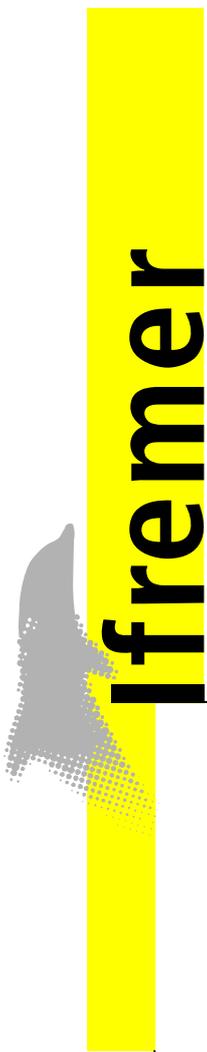


Centre de Nantes
Programme Surveillance et Evaluation de l'Etat des Eaux Littorales

mars 2006



Ifremer

Journées REPHY 2006

Nantes, 7 & 8 mars 2006

Compilation des interventions

Fiche documentaire

Titre du rapport : Journées REPHY 2006 – Nantes, 7 et 8 mars 2006 – Compilation des interventions.	
Référence interne : R.Ifremer/2006	Date de publication : mars 2006
Diffusion : <input checked="" type="checkbox"/> libre (internet) <input type="checkbox"/> restreinte (intranet) – date de levée d'embargo : AAA/MM/JJ <input type="checkbox"/> interdite (confidentielle) – date de levée de confidentialité : AAA/MM/JJ	Version : Référence de l'illustration de couverture / Langue(s) : français
Résumé/ Abstract : Les journées REPHY 2006 ont rassemblé les 7 et 8 mars à Ifremer Nantes, les intervenants REPHY des laboratoires côtiers Ifremer, et les partenaires de l'Ifremer concernés par la surveillance du phytoplancton et des phycotoxines : directions des ministères, Afssa, administrations régionales, professionnels de la conchyliculture et de la pêche. Les interventions concernent les différentes thématiques intéressant le REPHY, dont les aspects sanitaires liés à la présence de toxines dans les coquillages, l'avancement des projets de recherche, les aspects patrimoniaux et la mise en place de la Directive européenne Cadre sur l'Eau, les nouveaux outils dont la surveillance pourrait disposer dans un futur proche.	
Comment citer ce document : Ifremer (2006). Journées REPHY 2006 – Nantes, 7 et 8 mars 2006 – Compilation des interventions.	

J o u r n é e s R E P H Y

7 mars après-midi et 8 mars 2006

Centre Ifremer de Nantes

Introduction

Benoit Beliaeff, Ifremer Nantes

Session sanitaire

Recommandations de l'OAV suite à l'inspection communautaire réalisée en France en 2004 (secteur phycotoxines)

Djahne Montabord, DPMA Paris

Perspectives d'évolution du dispositif national de surveillance des phycotoxines au regard de l'évolution des méthodes d'analyse et des travaux actuels menés au niveau international et européen

Virginie Hossen, LNR / Afssa, Maisons Alfort

Surveillance des phycotoxines : bilan national REPHY 2004 – 2005 et perspectives

Catherine Belin, Ifremer Nantes

Bilan du Plan de Surveillance phycotoxines de la DGAL et perspectives

Olivier Cunin, DGAL Paris

L'épisode de toxicité DSP dans le bassin d'Arcachon en 2005

Jean Paul Dréno, Ifremer Arcachon

Points critiques de l'épisode DSP à Arcachon en 2005, et facteurs d'amélioration

Sophie Krys, LNR / Afssa, Maisons Alfort

Episodes toxiques ASP et DSP dans les coquilles Saint-Jacques de la baie de Seine en 2004 et 2005

Ronan Le Goff, Ifremer Port-en-Bessin, et Zouher Amzil, Ifremer Nantes

Toxines ASP en Bretagne et Pays de la Loire

Dominique Le Gal et Elisabeth Nézan, Ifremer Concarneau

Pseudo-nitzschia et toxines ASP : quelques réflexions

Benoit Beliaeff, Ifremer Nantes

L'épisode à *Ostreopsis* en Italie (été 2005) et risques liés à la palytoxine

Hubert Grossel, Ifremer Nantes, Sophie Trotureau, LNR / Afssa, Maisons Alfort, et Françoise Marco-Mirallès, Ifremer Toulon

Session recherche

La conchyliculture et le risque phycotoxinique. Projet COSTE
Sébastien Chantereau, CNC Paris

GET (Comprendre et Gérer les Efflorescences Toxiques) : une initiative transversale
Patrick Gentien, Ifremer Brest

La détoxification PSP : mythe ou réalité ? Projet européen SHELLFISH
Patrick Lassus, Ifremer Nantes

La détoxification DSP dans les moules : effet de la nourriture. Projet européen BIOTOX
Claire Marcaillou, Ifremer Nantes

Biocapteurs de détection d'algues toxiques en milieu marin. Programme ANR « HAB-SEACHIP »
Chantal Compère, Ifremer Brest

Définition d'indicateurs environnementaux liés au risque d'apparition d'algues toxiques à partir de données *in situ* et de modèles. Application aux blooms d'*Alexandrium* (et *Pseudo-nitzschia*). Projet FINAL Interreg NW
Annie Chapelle, Ifremer Brest

