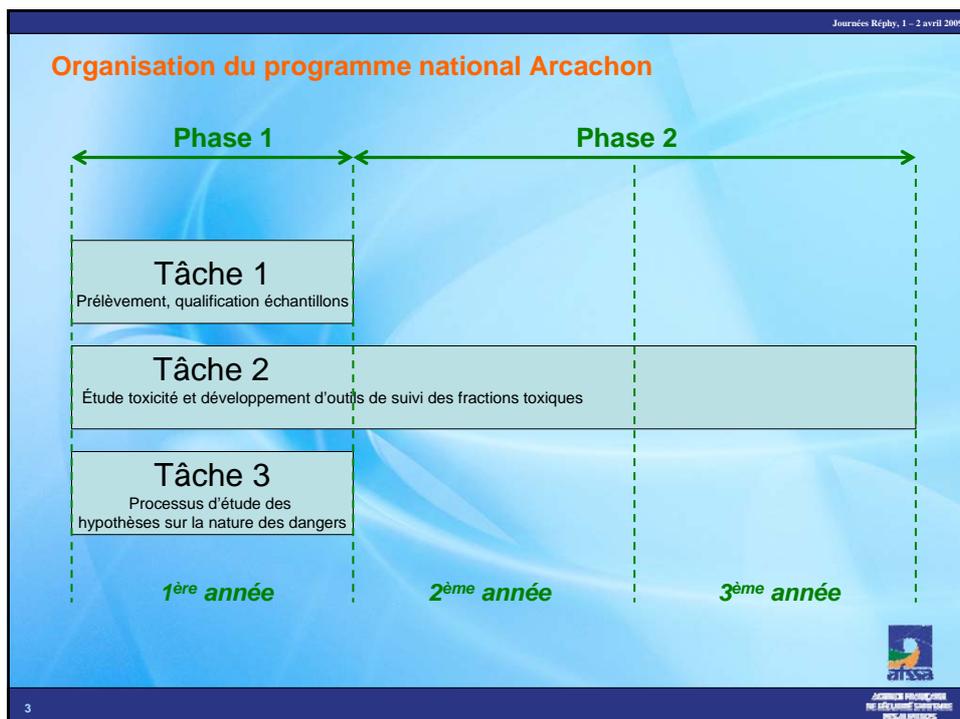
### Saisine MAP Juin 2006 : Compréhension des épisodes de toxicité observés dans les coquillages à Arcachon en 2005 et 2006

- Pilotage du Programme Arcachon par l'Afssa-LERQAP/LNR Biotoxines Marines
- Objectifs : **Identifier les causes possibles des toxicités** observées non expliquées  
**Développer d'autres outils** de suivi des fractions toxiques
- Composition d'un **Comité Scientifique** : **11 équipes recherche**  
Afssa-LERQAP, Afssa-LERMVD, Ifremer-Nantes, Ifremer-Arcachon, MNHN, CNRS-Université de Bordeaux, CNRS-INSU-Université de Montpellier
  - Convention AFSSA / DPMA le **21 août 2007** (financement partiel)
  - Signature de la convention AFSSA / MAP / MSJS le **31 décembre 2007** (financement global)

2



AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ SANITAIRE  
DES ALIMENTS



Journées Réphy, 1 - 2 avril 2009

## Tâches du Programme National Arcachon

Tâche 1. Prélèvements dans milieu et qualification des échantillons

Tâche 2. Étude toxicité et développement d'outils de suivi des fractions toxiques

Tâche 3. Etude des hypothèses sur la nature des dangers



5

  
AFSSA  
AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ ALIMENTAIRE  
ET MÉDICAMENTS

Journées Réphy, 1 - 2 avril 2009

## Tâche 1 : Prélèvements dans le milieu et qualification des échantillons

- Responsables de la tâche : Afssa - LERQAP
- Partenaires associés : Ifremer Arcachon

✓ Préparation et qualification des coquillages prélevés en 2006 lors de l'épisode de toxicité atypique

- ↳ 50 kg huîtres (Arguin sud) → 680 g HP (BES +)

✓ Organisation des campagnes de prélèvements en 2007 et 2008

- ↳ prélèvements hebdomadaires huîtres de culture Arguin sud et Gd Banc
- ↳ 10 kg hebdomadaires / site + 200-500 kg dispo / site (crise)
- ↳ 2007: 10 semaines (août – sept.) ; 2008: 30 semaines (mars – sept.)

✓ Préparation et qualification des prélèvements 2008 (toxicité atypique)

- ↳ 400 kg huîtres Arguin juillet-août 2008 → 698 g HP (BES +)
- ↳ 200 kg huîtres Gd Banc août 2008 → 1158 g HP (BES +)

6

  
AFSSA  
AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ ALIMENTAIRE  
ET MÉDICAMENTS

Journées Réphy, 1 - 2 avril 2009

## Tâche 2 : Étude toxicité et développement d'outils de suivi des fractions toxiques

- Co-responsables de la tâche : MNHN et CNRS-Bordeaux 1
- Partenaires associés : UMR-5119-CNRS Montpellier II, Université de Bordeaux II, et Afssa-LERQAP/MNHN et Afssa LERMVD.

- 1/ **Développer** des modèles expérimentaux sur lignées cellulaires
- 2/ **Suivi des fractions toxiques** lors d'une procédure d'isolation pour identifier les composés responsables des mortalités souris
- 3/ **Développer une batterie de tests *in-vitro*** utilisables dans une démarche de screening face à une situation de toxicité inconnue

7



Journées Réphy, 1 - 2 avril 2009

Lignées	HepG2	Caco2	Neuro-2a
Labos	Afssa Fougères Bordeaux 1 Bordeaux 2 MNHN Novaleads	Afssa Fougères Bordeaux 1	Bordeaux 2 MNHN
Toxines	AO AZA1 PTX2	AO AZA1 PTX2	STX
Marqueurs	MTT SYTO	MTT SYTO	MTT

- ✓ Lignée HepG2 / 4 laboratoires, mêmes conditions (milieux, sérum, repiquage, ...)
- ✓ Ligne N2a, CaCO2 / 2 laboratoires Toxines certifiées (NRC-CNRC)
- ✓ Un protocole exp. par toxine standard, par matrice coquillage (total n = 15)
- ✓ Une base de données unique

8



Journées Réphy, 1 - 2 avril 2009

## Calendrier (sept 2008 – dec 2010)

1. Démarche expérimentale, mise en place des laboratoires (équipements, formation des personnels, achats lignées, standards certifiés...): sept 2008- dec 2008
2. Etude sur standards (e.g. CE50, ...): janv 2009 – juin 2009
3. Base de données: depuis dec 2008
4. Etude de matrices "contrôle" (i.e. non contaminées) : juil 2009 – oct 2009
5. Etude de matrices dopées avec toxine : oct 2009 – janv 2010
6. Etude de matrices naturelles d'Arcachon : janv 2010 - sep 2010
7. Analyse des résultats, interprétations, valorisation : sep 2010 – dec 2010

9



AFSSA  
AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ ALIMENTAIRE  
ET MÉDICAMENTS

Journées Réphy, 1 - 2 avril 2009

## Tâche 3 : Etude des hypothèses sur la nature des dangers

### 5 catégories d'hypothèses

- ✓ T3a : Toxicité atypique due à une synergie entre toxines et/ou présence esters de ces toxines (spiroïdides et pecténotoxines). *Ifremer Nantes*
- ✓ T3b : Toxicité due à des espèces phytoplanctoniques réputées toxiques ou méconnues. *Ifremer Arcachon et UMR-EPOC*
- ✓ T3e : Toxicité due à des contaminants organiques ou inorganiques d'origine anthropique. *Afssa - Lerqap*
- ✓ T3f : Toxicité due à des interférences liées aux teneurs en AGL. *ITERG*
- ✓ T3h : Etude des organes cibles et mécanismes létaux. *Afssa – Lerqap et ENVA*

10



AFSSA  
AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ ALIMENTAIRE  
ET MÉDICAMENTS

Journées Réphy, 1 - 2 avril 2009

### T3a : Toxicité atypique due à une synergie entre toxines et/ou présence esters de ces toxines (spiroïdides et pecténotoxines)

2 hypothèses investiguées

- ⇒ présence esters de toxines (PTX, SPX)
- ⇒ phénomène de synergie des toxines

1/ Esters de PTX et SPX

- Mise au point de la détection directe des esters de toxines par CL-SM/SM
  - pas de standards d'esters de toxines AO, PTX2, SPX1 donc synthèse d'esters à partir de toxines et AG
  - utilisation de ces stds pour développer la méthode CL-SMSM
- Recherche d'esters de toxines dans les échantillons d'Arcachon (06-07)
  - détermination profils AG dans les huîtres pour prédire/calculer les masses correspondant aux esters de PTX2 et SPX1 à rechercher
  - analyse CL-SM/SM → pics chromato pouvant correspondre aux esters (pas confirmation possible par hydrolyse acide)

11



AFSSA  
AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ ALIMENTAIRE  
ET SANITAIRE

Journées Réphy, 1 - 2 avril 2009

- Mise au point d'une méthode d'hydrolyse douce pour confirmer la présence d'esters de PTX et SPX
  - utilisation lipase et estérase pour hydrolyse enzymatique
  - méthode testée sur les standards d'esters synthétisés
  - confirmation que composés détectés par CL-SM/SM pas esters

2/ Synergie de toxines

- Reconstitution d'extraits de GD contenant une teneur en toxines équivalente à celle trouvée dans les échantillons atypiques :  
25 AO + 5 SPX1 + 10 PTX2 (µg/Kg de chair)  
↳ **mortalité souris en 4-5j au lieu de 24h**

12



AFSSA  
AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ ALIMENTAIRE  
ET SANITAIRE

### T3b : Toxicité due à des espèces phytoplanctoniques réputées toxiques ou méconnues dans le bassin d'Arcachon

#### Objectifs :

- Etudier la composition spécifique algale pour déterminer si certains taxons sont susceptibles d'être à l'origine des toxicités observées
- Analyser les différences de structure des populations phytoplanctoniques entre périodes non toxiques et toxiques

#### 1/ Analyse de la série historique phytoplancton-phyco toxines

- Restitution des épisodes de ces dernières années dans la série historique
- Analyse de la série de données de 2002 à 2008 à partir de toutes les données disponibles
- Identification et qualification des périodes (distinction périodes typiques / atypiques, avec ou sans phytoplancton)
- Pour chaque période définie, analyse des liens entre symptômes souris, phytoplancton et toxines

#### 2/ Etude de la structure des populations phytoplanctoniques



### T3e : Toxicité due à des contaminants organiques ou inorganiques d'origine anthropique

Objectif : déterminer si certains produits utilisés comme traitement anti termites (fipronil et métabolites) peuvent expliquer les mortalités souris

↳ hypothèse basée sur les données Ifremer pour les points Jacquets et Comprian (intérieur du bassin)

- ✓ Réflexion sur la pertinence du choix de ces contaminants
- ✓ Intérêt tout particulier pour les travaux scientifiques menés au niveau environnemental dans le bassin d'Arcachon
  - ↳ programme régional (CSOA)
  - ↳ étude Wharf (SIBA, Smurfit Kappa)
- ✓ Orientation sur le choix des contaminants en fonction des données produites



Journées Réphy, 1 - 2 avril 2009

### T3f : Toxicité due à des interférences liées aux teneurs en AGL

**Objectifs :**

- Déterminer les teneurs et composition en AG libres et AG totaux dans les HP des prélèvements d'huîtres réalisés par le Réphy pendant la période à risques et analysés par bioessai sur souris
- Etudier une possible corrélation entre les résultats des bioessais sur souris et les teneurs et composition en AG libres

Analyse des prélèvements Réphy des campagnes 2007 et 2008

- ✓ prélèvements réalisés sur Arguin sud et Grand Banc
- ✓ 10 semaines en 2007 (pas de toxicité atypique)
- ✓ 30 semaines en 2008 (toxicité atypique)

  
AGENCE FRANÇAISE DE SÉCURITÉ ALIMENTAIRE  
DES NUTRIMENTS ET DES PHARMACIENS

15

Journées Réphy, 1 - 2 avril 2009

	AG T (mg/g HP)	AG L (mg/g HP)	AGT/AGL (%)
2008 Arguin S (n=30)	10,4 à 32,3	<u>0,3 à 6,4</u> <u>Moy = 1,8</u> <u>5 val &gt; 3</u>	1,3 à 28,5
2008 Gd Banc (n=22)	6,9 à 30,7	<u>0,2 à 7,0</u> <u>Moy = 1,0</u> <u>1 val &gt; 3</u>	1,6 à 32
2007 (n=12)	7,1 à 34,2	<u>0,6 à 3,0</u> <u>Moy = 1,3</u>	3,3 à 18

- Les teneurs en AG Libres n'expliquent pas de manière évidente la positivité des résultats des bioessais sur souris
- L'étude plus approfondie des corrélations des rapports AGL/ AGT et de certains AG polyinsaturés est en cours.