Session aspects patrimoniaux et DCE

Historique de la surveillance phytoplanctonique
Hubert Gossel, Ifremer Nantes

Indicateurs phytoplancton proposés pour le contrôle de surveillance dans le cadre de la DCE
Anne Grouhel, Ifremer Nantes

Implications du REPHY dans la mise en œuvre de la DCE. Vision nationale
Catherine Belin, Ifremer Nantes

Mise en œuvre de la DCE en Loire-Bretagne
Hélène Oger-Jeanneret, Ifremer Nantes

Mise en œuvre de la DCE en Méditerranée, cas des lagunes
Thierry Laugier, Ifremer Sète

Evolution du suivi hydrologique dans le cadre de la mise en œuvre de la DCE
Anne Daniel, Ifremer Brest

Utilisation de l'imagerie satellitaire pour la surveillance de la chlorophylle et du phytoplancton
Francis Gohin, Ifremer Brest

Détection automatique du phytoplancton par analyse d'image. Logiciel PhytoImage
Benoit Beliaeff, Ifremer Nantes

La bancarisation des données (Quadrigé²) et Milliquali (présentation synthétique des indicateurs environnementaux)
Antoine Hugué et Alain Le Magueresse, Ifremer Nantes



Pseudo-nitzschia australis

Bienvenue !

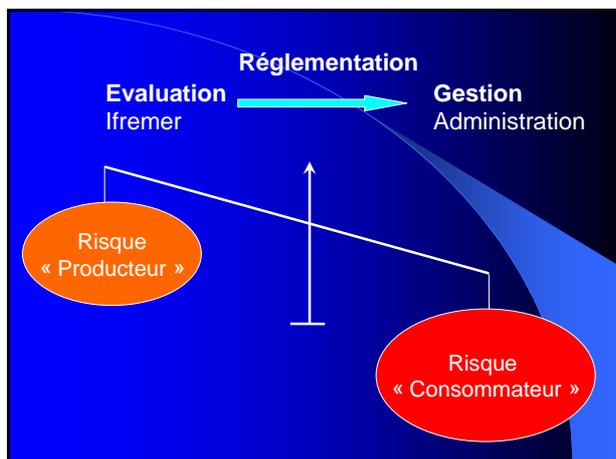
Journées REPHY 2006
Nantes, 7-9 mars



Photo : G. Rocher

Dynamiques

- Evolutions réglementaires
 - Risque sanitaire (toxicologie, épidémiologie,...)
 - Progrès méthodologiques (analyse chimique)
 - Evénements toxiques
- 2005
 - Fin ASP Baie de Seine (CSJ)
 - DSP + Spirolide Arcachon (huîtres)
 - ASP Baie de Quiberon (CSJ)
 - DSP Baie de Seine (CSJ) & Leucate (moules)

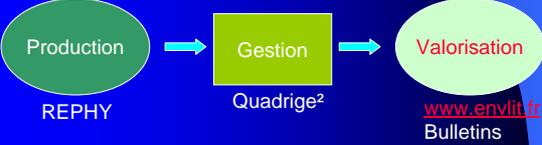


Réactions

- Mobilisation de la profession → Comité d'Orientation, Scientifique et Technique, et d'Evaluation (COSTE)
- Initiative Ifremer → GET
 - Technologies
 - Recherche (écologie, analyse rétrospectives,...)
 - → Lien avec la surveillance

Rephy & Surveillance

- Directive Européenne Cadre sur l'Eau → renforcement de l'objectif « patrimonial » (biodiversité, indicateurs de qualité du milieu)
- Fluidité du flux de données



Production REPHY → Gestion Quadrige² → Valorisation www.envlitt.fr Bulletins

Bonnes journées REPHY 2006 !

Session sanitaire

Recommandations de l'OAV suite à l'inspection réalisée en France en 2004
(secteur phycotoxines)

Djahne MONTABORD DPMA - Conseiller vétérinaire

Plan

- I. Les inspections communautaires
- II. Historique des inspections en France dans le domaine des Mollusques Bivalves Vivants
- III. Recommandations de l'OAV
- IV. Suites de l'OAV : profils pays

I. Les inspections communautaires

Règlement (CE) n° 882/2004 – article 45
Contrôle communautaires dans les États membres :

- ✓ Audits généraux
- ✓ Inspections spécifiques

* Fonctionnement et organisation des autorités compétentes

Inspections générales et spécifiques → Rapport : Constats recommandations → Mesures de suivi prises par l'EM
Accessible au public

II. Historique des inspections en France dans le secteur MBV

Inspection en 2001 dans le domaine PP et MBV

↓

- ✓ **Recommandations** de l'OAV
- ✓ **Plan d'action** des autorités françaises, avec demande d'un **plan d'avancement semestriel**

↓

3 – 14 mai 2004 : **mission de suivi de l'OAV**

- ✓ évaluer la **mise en place des actions correctives**
- ✓ centrée sur les **défaillances mises en évidence**
- ✓ **visites** des administrations, établissements et navires

III. Recommandations de l'OAV

Rapport DG(SANCO)/7023/2004
(accessible sur le site de la Commission
http://europa.eu.int/comm/food/ivoir_search_en.cfm)

Conclusions de l'inspection de 2004 :

- Fonctionnement du système de contrôle des PP/MBV par l'AC (point 5.1)
- Mollusques bivalves (point 5.2)

III. Recommandations de l'OAV

Recommandations - Mollusques bivalves (point 5.2)

➤ Mettre le système de surveillance des biotoxines en conformité avec les exigences de la directive

- ✓ Dir 91/492 : Plans d'échantillonnage selon variations possibles
 - zones à risque
 - périodes à risque : selon survenue de toxicité sur 6 années
 - adaptation des plans d'échantillonnage

III. Recommandations de l'OAV

Recommandations - Mollusques bivalves (point 5.2)

- Mettre le système de surveillance des biotoxines en conformité avec les exigences de la directive
 - ✓ Dir 91/492 : Suspicion d'accumulation de toxine (sur la base des analyses plancton) doit entraîner un échantillonnage intensif
 - augmentation nb points prélèvement (plancton)
 - tests toxicité sur mollusques

III. Recommandations de l'OAV

Recommandations - Mollusques bivalves (point 5.2)

- Faire une surveillance plus représentative des biotoxines
 - ✓ Recherche 3 familles toxines gisements CSJ
 - ✓ Moules = sentinelles DSP
 - ✓ DSP Huîtres : 6 points
 - hebdomadaire (période à risque)
 - mensuel (hors période)

III. Recommandations de l'OAV

Recommandations - Mollusques bivalves (point 5.2)

- Revoir la procédure de fermeture de zones de production conformément aux dispositions de la décision 2002/225
 - ✓ Gestion de zone sur base de la méthode de référence
 - ✓ Objectifs des tests chimiques :
 - données sur la cohérence biologie / chimie
 - information complémentaire (cinétique de contamination/ décontamination)

III. Recommandations de l'OAV

Recommandations - Mollusques bivalves (point 5.2)

- Revoir la procédure de fermeture de zones de production conformément aux dispositions de la décision 2002/225
 - ✓ Eviter la confusion :
 - tests chimiques de confirmation
 - échantillon adressé pour test chimique



IV. Suites de l'OAV : profils pays

- Etats membres, candidats, pays tiers clé (commerce)
- Contenu
 - description structure
 - description fonctionnement système national
 - synthèse des recommandations
 - suivi régulier et réexamen questions en suspens
 - nb inspections
 - nb non conformités
 - données économiques (production - échanges)

IV. Suites de l'OAV : profils pays

- Avantages
 - Approche horizontale (vue d'ensemble des EM)
 - Suivi dynamique des progrès
 - Gain d'efficacité (évitte de reposer des questions déjà abordées)
- Revue générale (general review)

**IV. Suites de l'OAV :
profils pays**

Revue générale - General review

- **Second semestre 2006**
- **Méthode :**
 - rapports sectoriels
 - recommandations en suspens
 - justifications documentaires
 - validation avec autorités (pas terrain)
- **Conséquences : publication profil pays (internet)**



Recommandations de l'OAV suite à l'inspection réalisée en France en 2004 (secteur phycotoxines)



Djahne MONTABORD

DPMA - Conseiller vétérinaire

Perspectives d'évolution du dispositif national de surveillance des phycotoxines

au regard de l'évolution des méthodes d'analyse et des travaux actuels menés au niveau international et européen



Virginie Hossen
AFSSA - LNR Biotoxines Marines
v.hossen@afssa.fr

Journées REPHY 7-8 mars 2006

Plan

- Projets de révision *ou mise en place* des seuils réglementaires

Présentation des travaux menés actuellement au niveau international par le CODEX et européen par le LCR

- Perspectives d'évolution des méthodes d'analyse

au regard des travaux internationaux et européens

Journées REPHY 7-8 mars 2006

Projets de révision *ou mise en place* des seuils réglementaires

Présentation des travaux menés actuellement au niveau international par le CODEX et Européen par le LCR

Journées REPHY 7-8 mars 2006

Travaux internationaux (CODEX)

- 2002 : 25^{ème} session du CCFFP - demande à la FAO et l'OMS :

- avis scientifiques sur les biotoxines
- présentation travaux sur l'Avant-projet de norme pour les mollusques bivalves vivants et « transformés »

- 2003 : 26^{ème} session - CCFFP a demandé :

- avis scientifiques pour établir teneurs maximales de toxines dans les mollusques
- recommandations sur les méthodes d'analyse
- indications sur la surveillance du phytoplancton et des mollusques bivalves
- données sur la répartition géographique du phytoplancton

- 2004 : consultation d'experts mixte FAO/OMS/COI sur les biotoxines

Journées REPHY 7-8 mars 2006

Conclusions du rapport de la consultation d'experts FAO/OMS/COI

- Évaluation des risques réalisée par toxine :
 - Groupe des toxines lipophiles : AZA, AO (et DTXs), PTX, YTX
 - Groupe des STX : STX et ses congénères
 - Acide domoïque
 - Groupe des Imines cycliques (incluant les spirolides et les gymnodimines)
 - Brevétoxines