  
AGENCE FRANÇAISE DE SÉCURITÉ ALIMENTAIRE  
DES NUTRIMENTS ET DES PHARMACIENS

16

Journées Réphy, 1 - 2 avril 2009

### T3h : Etude des organes cibles et mécanismes létaux

Objectif : identifier la cause physiologique des mortalités souris

- ↗ Observation clinique (symptômes)
- ↗ Observations nécroscopiques (aspect macroscopique des organes)
- ↗ Observations microscopiques (aspect microscopique des tissus)

Démarche :

- ✓ Expérimentations réalisées à partir de moules (Arguin juin 2006) et huîtres (Arguin juillet 2008) contaminées
- ✓ Détermination de la dose sublétales pour chacun des échantillons (test de différentes dilutions)
- ✓ Administration de cette dose à 10 souris
- ✓ Réalisation de témoins (moules ou huîtres non contaminées, Tween 60) pour vérifier la spécificité de l'action toxique des échantillons contaminés
- ✓ Euthanasie des animaux après 48h et prélèvement des organes (reins, rate, foie, estomac, tube digestif, poumons, thymus, cœur, encéphale)
- ✓ Examen macroscopique et microscopique des organes



17

AFSSA  
AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ ALIMENTAIRE  
ET SANITAIRE

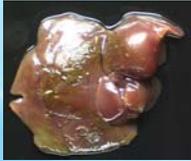
Journées Réphy, 1 - 2 avril 2009

### Résultats

- ✓ Nature des lésions similaire pour l'échantillon d'huîtres ou de moules contaminées
- ✓ Gradation des lésions en fonction de la dose (dilution) administrée
- ✓ Absence de ces lésions dans le cas des témoins (Tween, échantillon non contaminé)
- ✓ Les reins, poumons, l'estomac et l'encéphale ne présentent pas de lésions significatives
- ✓ Déplétion lymphocytaire importante dans le thymus (→ effet du stress sur les animaux)



Huîtres non contaminées

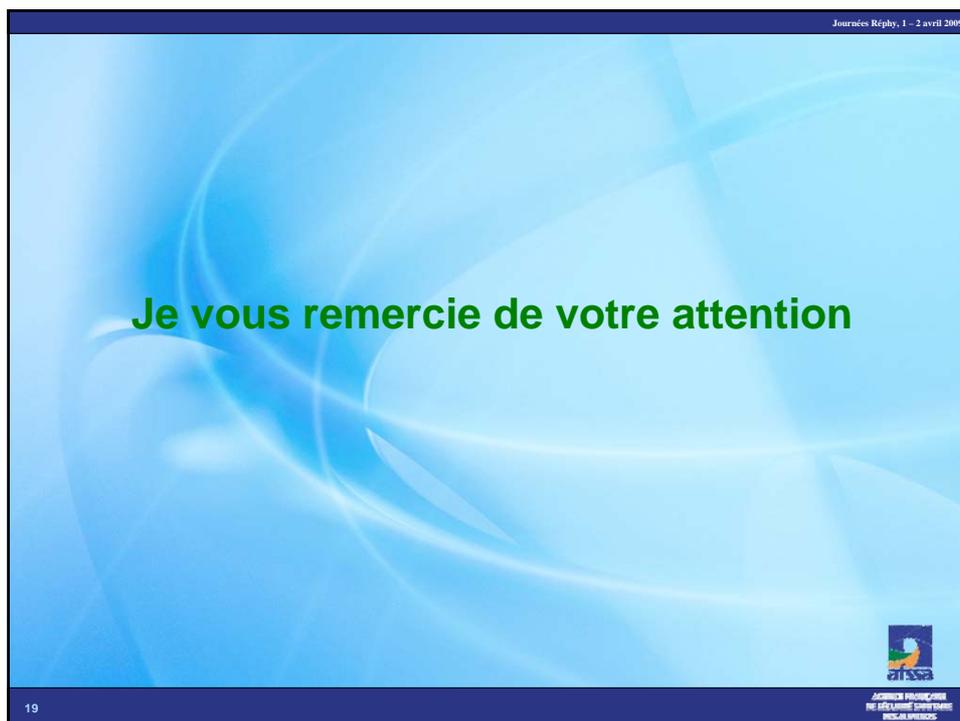


Huîtres contaminées



18

AFSSA  
AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ ALIMENTAIRE  
ET SANITAIRE



**Marielle Gueguen**, Ifremer Nantes

Contribution des données des réseaux de surveillance dans l'élaboration de modèles décrivant la cinétique de détoxification de mollusques bivalves contenant des phycotoxines. Thèse en cours

## Contribution des données des réseaux de surveillance dans l'établissement d'un modèle de détoxification

Marielle Guéguen, Régis Baron, Patrick Lassus, Laurent Barillé

Ifremer

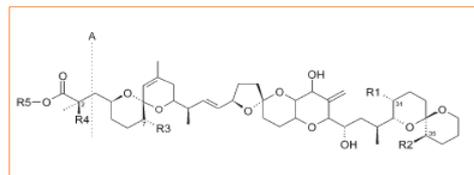
## Pourquoi mettre en place un modèle?

Objectif: - Mise en place d'un modèle de détoxification de mollusques bivalves contenant des phycotoxines pour :

- => aider à la compréhension des mécanismes biologiques et des paramètres environnementaux pouvant modifier la cinétique de détoxification;
- => prédire le temps nécessaire à la détoxification,
- => fournir les informations nécessaires à l'établissement de modes opératoires convenant à des pilotes de détoxification

Ifremer

## Les moules et les toxines diarrhéiques (acide okadaïque)



Ifremer

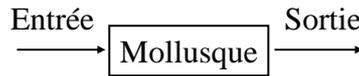
## Les expériences en laboratoire ont permis de mettre en évidence:

- Pour les toxines diarrhéiques et les moules:
  - Effet significatif de la présence de microalgues fourrage dans l'accélération de la vitesse de détoxication;
  - Effet significatif de la concentration en microalgues.

Ifremer

## Les modèles

Utilisation de modèle à un compartiment:



$$\Delta \text{concentration} = \text{entrée} - \text{sortie}$$

$$\frac{dC}{dt} = I - k \times C$$

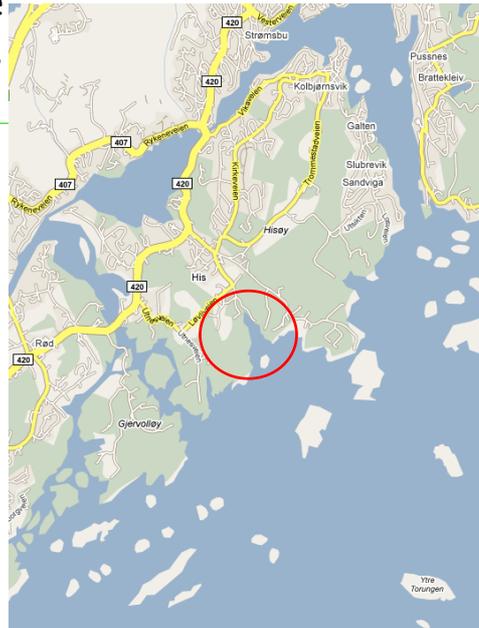
Avec: C: la concentration en toxine en  $\mu\text{g AO}$  par kg de glande digestive  
I: la quantité de toxine ingérée en  $\mu\text{g AO}$  par kg de glande digestive par jour  
k: coefficient de détoxication en  $\text{jour}^{-1}$   
t: le temps en jour

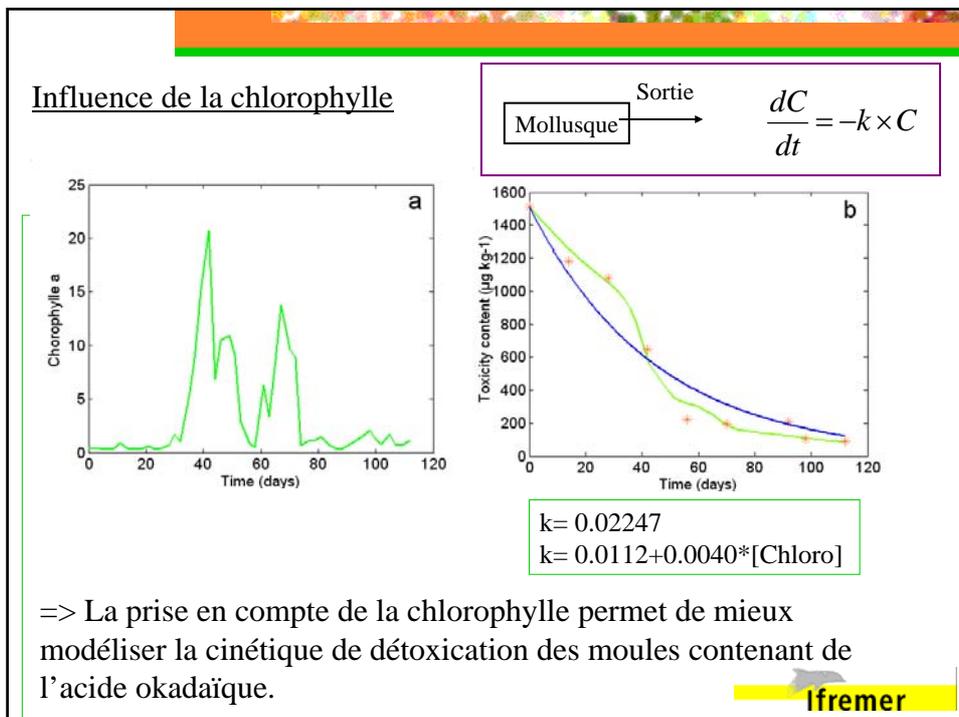
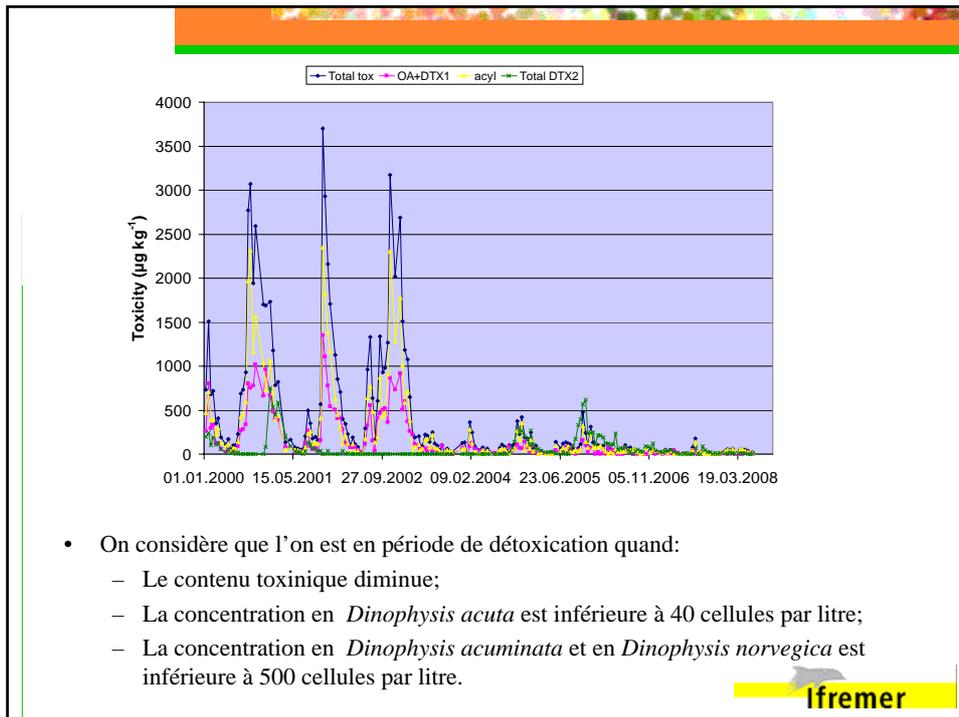
Ifremer

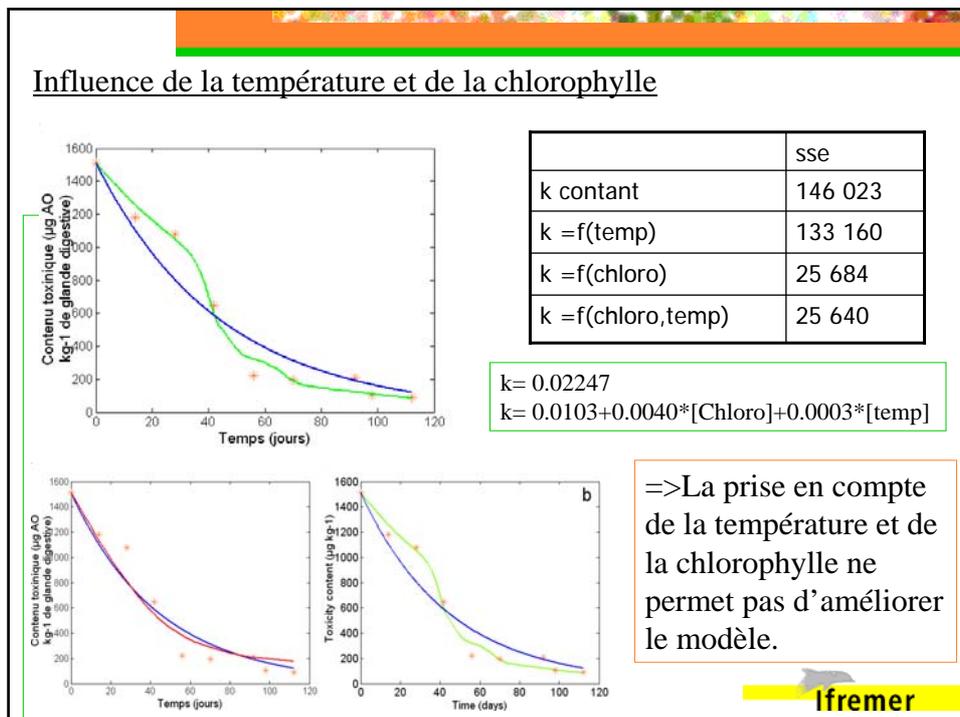
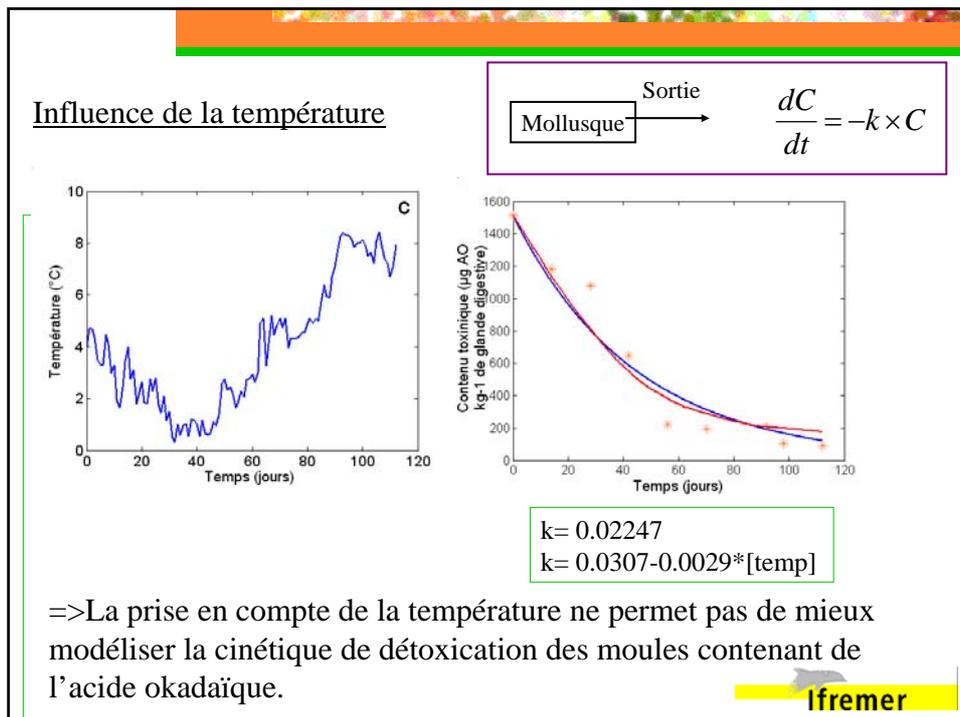
## Utilisation des données de surveillance norvégiennes

### Flødevigen

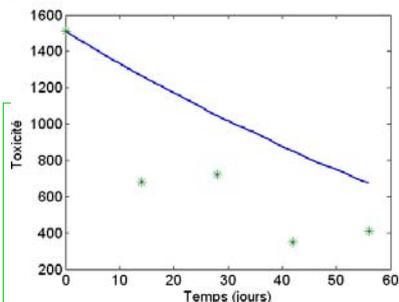
- Mesure chimique du contenu toxinique tous les 15 jours;
- Mesure de la chlorophylle tous les 2-3 jours;
- Mesure de la concentration en algues toxiques tous les 2-3 jours;
- Mesure de la température tous les jours.