→ DRA provisoire (lorsque données dispo. suffisantes)

→ Prise en compte des données de consommation

→ Attribution d'un seuil de salubrité pour chaque toxine possédant une DRA :

AZA, AO + DTXs, YTX, STX, AD

Journées REPHY 7-8 mars 2006

- 2005 : 27^{ème} session du CCFFP

Problème rencontré : les seuils de salubrité proposés par la consultation d'experts ont montré de grandes différences avec les limites réglementaires en vigueur dans certains pays (notamment l'UE) pour certaines toxines (→ limites plus sévères)

D'où – Approbation de la création d'un groupe de travail présidé par le Canada

Objectifs : Examiner les avis issus de la consultation d'experts FAO/OMS/COI et préparer un document de travail à l'intention du CCFFP

- 10 - 13 avril 2006 : Réunion du groupe de travail
Participation du LNR en tant qu'AST à la DPMA
(représentante Française au CODEX)

Journées REPHY 7-8 mars 2006

Travaux européens (LCR)

GT toxicologie organisé par le LCR les 24-26 octobre 2005

Objectif des experts toxicologues internationaux :

Réaliser une évaluation des risques fondée sur une approche différente (D₁, exposition conso./voie d'administration...) afin d'établir de **nouvelles limites de salubrité par famille de toxines lipophiles**

(AO, PTX, YTX, AZA, GYM, SPX, palytoxine, ostréocine, ciguatoxine)

Les CCL de ce GT vont servir de base pour une position Européenne commune lors de la réunion du GT CODEX d'avril 2006

Journées REPHY 7-8 mars 2006

Perspectives d'évolution des méthodes d'analyse au regard des travaux internationaux et européens

Conséquences sur le dispositif Français de surveillance des phycotoxines

Journées REPHY 7-8 mars 2006

Travaux internationaux sur les méthodes

La consultation d'experts mixte FAO/OMS/COI du CODEX sur les biotoxines a proposé un seuil de salubrité pour chaque toxine possédant une DRA.

Conséquences sur les méthodes :

- Chaque toxine doit être analysée par une méthode qui lui est propre
- Le bioessai sur souris (résultat en équivalent AO) pour les toxines lipophiles n'est pas adapté à l'analyse de chacune des toxines du groupe (AZA, YTX, PTX, AO et DTXs)

Journées REPHY 7-8 mars 2006

La consultation d'experts a émis des **recommandations sur le choix des méthodes de référence** pour les toxines considérées :

- AZA : CL-SM (en soulignant le manque d'étalon certifié)
- AO : CL-SM (car possibilité d'interférences avec le bioessai)
- PTX : CL-SM
- YTX : CL-SM
- STX : CL-fluo (validée par étude inter-labo et approuvée par l'AOAC)
- AD : CL-UV
- Imines cycliques : CL-SM
- Brevetoxines : CL-SM

Il est important de ne pas limiter les méthodes d'analyse (intégration des possibilités d'évolution).

Journées REPHY 7-8 mars 2006

Travaux européens sur les méthodes

Réunion des LCR-LNRs (26 – 28 octobre 2005)

DG SANCO a fixé comme **priorité de remplacer le bioessai sur souris par des méthodes alternatives validées** par une étude inter-laboratoires organisée par le LCR et dont les résultats devront être validés par l'EFSA



Journées REPHY 7-8 mars 2006

Toxines lipophiles

Travaux européens concernant la LC-MS

- Avancées des travaux du GT LC-MS du LCR (24-25 octobre 2005) :

Objectifs : **validation d'une méthode LC-MS harmonisée**

- étape de pré-validation
- 3 étapes principales : raffinement, transfert et performance (essai interlaboratoire en aveugle)

La validation de la méthode portera sur l'ensemble des toxines lipophiles réglementées dans la 2002/225 cad OA, AZA1, PTX2, YTX, spirolide deMeC.

(timing possible : fin 2007)

Journées REPHY 7-8 mars 2006

- Parallèlement : projet Européen BIOTOX (accepté dans le cadre du 6ème PCRD, a débuté le 01/01/05)

- *Development, validation and standardisation of cost-effective assays for lipophilic marine biotoxins*
- *Development, validation and standardisation of reference methods (LC-MS) for lipophilic marine biotoxins*
- *Feasibility study on the production of CRMs*
- *Early warning system based on gene expression and/or passive sampling*
- *Improvement of decontamination techniques and traceability systems*
- *Report on the harmonisation of monitoring, control and handling of contaminated shellfish*
- *Workshop and training: newsletters, website and scientific publications*

Journées REPHY 7-8 mars 2006

Le projet BIOTOX s'est d'abord intercalé dans les travaux du LCR

Le LCR et BIOTOX se sont rapprochés : les 2 méthodes développées sont très peu différentes et les travaux sont devenus complémentaires (matrice/toxine...)

Le LNR Français a été sollicité pour participer à la validation de la méthode LC MS/MS développée dans le cadre de BIOTOX

Objectif final : Normalisation de la méthode

Les 2 études de validation (LCR et BIOTOX) vont être présentées au CEN pour constituer un dossier unique

→ Méthode LC-MS/MS unique normalisée

Journées REPHY 7-8 mars 2006

Qu'en est-il de la possibilité d'utiliser la méthode LC-MS/MS pour le contrôle des coquillages lorsque qu'une validation intra-laboratoire a été faite (cf. conclusion de la réunion des LCR-LNRs 2004) ?