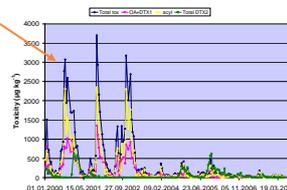


### Validation du modèle – 1er exemple

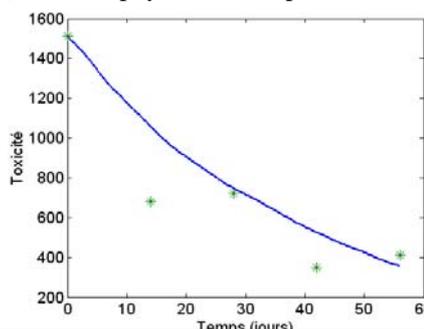


Utilisation du modèle prenant en compte uniquement la chlorophylle.

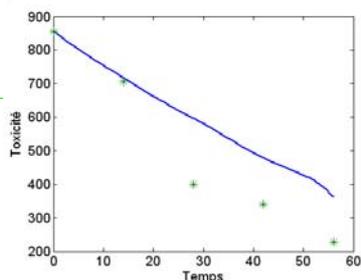
=>Amélioration du modèle lorsqu'on utilise la chlorophylle et la température.



Utilisation du modèle prenant en compte la chlorophylle et la température.

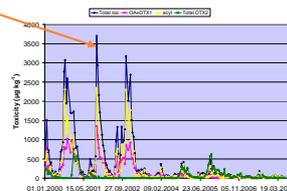


### Validation du modèle – 2ème exemple

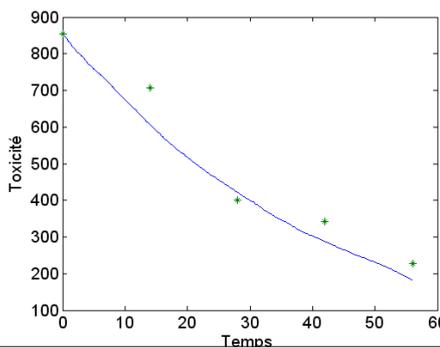


Utilisation du modèle prenant en compte uniquement la chlorophylle.

=>Amélioration du modèle lorsqu'on utilise la chlorophylle et la température.



Utilisation du modèle prenant en compte la chlorophylle et la température.

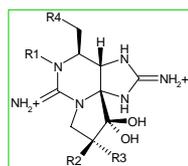


■ L'utilisation des données des réseaux de surveillance à permis de :

- mettre en évidence l'impact de la température;
- et de confirmer l'influence de la matière organique (chlorophylle) sur la détoxification de moules contenant des toxines diarrhéiques.

Ifremer

## Les huîtres et les toxines paralysantes



Ifremer

## Les expériences en laboratoire ont permis de mettre en évidence:

- Pour les toxines paralysantes et les huîtres:
  - Effet significatif de la présence de microalgues fourrage dans l'accélération de la vitesse de détoxification
  - Pas d'effet significatif quant à la concentration en microalgues (0,6 et 2,0 mg L<sup>-1</sup> de matière en suspension), pas d'influence de la nature de la microalgue (*Isochrysis galbana*, *Tetraselmis suecica*, *Skeletonema costatum* et *Thalassiosira weissflogii*).
  - Pas d'effet de la température (12-20°C).
  - L'influence de la matière organique reste à confirmer.

Ifremer

## Les modèles

Utilisation de modèle à un compartiment:



$$\Delta \text{concentration} = \text{entrée} - \text{sortie}$$

$$\frac{dC}{dt} = I - k \times C$$

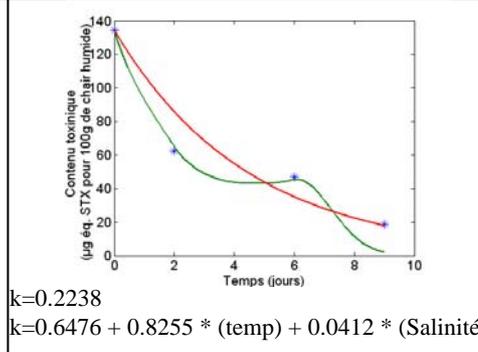
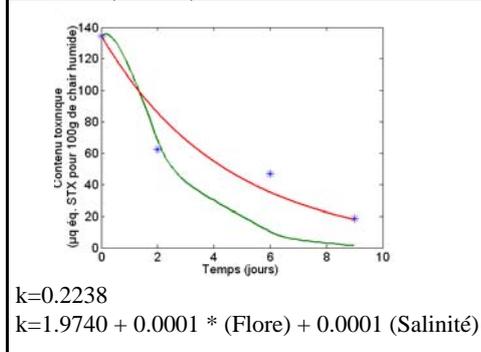
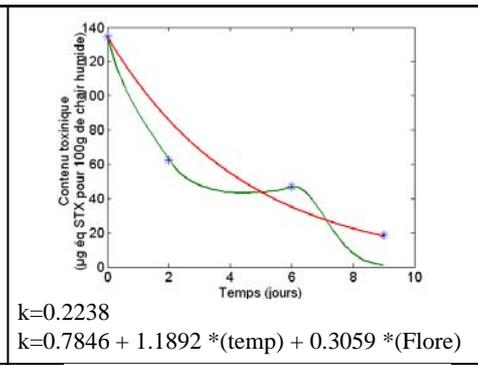
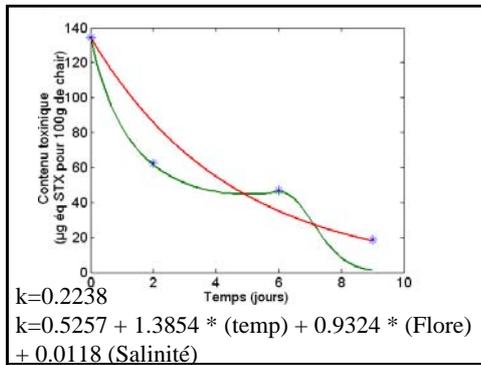
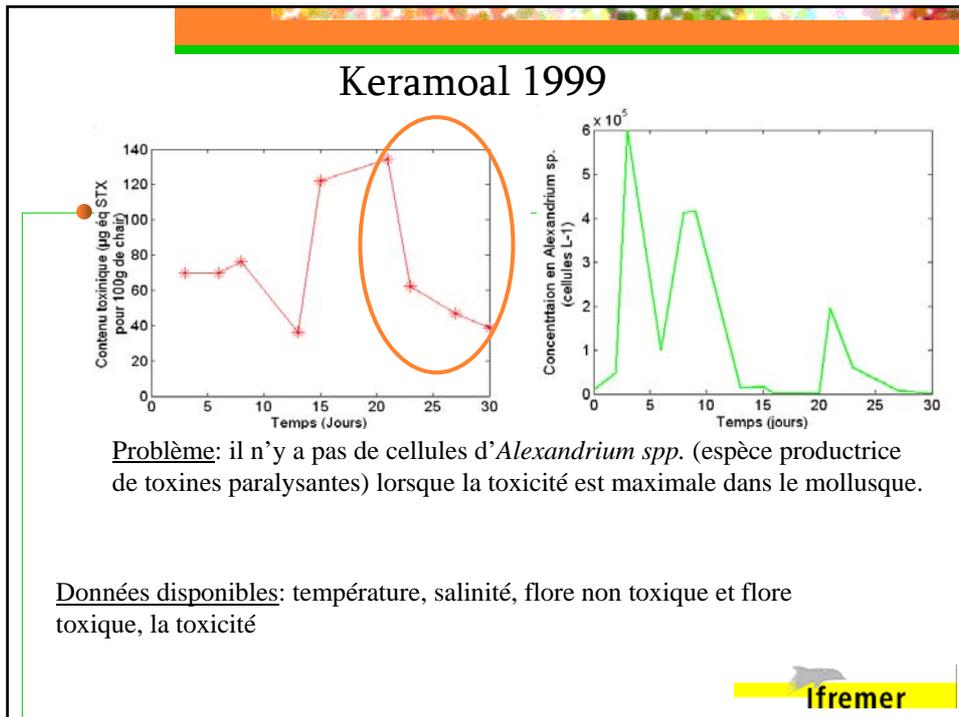
Avec: C: la concentration en toxine en µg éq.STX par 100 g de chair humide

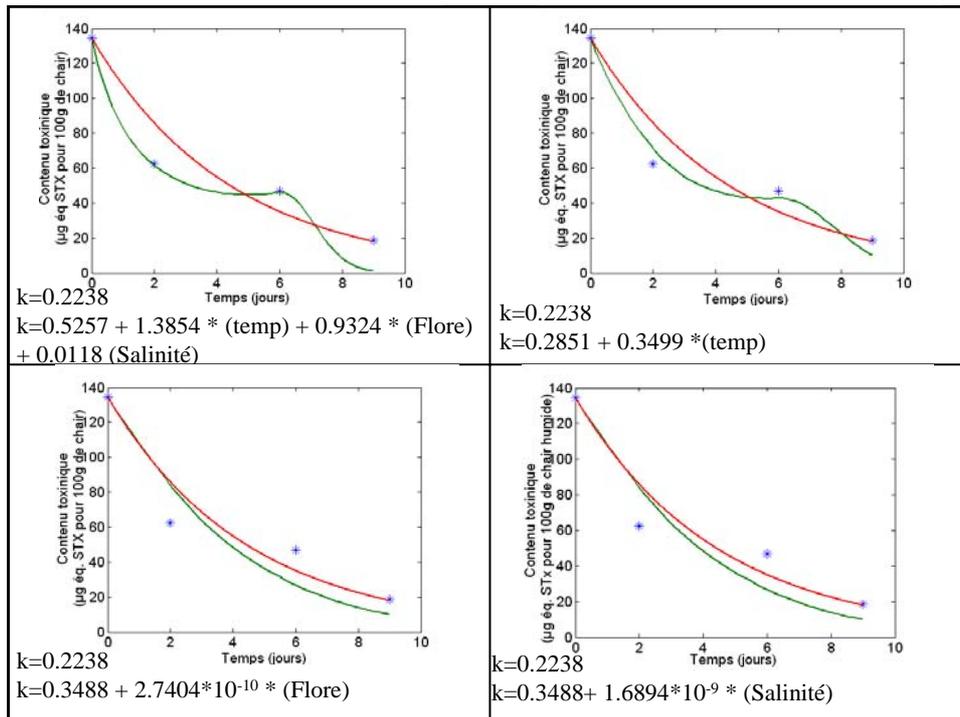
I: la quantité de toxine ingérée en µg éq. STX pour 100g de chair par jour

k: coefficient de détoxification en jour<sup>-1</sup>

t: le temps en jour

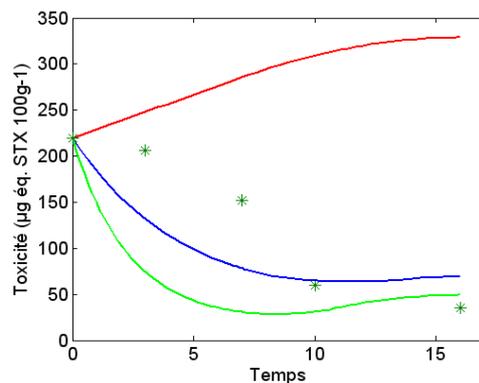
Ifremer





■ Impact significatif de la température sur la cinétique de détoxification des huîtres contenant des toxines paralysantes.

- Utilisation du modèle sur d'autres données – Validation du modèle
  - Keramoal 1995



=> Modèle non validé

- $k = f(\text{temp})$
- $k = f(\text{temp}, \text{Flore})$
- $k = f(\text{temp}, \text{Flore}, \text{salinité})$



## Apport des données des réseaux de surveillance : conclusion

- Grand nombre de données disponibles par le biais des réseaux de surveillance;
- Permet de mettre en évidence et/ou de confirmer l'impact des variables environnementales sur les cinétiques de contamination/décontamination;
- Malheureusement toutes les données ne sont pas toujours exploitables (problèmes dans l'échelle de temps de l'échantillonnage).