- Note de la SCoFAH (Standing Committee on the Food Chain and Animal Health) du 19/07/05

- Nouvelle discussion lors de la réunion LCR-LNRs de 2005 en raison de l'avancée des travaux de validation :

Certains pays (RU, IRL, PB...) ont insisté pour pouvoir utiliser uniquement la LC/MS

Le LNR Français a proposé une utilisation complémentaire BE/LC-MS avec BE comme référence (éléments supplémentaires d'évaluation du risque & gestion appropriée des zones de production)

Réponse de la Commission : Aucune méthode validée en interne ne sera acceptée (suivi du protocole de validation de la méthode harmonisée LCR)

Proposition de la Commission d'organiser une réunion au sujet des possibilités de réaliser une validation intra laboratoire fondée sur les performances de la méthode pour l'utiliser dans un cadre réglementaire

Journées REPHY 7-8 mars 2006

Travaux de LCR concernant le bioessai

Objectifs : harmoniser la méthode en attendant que la méthode LC-MS harmonisée soit reconnue comme méthode de référence

- Avancées des travaux du GT bioessai toxines lipophiles du LCR (présentés lors de la réunion des 26-28/10/05):

① Proposition d'un nouveau protocole harmonisé (SOP) :

2. Scope and Application

This method is applicable to molluscan shellfish in the live, frozen or processed state. It can be used the whole body or hepatopancreas of molluscan shellfish as analytical sample, considering that:

- For live fresh bivalve molluscs with a large hepatopancreas (i.e. mussels, oysters, scallops, razor clams), the hepatopancreas procedure should be used (Please Refer to Section 8).
- For small bivalve molluscs with a small hepatopancreas (i.e. clams, cockles etc), bivalve molluscs without hepatopancreas, tunicates, echinoderms, marine gastropods, frozen and cooked product, the whole flesh procedure should be used (Please Refer to Section 9).



Journées REPHY 7-8 mars 2006

Suite à la demande du LNR : nouvelle version du SOP pour prendre en considération le cas particulier des CSJ

2. Scope and Application

This method is applicable to molluscan shellfish in the live, frozen or processed state. It can be used the whole body or hepatopancreas of molluscan shellfish as analytical sample, considering that:

- For live fresh bivalve molluscs with a large hepatopancreas, and for which the whole flesh is eaten entirely (i.e. mussels, oysters, razor clams etc), the hepatopancreas procedure should be used (Please Refer to Section 8).
- For small bivalve molluscs with a small hepatopancreas (i.e. clams, cockles etc), bivalve molluscs without hepatopancreas, tunicates, echinoderms, marine gastropods, frozen and cooked product, the whole flesh procedure should be used (Please Refer to Section 9).
- For scallops (entire shellfish or any edible parts placed on the market) the whole flesh procedure should be used (Please Refer to Section 9).

② Études en cours sur l'utilisation de HP/CT et simple/double extraction

Journées REPHY 7-8 mars 2006

Travaux européens concernant le développement de méthodes alternatives pour l'analyse des toxines lipophiles

Fait partie des objectifs du projet BIOTOX

Développement de méthodes alternatives biochimiques pour l'analyse des DSP (AO, DTxs), YTX, PTX et AZA

Chaque kit sera soumis à une validation inter-laboratoires

- Validation d'un ELISA pour YTX :
(3 étapes d'avril 2006 à janvier 2007)

Participation du LNR



- Validation d'une méthode fonctionnelle fondée sur l'interaction directe toxine-récepteur à la PP2a (prévue sept. 2006)

Nécessite un lecteur de plaque à fluorescence

Journées REPHY 7-8 mars 2006

Perspectives d'évolution du dispositif national de surveillance des phycotoxines au regard de l'évolution des méthodes d'analyse et des travaux actuels menés au niveau international et européen

- **Projet Européen ASTOX - Azaspiracid Standards isolation and TOXicology** - (dans le cadre du 6ème PCRD) :

- Evaluate the toxicity of azaspiracids to set safe limits in shellfish
- Understand the mode of action of azaspiracids to develop functional or biochemical assays
- Provide a larger supply of pure compounds + reference materials to validate methods alternative to the bioassay

Journées REPHY 7-8 mars 2006

Toxines paralysantes

Une méthode par CLHP-UV avec dérivation pré-colonne et oxydation au peroxyde et au périodate (Lawrence *et al.*, JAOAC, 2005) a été validée sous l'égide de l'AOAC

→ Normalisation

→ Remplacera le bioessai en tant que méthode de référence

(dans le cadre de la directive 86/609/CEE (art. 7, §2))

Afin de tester la mise en œuvre de cette méthode au sein du réseau européen, une étude inter-laboratoires organisée par le LCR est actuellement en cours.

Une formation technique est également organisée par le LCR.

Journées REPHY 7-8 mars 2006

→ Règlement tel qu'il est discuté à l'heure actuelle :

AMENDMENTS TO REGULATION (EC) No 2074/2005

1. Chapter I of Annex III to Regulation (EC) No 1074/2005 is replaced by the following:

'CHAPTER I PARALYTIC SHELLFISH POISON (PSP) DETECTION METHOD

1. The paralytic shellfish poison (PSP) content of edible parts of molluscs (the whole body or any part edible separately) must be detected in accordance with the so called HPLC Lawrence method as published (AOAC Official Method 2005.06 Paralytic Shellfish Poisoning Toxins in Shellfish) or the biological testing method or any other internationally recognised method.
2. If the results are challenged, the reference method shall be the Lawrence method referred to in point 1.

Méthode de référence en cas de litige : HPLC-UV

Contrôles officiels peuvent être faits par HPLC-UV ou bioessai souris ou toute autre méthode reconnue internationalement

Journées REPHY 7-8 mars 2006



Le JRT for PSP a été validé selon le protocole international IUPAC/AOAC pour être utilisé à des fins de dépistage / screening.

Le LNR Irlandais l'a proposé comme outil de pré-screening négatif pour 2005, c-à-d confirmation par bioessai si résultat du test rapide positif.

La gestion de fermeture-réouverture de zone est alors basée sur les résultats des tests biologiques.

Le LNR va réaliser une étude sur les extraits PSP fournis par IFREMER Sète.

Journées REPHY 7-8 mars 2006

Conclusions et Perspectives

Changements radicaux qui se profilent au regard des travaux menés par les différentes instances

En fonction de l'évolution de la réglementation européenne : comment faudra-t-il organiser le dispositif Français de surveillance pour qu'il soit en accord avec la réglementation tout en étant efficace et avec un coût acceptable ?

- Pourra-t-on envisager un système à double niveau de surveillance ?
- Quel(s) labo(s) prendra en charge les analyses par LC/MS et LC/FD ?

Quelque soit l'évolution du dispositif : décret labo applicable

→ Quelles sont les échéances pour l'accréditation ?

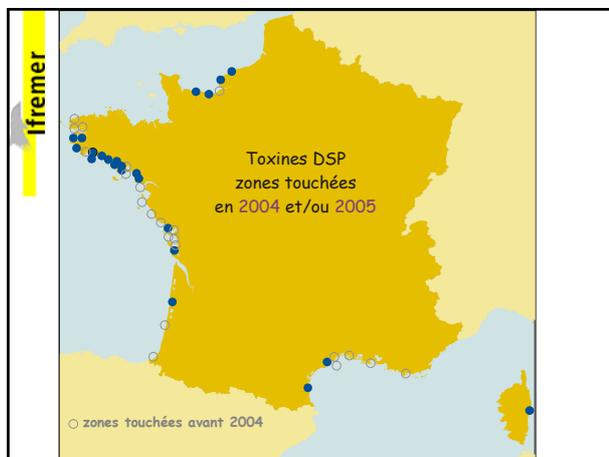
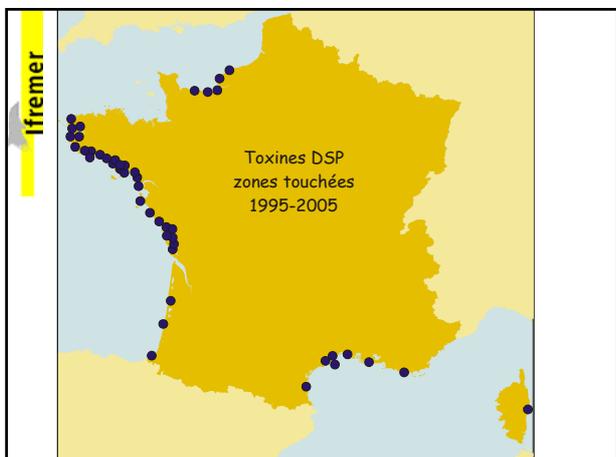
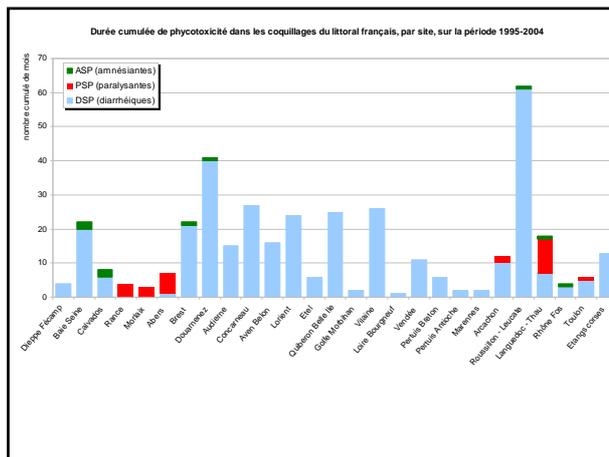
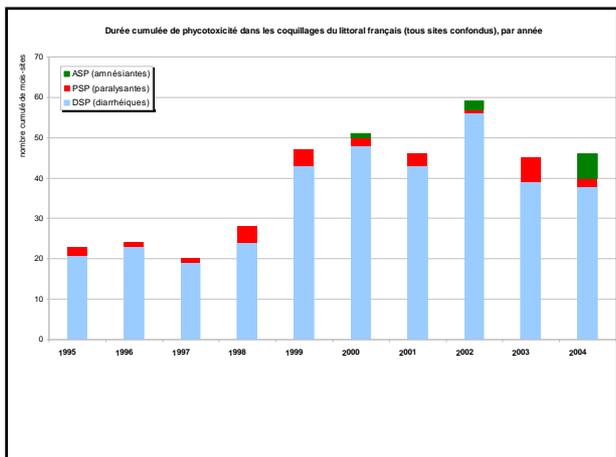
Journées REPHY 7-8 mars 2006