**Claire Marcaillou**, Ifremer Nantes

Résultat obtenu dans le projet européen BIOTOX sur la décontamination de moules contenant des dinophysistoxines



## WP 9: Effet de la nourriture sur la décontamination des moules contenant des Dinophysistoxines

### Présentation de l'équipe

Coordination: Claire Marcaillou

---

Station aquacole  
de Bouin

Labo PHYC Nantes

Joël Haure,  
Béatrice Dupuy,  
Christian Péniisson,  
Max Nourri

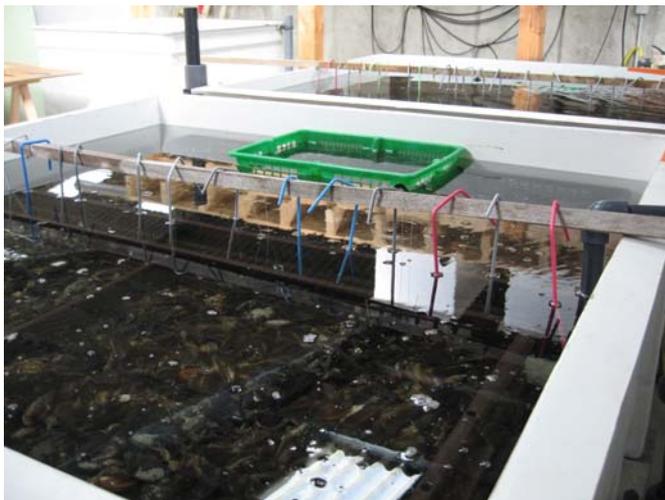
Anne Courcoux,  
Florence Mondeguer  
Claire Marcaillou

Avec la collaboration des LER du Languedoc Roussillon et  
du Morbihan Pays de Loire

## Matériel biologique

- Site de prélèvement: Baie de Vilaine
- Période: mi-juin 2006 et 2007
- Caractéristiques des deux lots de moules
- Espèce: *Mytilus edulis* (4-7 cm)
  - Source des toxines: *Dinophysis acuminata*
  - Toxicité initiale: autour  $4\mu\text{g OA eq.}\cdot\text{g}^{-1}\text{ GD}$ , #  
 $1100\ \mu\text{G}\cdot\text{kg}^{-1}$  chair totale (poids frais)

## Installation expérimentale



Bassin:  $0.8\ \text{m}^3$

Flux continu:  $2.5\ \text{m}^3\cdot\text{h}^{-1}$

T°:  $14-16^\circ\text{C}$

Nourriture: Culture monospécifique de *S. costatum*

## Disposition des moules et échantillonnage



Prélèvement: 12 individus dans chaque demi-banette

Un échantillon: cumul des individus de toutes les bannettes d'un bac (environ 12-13 kg/bac)

Dans chaque bac: 2x4 bannettes empilées



## Conditions expérimentales

- Mêmes conditions et même plan d'expérience
- En 2006, 2 bacs : un avec ( $15-20 \cdot 10^3 \text{ cell.ml}^{-1}$ ) et un sans nourriture
- En 2007, 3 bacs
  - **Bac sans nourriture**, eau claire (control)
  - **Bac-A**: apport de la culture de *S. costatum* à  $15 \cdot 10^3 \text{ cell.ml}^{-1}$
  - **Tank-B**: apport de la même culture à la concentration de  $30 \cdot 10^3 \text{ cell.ml}^{-1}$

## Plan expérimental

T0: démarrage; Tn : jour de prélèvement; X: paramètre mesuré

Jour de prélèvement <sup>t</sup>	Use of samples collected on day Tn						
	Indice de condition	Rapport GD/chair	Toxines Ds GD	Toxines Ds biodépôts	Toxines dissoutes	Mesures bioch	Chlor. a
T0	X	X	X		Suspension of sachets	X	X
T1		X	X	X			X
T2		X	X	X	X		X
T3		X	X	X			X
T6		X	X	X	X		X
T10	X	X	X	X	X	X	X
T14		X	X	X	X		X
T20	X	X	X	X	X	x	X

En 2007: pas de prélèvement le premier et deuxième jour

## Résultats: condition des moules

- **Mortalité:** autour de 4% en poids dans tous les bacs
- **Rétention de la nourriture:** 75-90% (différence de concentrations en Chl.a entre l'entrée et la sortie du flux)

Poids chair sèche (n = 90 individus)

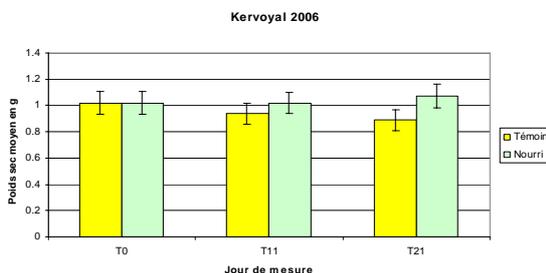
Paramètres biochimiques

## Poids de chair sèche

En 2006

Témoin: Perte de 12%

Nourri: Pas de différence

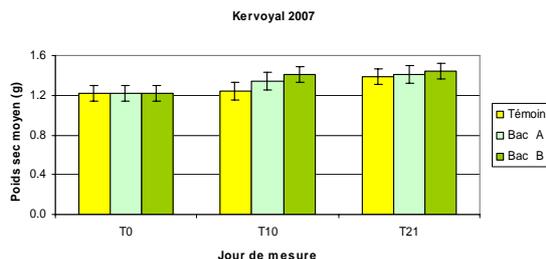


En 2007

Témoin: Gain de 13%

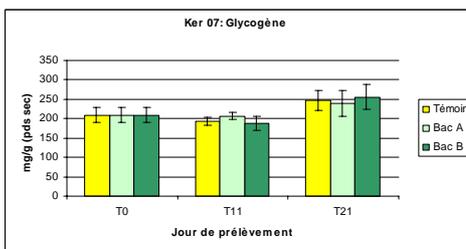
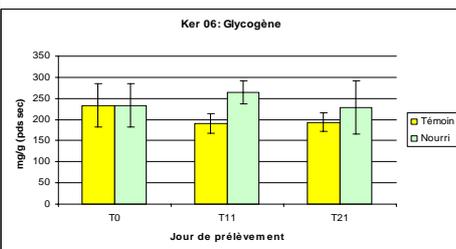
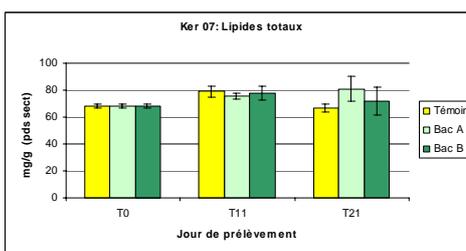
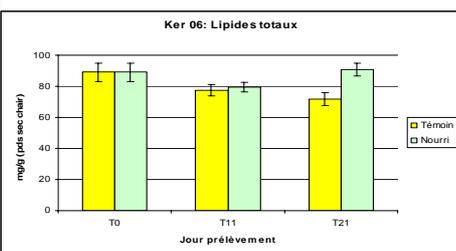
Bac A: Gain de 15%

Bac B: Gain de 18%



L'intervalle de confiance à 95% de la moyenne (n=90) est indiqué par les barres verticales

## Paramètres biochimiques



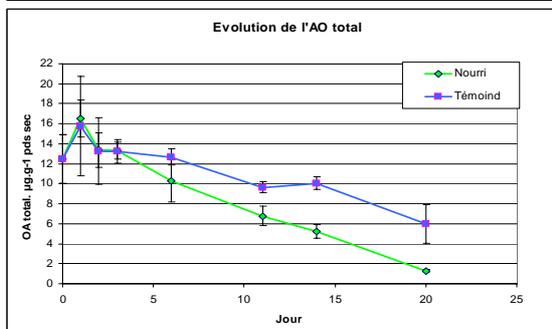
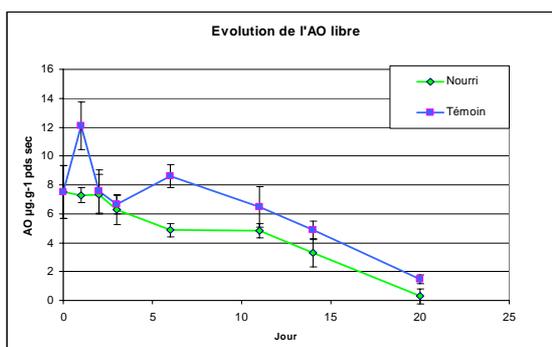
## Résultats: Evolution de la concentration en toxines dans les glandes digestives

- Dans les GD de moules, présence de 2 types de DTXs
  - acide okadaïque libre (AO libre)
  - acide okadaïque total (AO total)
- Evolution des 2 types
- La différence AO total – AO libre indique la présence d'acyl esters (DTX-3)
- La chair restante est exempte de toxine

Juin 2006

- 80% de perte d'AO libre dans le témoin
- 96% de perte d'AO libre dans les moules nourries
- Différence de 16% entre les deux bacs au bout de 3 semaines

- Présence d'esters à hauteur d'environ de  $5\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  GD
- Différence ente les 2 bacs à partir du 6<sup>ème</sup> jour
- 52% de perte d'AO total dans le bac témoin
- 89% de perte d'AO total dans le bac nourri



### Juin 2007

Perte en AO libre

70 % : témoin

85 % : Bac A

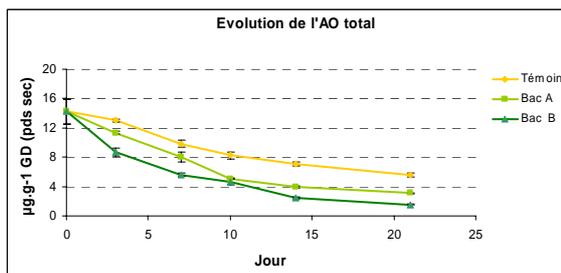
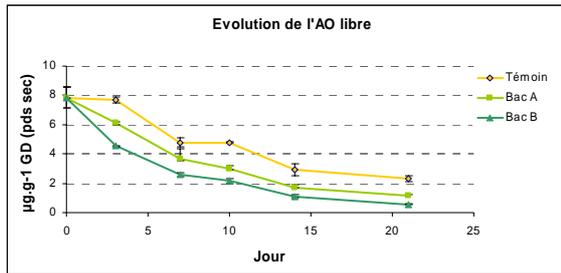
93 % : Bac B

Perte en AO total

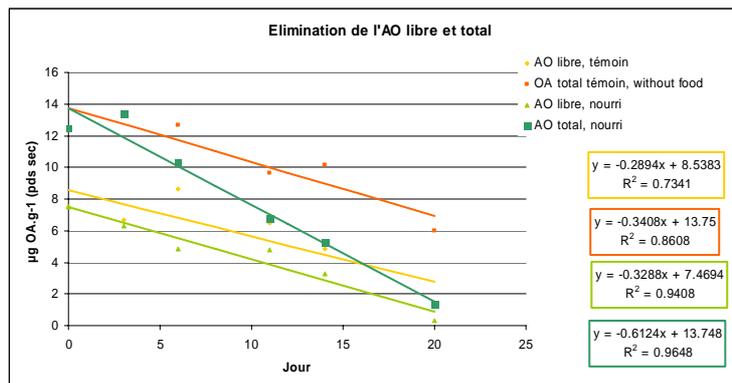
61% : témoin

78 % : Bac A

89 % : Bac B



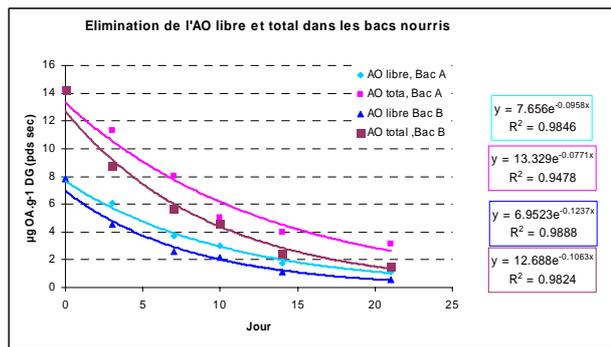
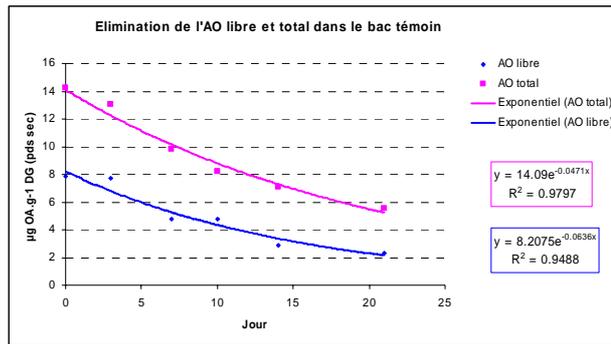
### En Juin 2006



- Une relation linéaire s'ajuste bien aux données surtout pour les moules nourries
- Les pentes sont similaires pour l'AO libre et l'AO total chez les moules à jeun
- L' élimination de l'AO total est plus rapide chez les moules nourries

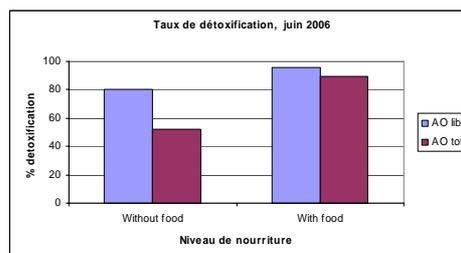
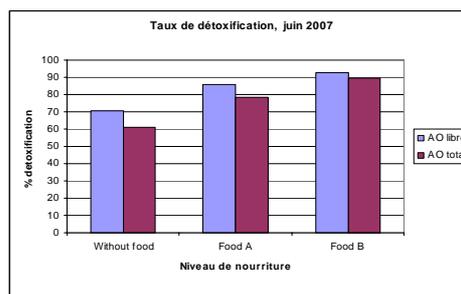
En juin 2007

- Le meilleur model est une exponentiel
- Pas de différence entre l'AO libre et l'AO total
- Résultats identiques avec la charge toxinique

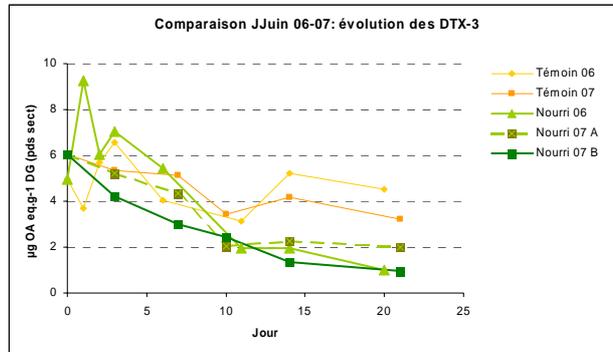


## Comparaison juin 2006 et juin 2007

La nourriture augmente le taux de détoxification



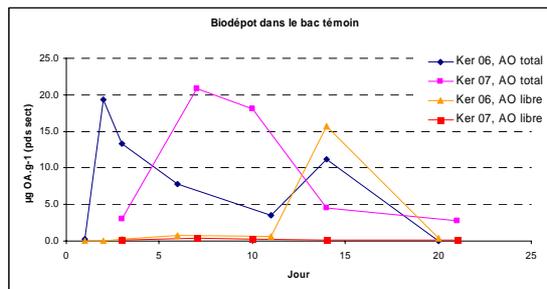
## Les acyl-esters: clé de la décontamination ?



La nourriture améliorerait l'élimination des esters

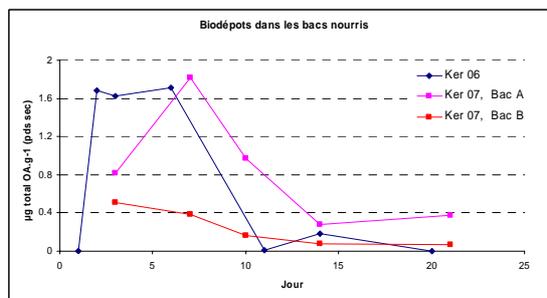
## Biodépôts

Elimination des DTXs majoritairement sous forme d'esters.



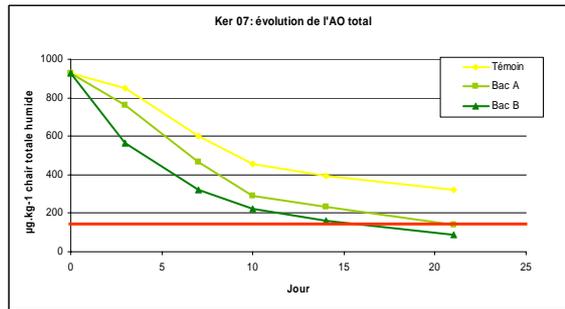
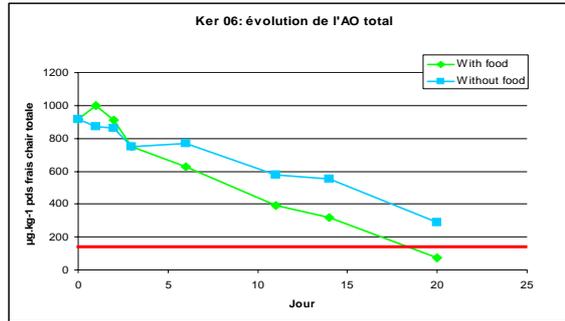
## Dans l'eau

Traces d'AO détectées dans les sachets de résine

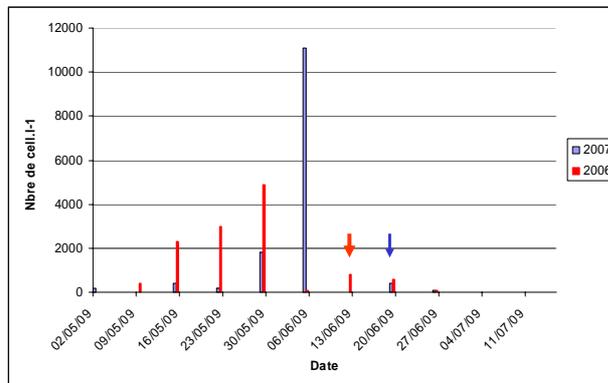


Situation par rapport au seuil sanitaire

160  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  chair totale humide



Evolution des cellules toxiques à Kervoyal



2006: test < 0

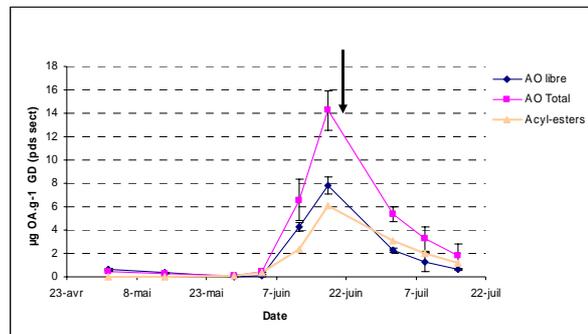
3 juillet

2007: test < 0

20 juillet

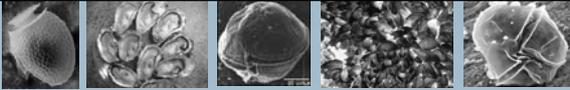
## Suivi de la toxicité à Kervoyal en 2007

Démarrage de la  
décontamination  
expérimentale  
le 22 juin



## Conclusion

- Elimination réelle des toxines plus rapide en présence de nourriture
- Hypothèse: nourriture favoriserait l'élimination des DTX-3
- Dans ces conditions le gain de temps est modeste si l'on considère la durée de fermeture sur le terrain
- Perspectives: cerner la localisation des toxines dans les tissus? influence d'un apport lipidique?



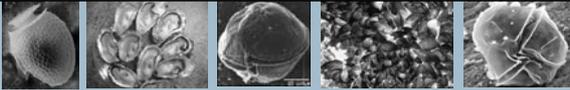
C  
O  
M  
S  
A  
U  
M  
O  
L

# COMSAUMOL

## Maintien de la Commmercialisation par la Sauvegarde et la Détoxification des Mollusques

RESULTATS 2008

REPHY 02/04/2009 1

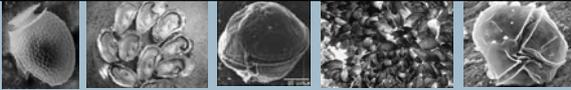


C  
O  
M  
S  
A  
U  
M  
O  
L

## *Etude nationale sur 3 ans 2008-2010*

- Signature d'une charte début 2007 (MAP-CNC-IFREMER): soutien des travaux de recherches concernant les algues toxiques pour pallier au mieux les conséquences économiques pour les entreprises,
- Avis favorable du Comité d'Orientation Scientifique et Technique et d'Evaluation (COSTE),
- Soutien financier des Régions: Normandie, Bretagne, Pays de la Loire, Poitou Charente, Languedoc Roussillon
- Partenariat entre l'Université de Nantes (MMS, GEPEA, LEMNA) et l'IFREMER (AGSAE, EMP, STAM)

REPHY 02/04/2009 2

ifremer  UNIVERSITÉ DE NANTES

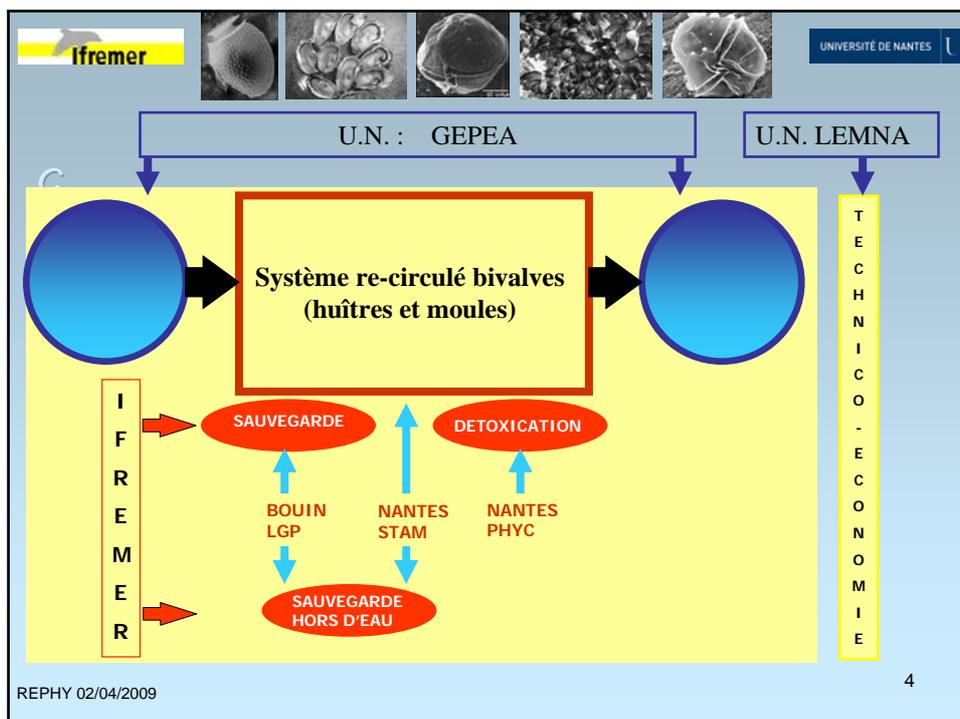
## Contexte/Objectif général

Les efflorescences de micro algues toxiques sont très fréquentes et sont préjudiciables à l'économie des entreprises conchycoles

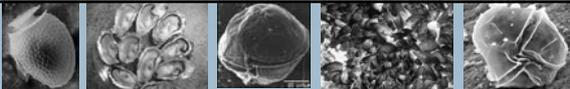
Mise au point, à terre, de procédés génériques pour maintenir la commercialisation :

1. Procédés de traitement de l'eau de mer
2. Sauvegarde bivalves (huîtres/moules)
3. Détoxication bivalves (huîtres/moules)

REPHY 02/04/2009 3



Ifremer UNIVERSITÉ DE NANTES



## Procédés de traitement

**• Quel est le procédé (seul ou en combinaison) le plus adapté à l'élimination des micro-algues toxiques ?**

**• Critères de sélection :**

- Bonne sélectivité
- Capacité de production élevée
- Robuste
- Peu énergivore
- Faible investissement
- Peu de maintenance

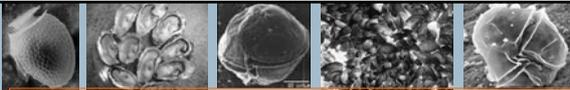
**• Quelques procédés envisageables :**

- Membranes immergées
- Filtres à sable
- Filtres rotatifs
- Hydrocyclone
- etc,

**• Quelles conditions opératoires adopter ?**

REPHY 02/04/2009 5

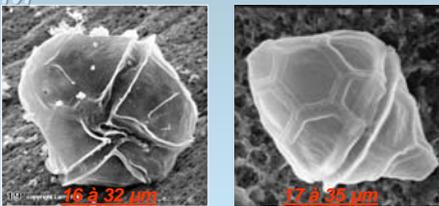
Ifremer UNIVERSITÉ DE NANTES



## • Méthodologie testée : membranes immergées

• filtration d'*Heterocapsa triquetra*, algue  
leurre d'*Alexandrium minutum*  
(30 000 cellules/mL)

• choix du seuil de coupure  
(10kDa, 300kDa, 0,2 µm)



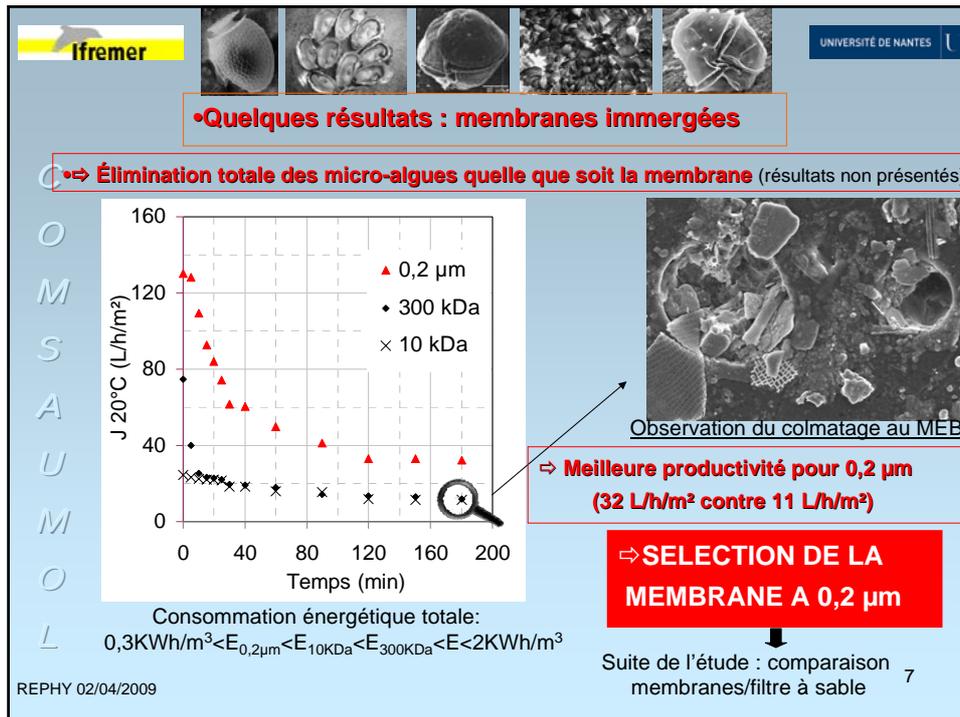
Alexandrium sp. au MEB *Heterocapsa triquetra* au MEB

Similarité morphologique et dimensionnelle



(filtration à 0,3 bar et un débit d'air de 300 L/h)

REPHY 02/04/2009 6



*Procédés de Sauvegarde et Qualité du Bivalve:*

*Maintien de la qualité et de la survie*

**Sauvegarde hors d'eau**

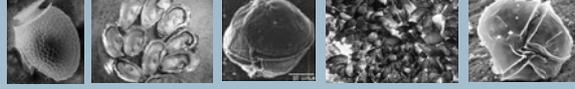
- Chambre froide (3°C et 100% humidité)
- Huîtres et moules

**Sauvegarde en eau re-circulée**

- Hydrodynamisme → bassin bivalve
- Traitement et qualité de l'eau

REPHY 02/04/2009

**Sauvegarde : qualité de l'eau et des bivalves**


### - Sauvegarde hors d'eau : matériel et méthode

COMSAUML

**Stockage des bivalves en Chambre Froide**

- Température : 3°C
- Hygrométrie : 100%
- Huîtres en clayettes : 104 kg N°3
- Moules en clayettes : 37 kg
- Durée de l'essai : 3 semaines
- Témoin : Huîtres et Moules en claire



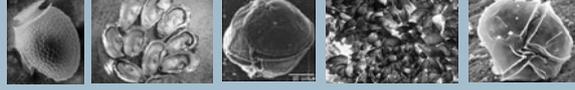
SUML

**Suivi de la qualité du milieu ambiant et des bivalves**

- Chambre Froide : T° et % Humidité Claire : T°
- Bivalve : salinité intra valvaire, biométrie (Ptot, Psec), vol eau intra valvaire (% témoin), mortalité
- Qualité du produit : étude sensorielle (huîtres)

REPHY 02/04/2009 9

Sauvegarde : qualité de l'eau et des bivalves

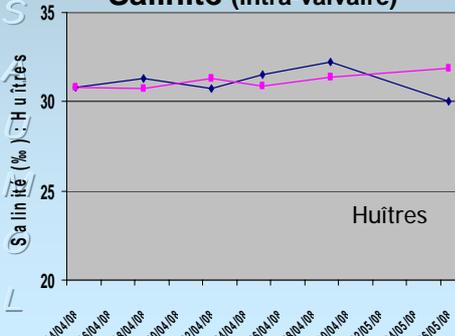
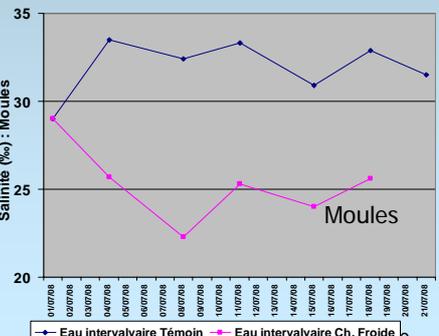




### ■ Température (milieu ambiant)

	T° moyenne en Ch. Froide (°C)	T° moyenne en claire (°C)
Huîtres	3,21 ± 0,13	15,33 ± 0,29
Moules	3,15 ± 0,08	20,91 ± 1,20