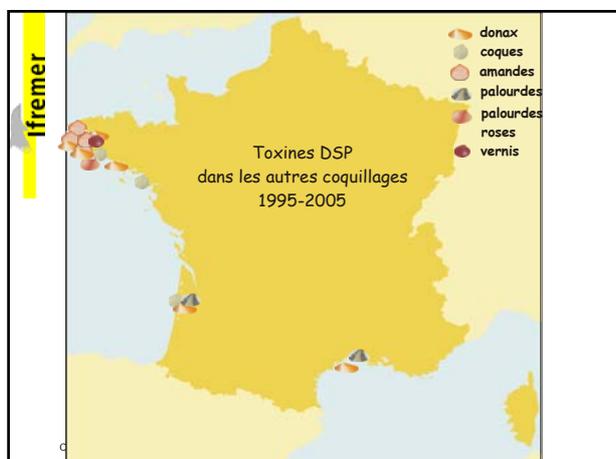
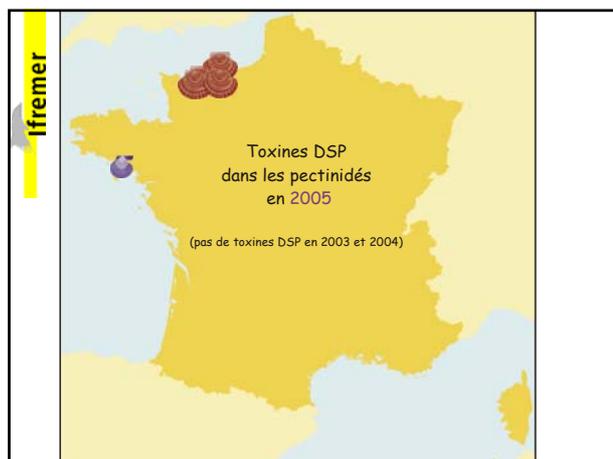
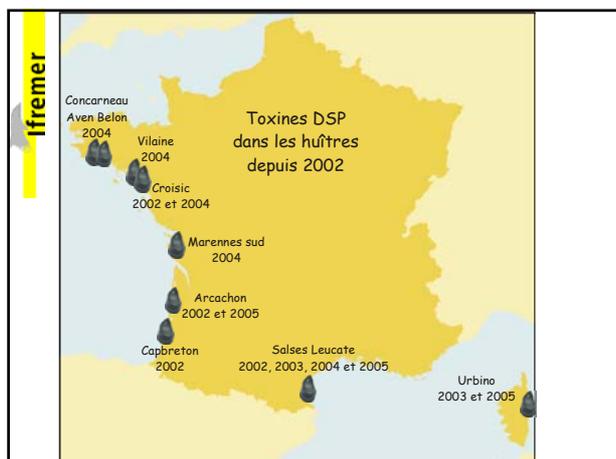
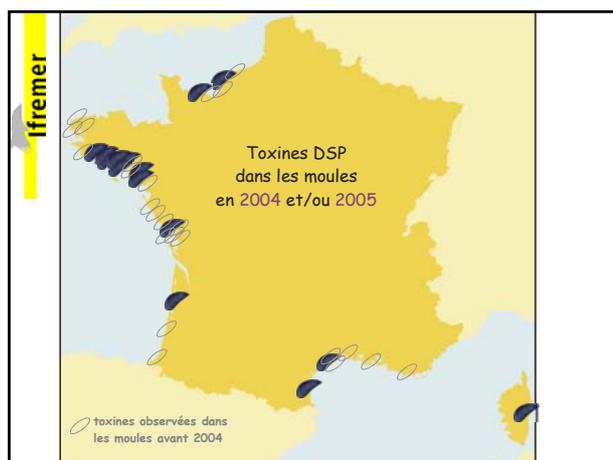
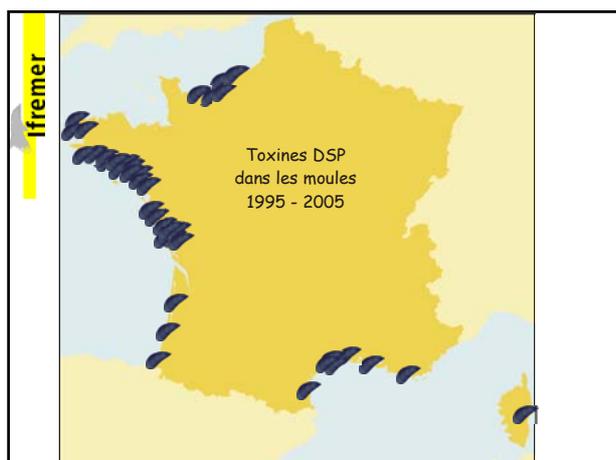
Surveillance des phycotoxines
Résultats du REPHY
Bilan national 2004 - 2005
 Catherine Belin
 coordinatrice nationale du REPHY