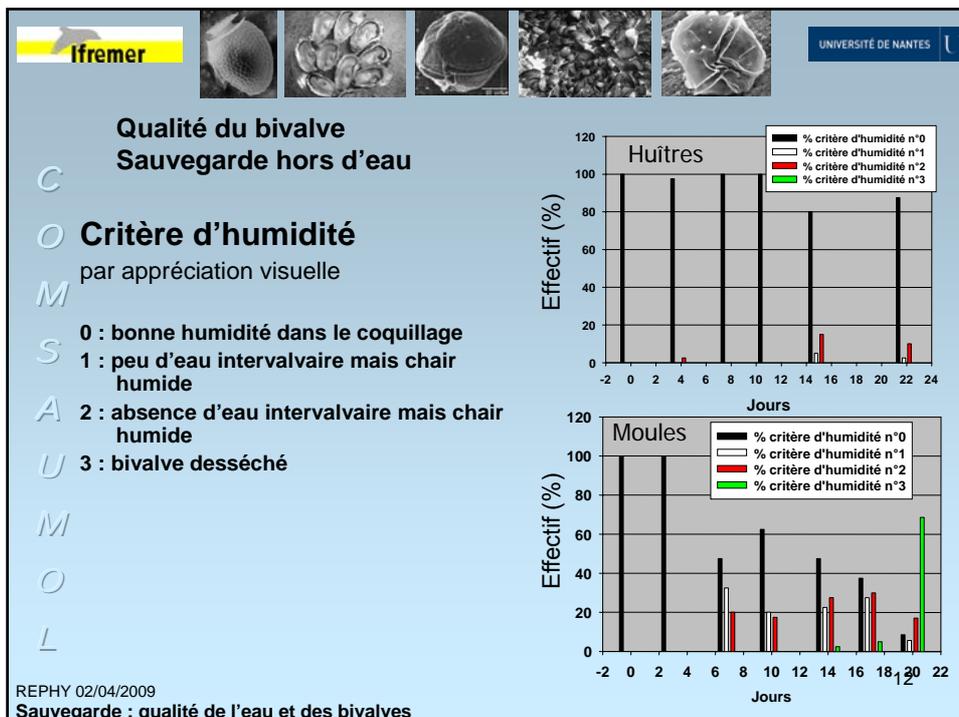
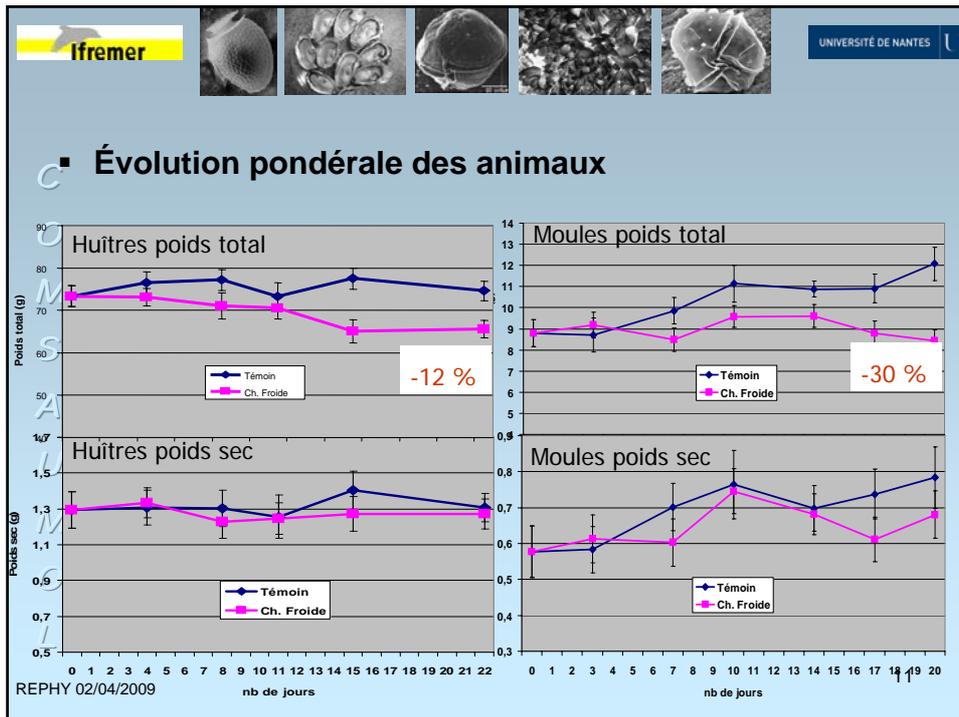
### ■ Salinité (intra-valvaire)

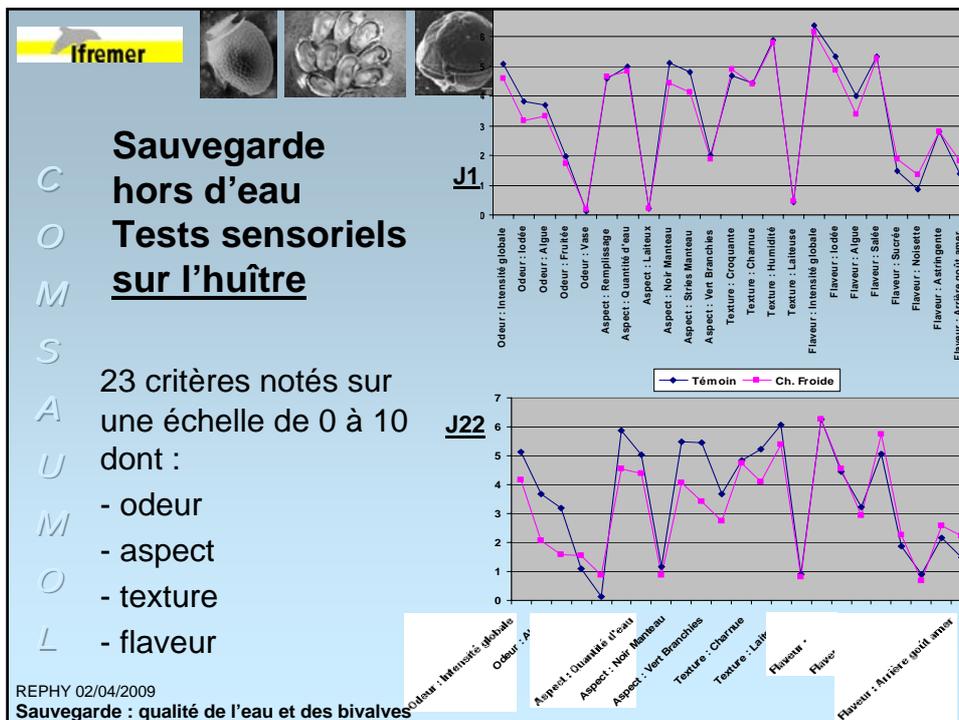
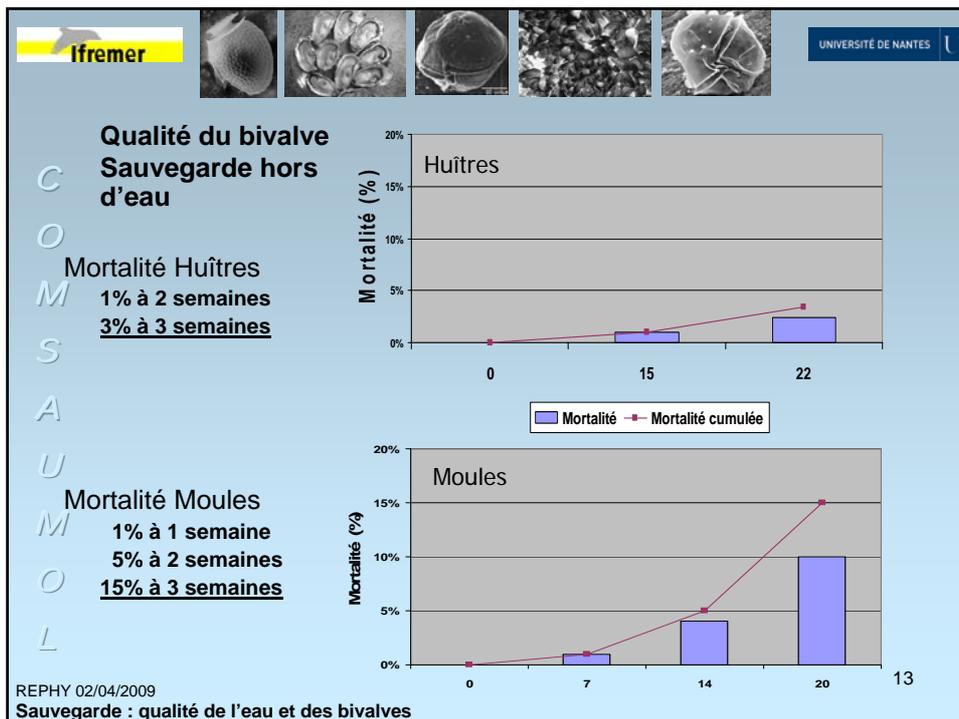
COMSAUML

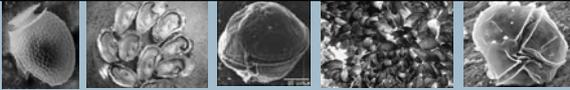



REPHY 02/04/2009 0

Sauvegarde : qualité de l'eau et des bivalves





**BILAN**

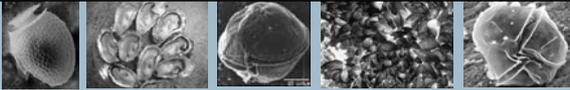
**SAUVEGARDE HORS D'EAU** (3°C & 100% Hum.)

→ Possibilité de conserver des huîtres durant 3 semaines (peu d'évolution de la qualité des animaux)

→ Difficulté à conserver les moules dans un état propre à la commercialisation au-delà d'une semaine (mortalité importante)

REPHY 02/04/2009  
Sauvegarde : qualité de l'eau et des bivalves

15

*Sauvegarde en eau recirculée (huîtres)*

REPHY 02/04/2009  
Sauvegarde : qualité de l'eau et des bivalves

16

Ifremer UNIVERSITÉ DE NANTES

## OBJECTIF

**ÉLABORER UN SYSTÈME SÉCURISÉ D'ÉLEVAGE EN EAU DE BIVALVES  
(CIRCUIT FERMÉ A TERRE)**

↓

- Améliorer l'efficacité des bassins de stockage (hydrodynamique et piège à macro déchets),
- Minimiser l'apport nutritionnel pour réduire les déchets (type, dose, mode de distribution).
- Minimiser l'apport en eau neuve (re-circulation rapide et filtre biologique)
- Garantir la qualité des eaux et des bivalves du circuit (non-toxicité, salubrité)

REPHY 02/04/2009  
Sauvegarde : qualité de l'eau et des bivalves

17

Ifremer UNIVERSITÉ DE NANTES

### Sauvegarde en eau: systèmes re-circulés

**TEMOIN**

Alt → 57  
PVC évacuation Ø 160

Régulation thermique : pompe à chaleur  
traitement UV

**180kg d'huîtres/2 m<sup>3</sup>  
Phyto *S costatum* : 6l/h**

**POUZZOLANE**

Alt → 57  
PVC évacuation Ø 160

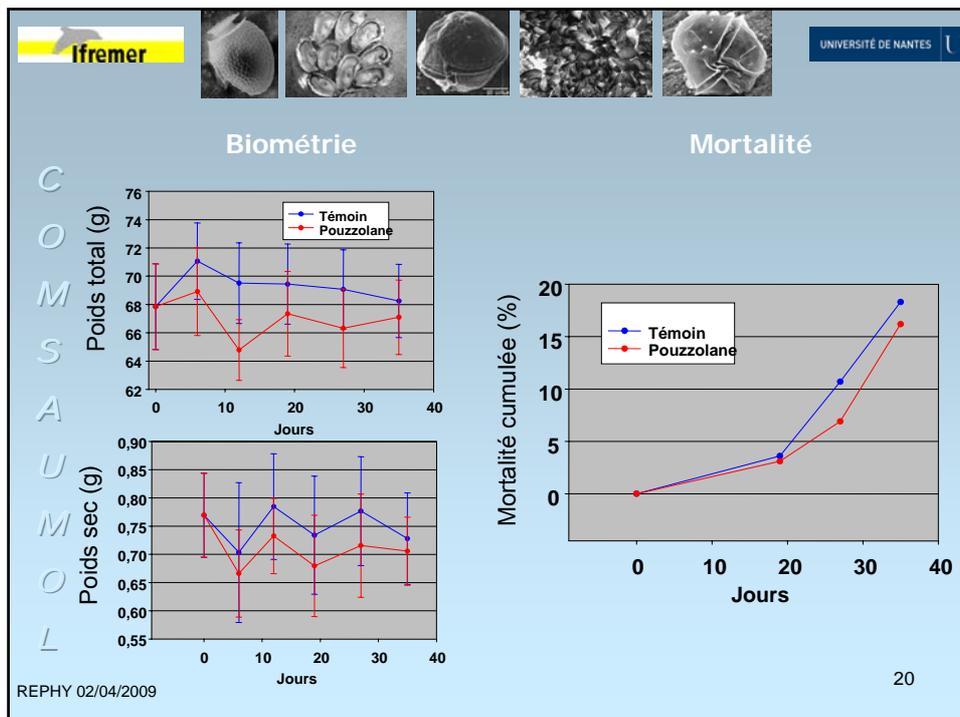
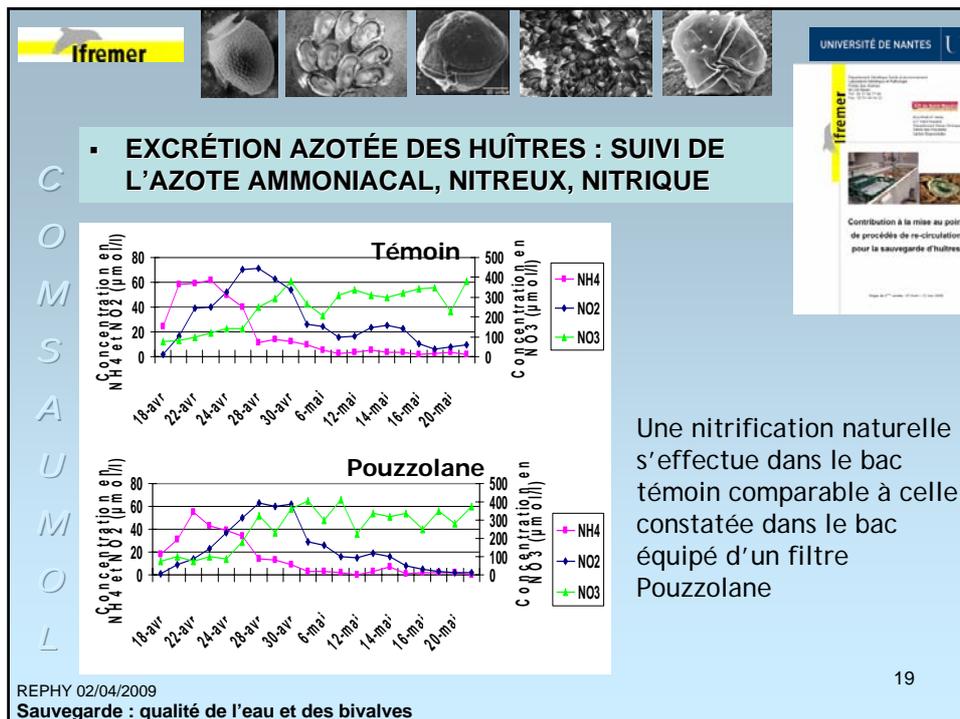
Traitement biologique : pouzzolane  
Régulation thermique : pompe à chaleur  
traitement UV

**Bassin témoin:**  
- lampe U.V  
- Thermorégulation: 16°C

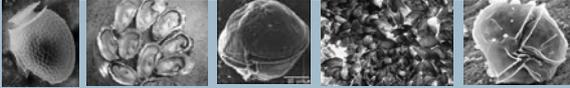
**Bassin pouzzolane:**  
- lampe U.V  
- Thermorégulation: 16°C  
- Traitement biologique

REPHY 02/04/2009

18



ifremer



UNIVERSITÉ DE NANTES

**BILAN**

**SAUVEGARDE EN EAU** (16°C + phyto 6 litres/heure)

→ Possibilité de conserver des huîtres durant 3 semaines avec plus de 95% de survie, et une bonne qualité des animaux (pas de perte de poids significative)

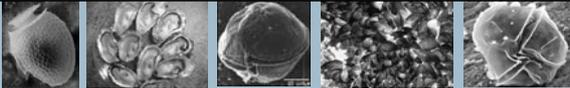
→ pas d'information sur les moules (prévu en 2009)

REPHY 02/04/2009

Sauvegarde : qualité de l'eau et des bivalves

21

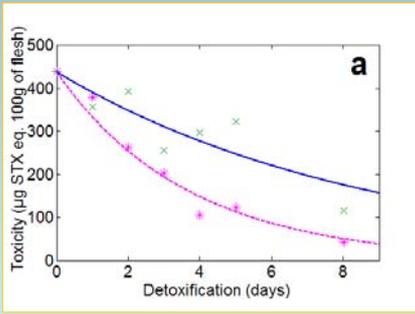
ifremer



UNIVERSITÉ DE NANTES

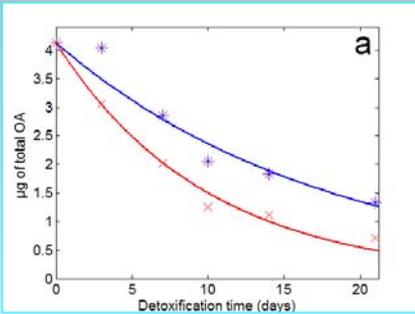
*Détoxification des bivalves*

**Influence de la nourriture (*S.costatum*) : PSP Huîtres**



Detoxification (days)	Toxicity (µg STX eq. 100g of flesh) - Blue Curve (x)	Toxicity (µg STX eq. 100g of flesh) - Pink Curve (*)
0	450	450
1	380	350
2	320	280
3	280	220
4	250	180
5	220	150
6	200	130
7	180	110
8	160	100

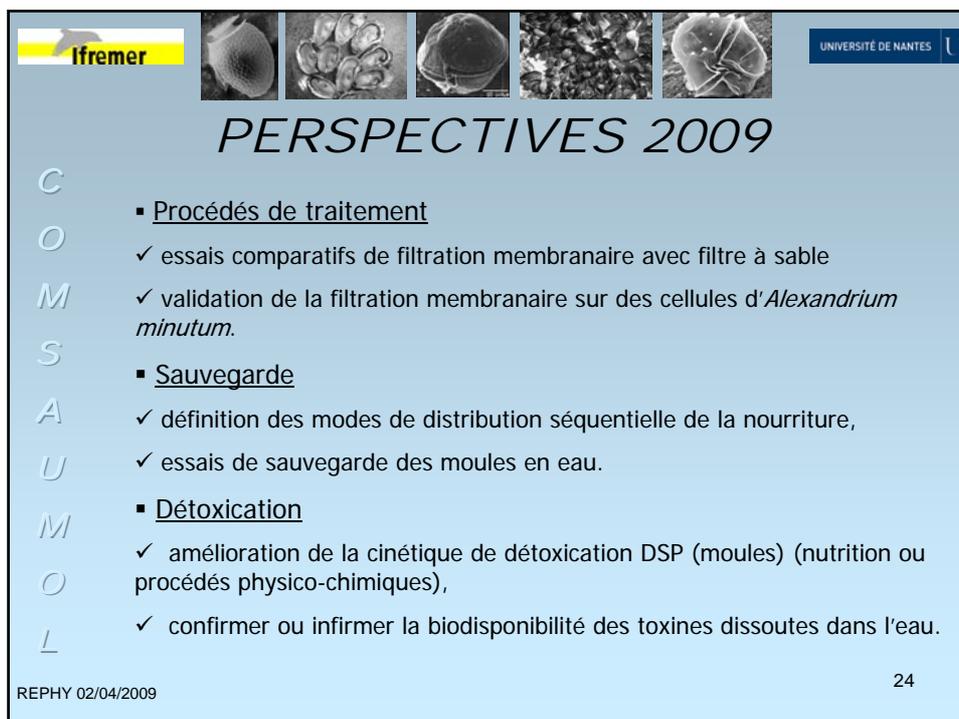
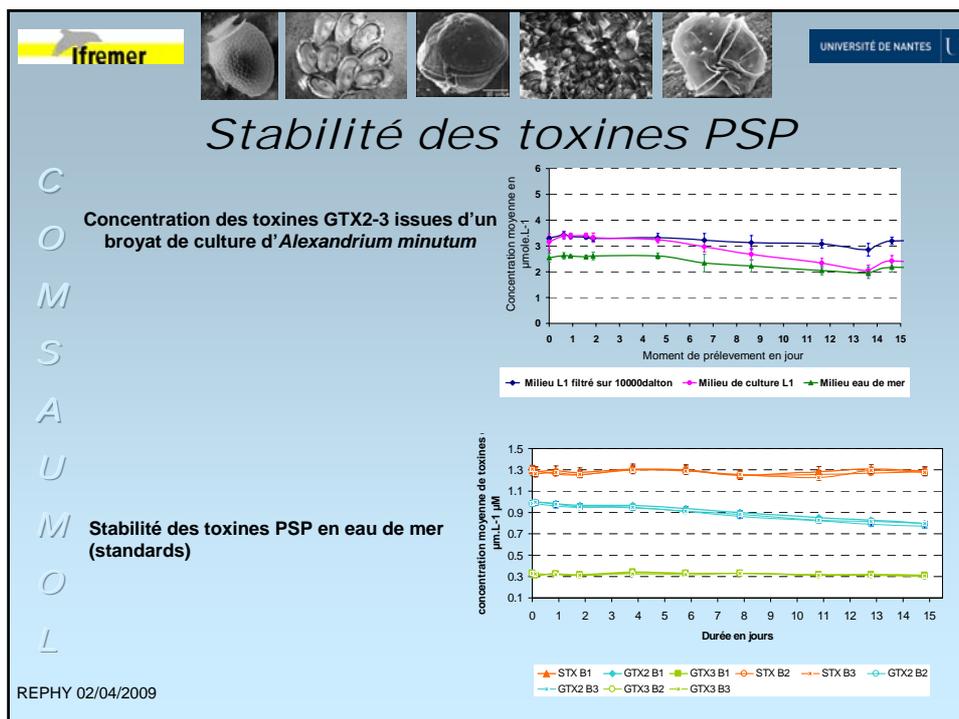
**Influence de la nourriture (*S.costatum*) : DSP Moules**



Detoxification time (days)	µg of total OA - Blue Curve (*)	µg of total OA - Red Curve (x)
0	4.0	4.0
5	3.5	3.0
10	2.8	2.0
15	2.2	1.5
20	1.8	1.2

REPHY 02/04/2009

22



# Ostreopsis: un risque émergent

conjuguer recherche et appui à la gestion

Ifremer

Hubert Grosseil  
Françoise Miralles  
Fabienne Chavanon  
Roger Kantin

LER-PAC

Journées REPHY / Nantes / 1-2 avril 2009

H.Grosseil

# Micro-algues benthiques

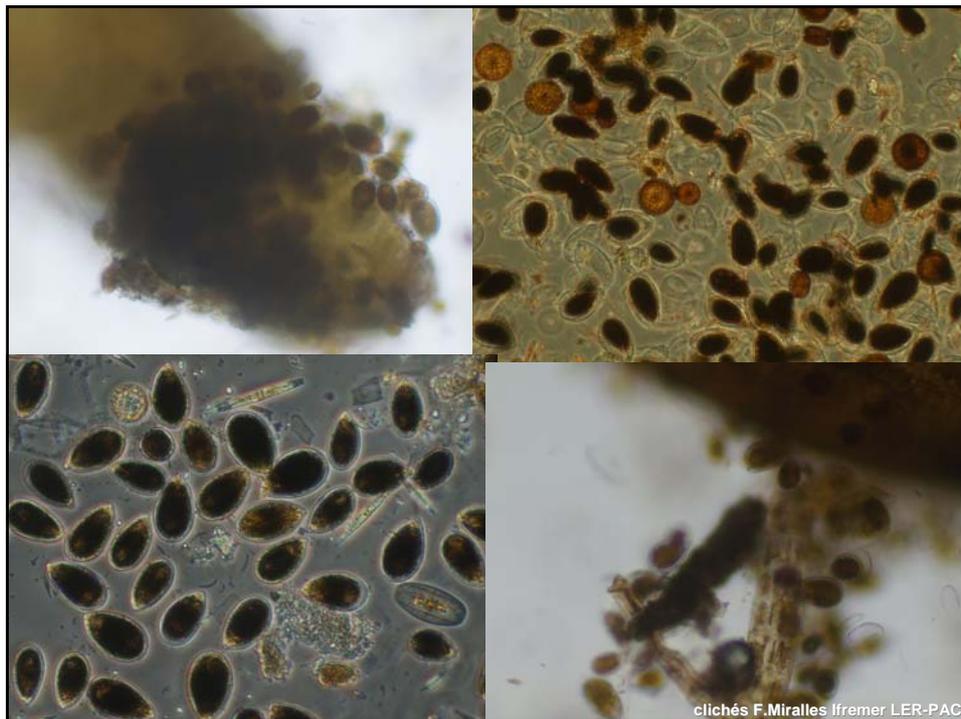
2006 : vers une surveillance formelle?



Ifremer

Journées REPHY / Nantes / 1-2 avril 2009

H.Grosseil



## le REPHY...

*Cahier des procédures et de programmation*

### Seuils d'alerte phytoplancton

#### Autres espèces toxiques ou supposées toxiques

Les données disponibles ne permettent pas toujours de déterminer un seuil d'alerte : c'est par exemple le cas d'*Alexandrium ostentfeldii*, espèce productrice de spiroïdes qui sont classées dans les toxines lipophiles, ou bien d'*Ostreopsis*, dont certaines espèces produisent des palytoxines. L'observation de concentrations supérieures à quelques centaines ou milliers de cellules par litre pour ces espèces, doit faire l'objet d'une procédure d'alerte particulière (cf. 11.1.4), en particulier pour les modalités de prélèvement des espèces benthiques telles qu'*Ostreopsis*.

Il convient dans ces cas de se référer au protocole décrit dans l'annexe 7 du Manuel d'observation et de dénombrement du phytoplancton marin.

Ifremer

**le REPHY...**

**Document de procédure de prélèvements mars 2007**

**Mode opératoire de prélèvement d'espèces  
phytoplanctoniques épi-benthiques,  
en vue de leur dénombrement dans le cadre  
d'un réseau de surveillance.**

1. choix du substrat approprié (eau, sédiments, roches, macroalgues, coquillages...)
2. choix des sites
3. stratégie temporelle, conditions météorologiques,...
4. traitement de l'eau, des algues, des sédiments...
5. assurance qualité (documentation...)
6. protection du préleveur

Ifremer

Journées REPHY / Nantes / 1-2 avril 2009

H.Grosseil

**Ostreopsis**

**Expression concomitante d'un besoin...**

- **en connaissances nouvelles**

→ **projet MEDIOS**

.... → **projet Nemos**

- **en expertise pour l'adoption de règles de gestion: demande forte régionale (collectivités, DRASS, Cire-Sud...) et nationale (LNR Phycotoxines, DGS, InVS, DGAL, DPMA, Ifremer...)**

Ifremer

Journées REPHY / Nantes / 1-2 avril 2009

H.Grosseil

## Ostreopsis

**Mais aussi, expression d'un besoin...  
de règles de gestion concertées et  
cohérentes au niveau international**

**→ élaboration d'un modèle de  
gestion agréé par l'ensemble des pays  
riverains méditerranéens**

**= projet Interreg MED NEMOS  
(soumis à l'appel à projet)**

Ifremer

Journées REPHY / Nantes / 1-2 avril 2009

H.Grossel

Rappels...

**Bilan de la surveillance Ostreopsis 2008  
Projets de recherche et perspectives 2009**

**Marseille le vendredi 19 septembre 2008**

**Organisation conjointe**



**Mairie de Marseille**



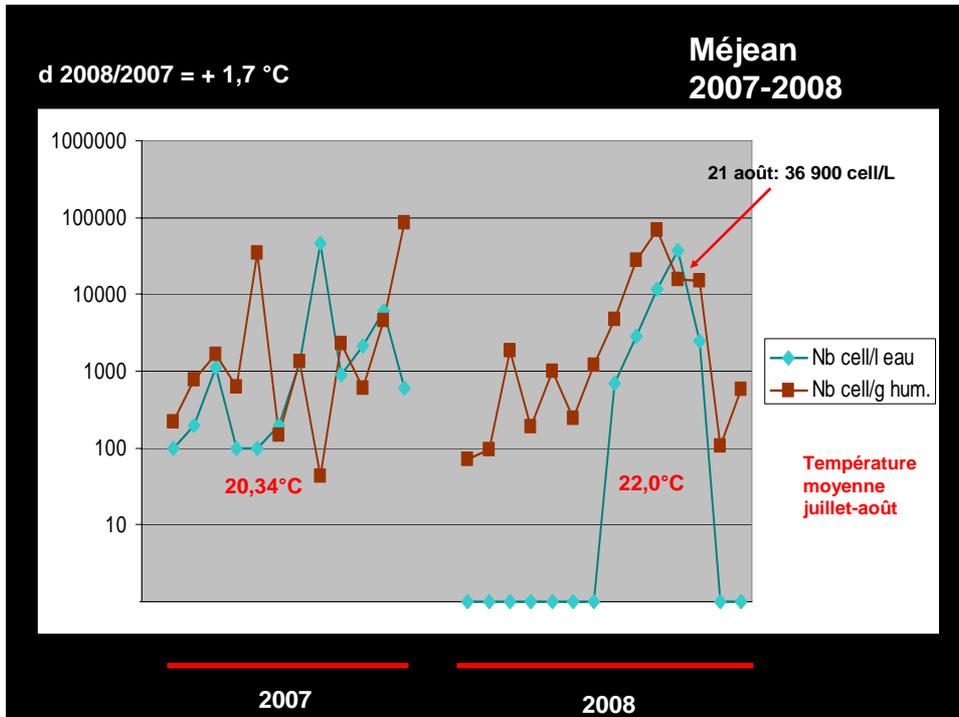
**Liberté • Égalité • Fraternité  
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE**

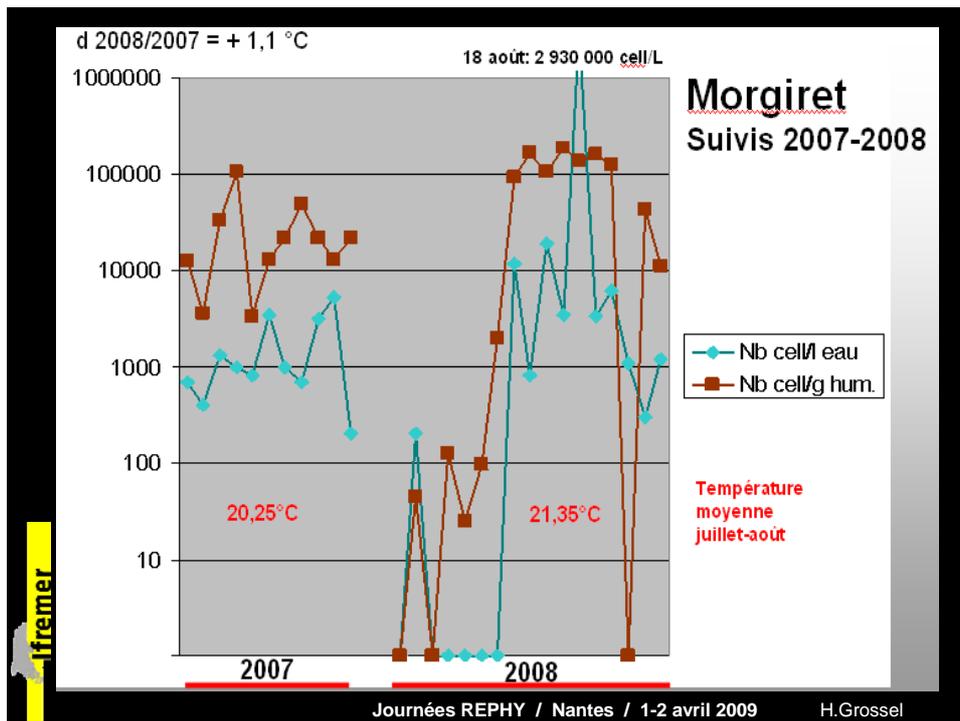


**INVS  
INSTITUT  
DE VEILLE SANITAIRE**

**Drass Paca- CIRE Sud**

Ifremer



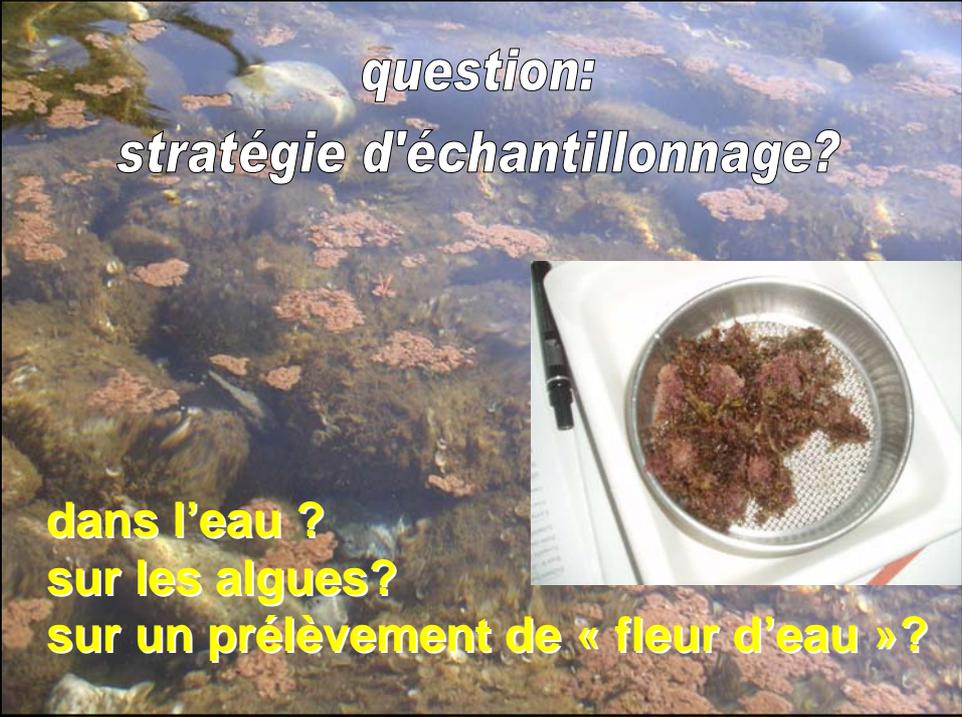




**Oursins prélevés le 20 août au Morgiret:  
analyse chimique des toxines  
sur chair totale hors gonades  
et sur gonade  
Concentration en toxines  
significative.**

**Ifremer**

Journées REPHY / Nantes / 1-2 avril 2009 H.Grosseil



*question:  
stratégie d'échantillonnage?*

**dans l'eau ?  
sur les algues ?  
sur un prélèvement de « fleur d'eau » ?**

**15h30 TABLE RONDE (1h15) :** Préparation de la surveillance 2009 : Faisabilité d'une extension de la surveillance de l'eau et des produits de la mer. Propositions pour une évolution du cadre réglementaire. (Afssa, Ifremer, Dgs, InVS, Dgal, Agence de l'eau, DRSV paca, DRAM, Observatoire d'Océanologie de Villefranche/mer, Cire sud, Ddass13, Mairie de Marseille, CAP).

- Stratégie de surveillance
  - Différents niveaux
    - Observations visuelles (efflorescences, écume,...)
    - Détection cas humains suspects (CAP)
    - Détection test rapide eau, surface, algues ?
    - Dénombrements eau, surface et algues ?
    - Prélèvements biologiques (oursins, moules...)
  - Choix des points de surveillance :
    - 3 Régions ?
    - Nombre de points par département ?
    - Secteurs de prédilection ?

Journées REPHY / Nantes / 1-2 avril 2009

H.Grossel

- Aspects logistiques :
  - Prélèvements : qui ?
  - Tests rapides : lesquels, qui ?
  - Dénombrements : qui ?
  - Formation : par et pour qui ?
- Lien avec la décision, la communication et la gestion :
  - Diffusion des résultats (liste de diffusion à établir) : qui ?.
  - Les seuils de pré alerte et d'alerte : évolution ?
  - Cellule d'aide à la décision (CAD), évolution ?
  - - Plaquettes et affiches d'information : qui ?.
- Evolution du cadre réglementaire ? Financements ?

Journées REPHY / Nantes / 1-2 avril 2009

H.Grossel

## Distinction de l'évaluation des risques encourus

1. Pour la baignade (risques cutanés) et la fréquentation du littoral (risque aérosols)
2. Pour la consommation des denrées marines (coquillages, oursins, crustacés, violets, poissons...)

Distinction, en terme de gestion du risque, entre les activités professionnelles et les activités récréatives

Ifremer

Journées REPHY / Nantes / 1-2 avril 2009

H.Grossel

Baignade...

*rappel: baignade = hors compétence Ifremer*

Pour la baignade, nécessité exprimée par les partenaires en charge de la santé d'élaborer et de mettre en œuvre un dispositif efficace et pragmatique pour une surveillance élargie

Démultiplication des stations d'observation:  
on a cité 700 lieux de baignade déjà surveillés en Région PACA (pour la surveillance 'classique'): combien de centaines de plages à surveiller pour *Ostreopsis* ?

Nécessité d'analyses rapides,

Action Ifremer pour DGS (printemps 2009): expertise de validation d'une méthode rapide de comptage d'*Ostreopsis* par cellules de Sedgewick-Rafter. Transfert de la méthode aux laboratoires d'analyse en charge des eaux de baignade.

Ifremer

Journées REPHY / Nantes / 1-2 avril 2009

H.Grossel

Baignade...

rappel: baignade = hors compétence Ifremer

### Action Ifremer pour DGS (printemps 2009)

expertise de validation d'une méthode rapide de comptage d'Ostreopsis par cellules de Sedgewick-Rafter (objectif: transfert de la méthode aux laboratoires d'analyse en charge des eaux de baignade).

En saison: sur demande du laboratoire d'analyse: validation par Ifremer de l'identification taxinomique réalisée, par envoi internet de clichés numériques.

Ifremer

Journées REPHY / Nantes / 1-2 avril 2009

H.Grossel

lame de SEDGEWICK-RAFTER					
nb d'Ostreopsis observés	% confiance	cell d'Ost./l	min cell/l	max cell/l	
1	200	1 000	1	3 000	
2	141	2 000	2	4 828	
3	115	3 000	3	6 464	
4	100	4 000	4	8 000	4000 = seuil de pré-alerte actuel
5	89	5 000	528	9 472	
6	82	6 000	1 101	10 899	
7	76	7 000	1 708	12 292	
8	71	8 000	2 343	13 657	
9	67	9 000	3 000	15 000	
10	63	10 000	3 675	16 325	
15	52	15 000	7 254	22 746	
20	45	20 000	11 056	28 944	
25	40	25 000	15 000	35 000	
30	37	30 000	19 046	40 954	30000 = seuil d'alerte actuel
40	32	40 000	27 351	52 649	
50	28	50 000	35 858	64 142	
60	26	60 000	44 508	75 492	
70	24	70 000	53 267	86 733	
80	22	80 000	62 111	97 889	
90	21	90 000	71 026	108 974	
100	20	100 000	80 000	120 000	
150	16	150 000	125 505	174 495	
200	14	200 000	171 716	228 284	
300	12	300 000	265 359	334 641	
400	10	400 000	360 000	440 000	
500	9	500 000	455 279	544 721	
1000	6	1 000 000	936 754	1 063 246	



Ifremer

Journées REPHY / Nantes / 1-2 avril 2009

H.Grossel

## Entre MEDIOS et NEMOS:

Stage Master 2 (Julien Sgheiz au LER-PAC)  
mars-août 2009

Caractérisation environnementale des blooms  
d'*Ostreopsis* :

Analyse des évènements récents et mise en  
parallèle des conditions météorologiques sur  
site (météo, images satellitaires, modélisation  
hydrodynamique, ...)

Ifremer

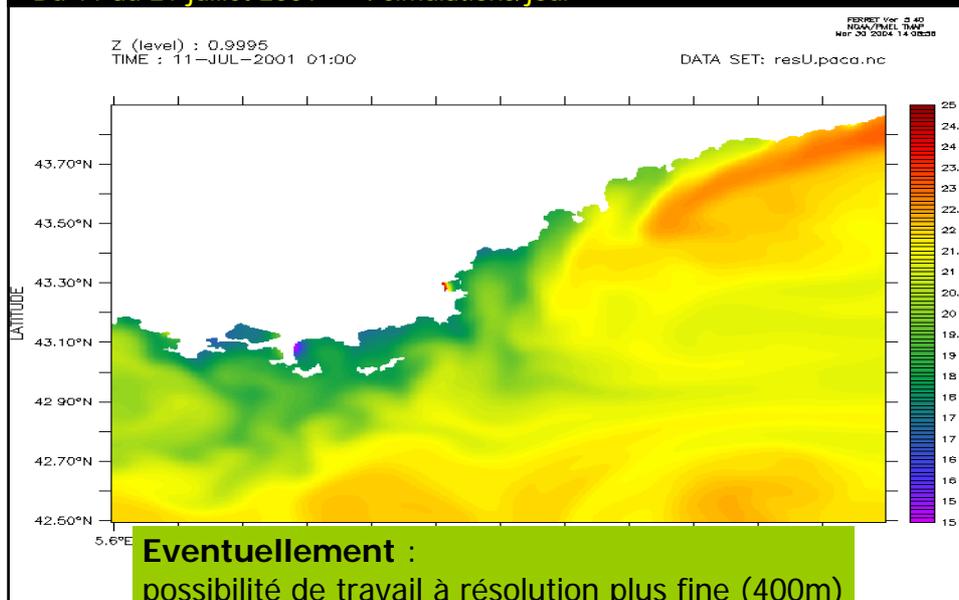
Journées REPHY / Nantes / 1-2 avril 2009

H.Grosseil

## Modèle Hydrodynamique : température surface / fond

Sorties de modèle MARS / Ifremer

Du 11 au 21 juillet 2001 4 simulations/jour



## **NEMOS** (projet candidat au programme MED)

- **Pilotage Région Ligure**
- **Italie, France, Slovénie, Grèce, Chypre, Espagne**
- **Pour la France: CCI de Nice pour la partie impacts socio-économiques,**  
**Ifremer (+ collaboration Observatoire de Villefranche sur mer) pour la partie gouvernance, impacts environnementaux, relations avec l'évolution globale du milieu (réchauffement climatique), stratégie de suivi.**

Ifremer

Journées REPHY / Nantes / 1-2 avril 2009

H.Grossel

## **NEMOS** (projet candidat au programme MED)

- **Collaboration scientifique sur les stratégies de suivi, sur l'amélioration des méthodes de culture, sur l'évaluation des preferendum thermiques, sur l'adoption de seuils pour la gestion...**
- **Collaborations pour la gouvernance: validation des modèles de gestions avec les services de la santé compétents au niveau national, régional, les collectivités, les autres parties prenantes...**

Ifremer

Journées REPHY / Nantes / 1-2 avril 2009

H.Grossel

**Hubert Grossel**, Ifremer Toulon & Zouher Amzil, Ifremer Nantes

Problématique Ostreopsis en Méditerranée : surveillance, recherche et perspectives