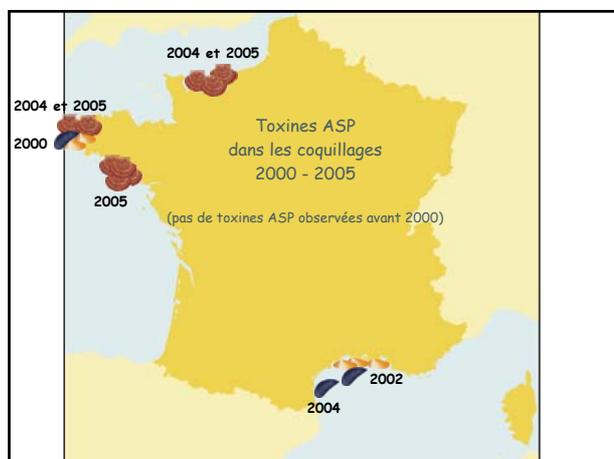
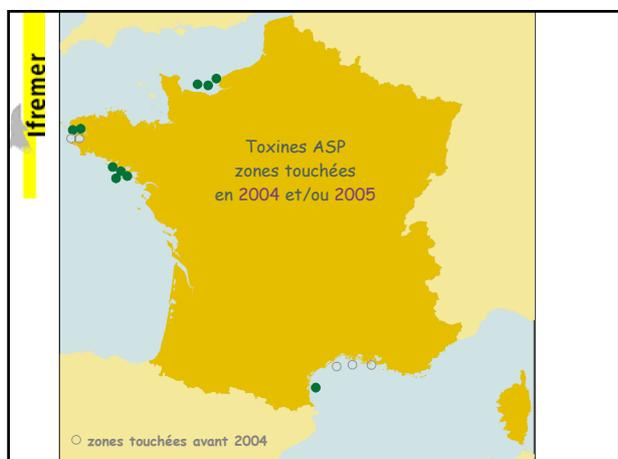
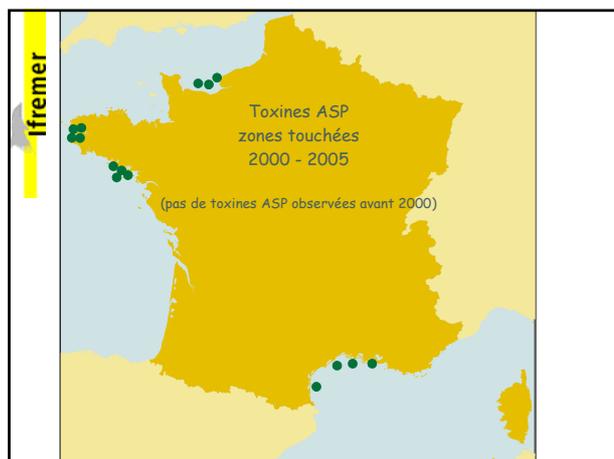
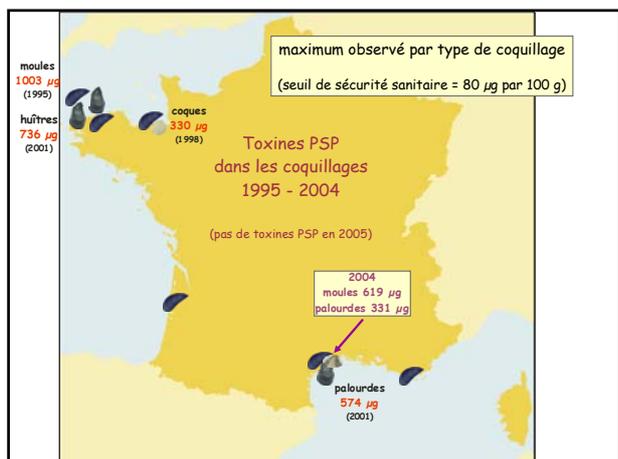
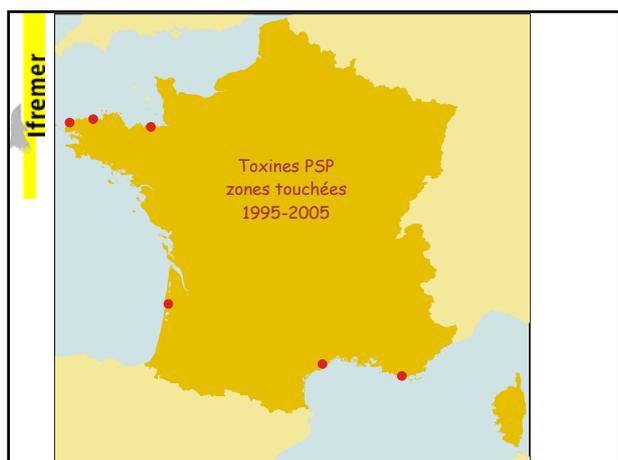
Bilan établi à partir des résultats REPHY et...
... des résultats d'analyses provenant d'autres laboratoires (saisis dans Quadrige)

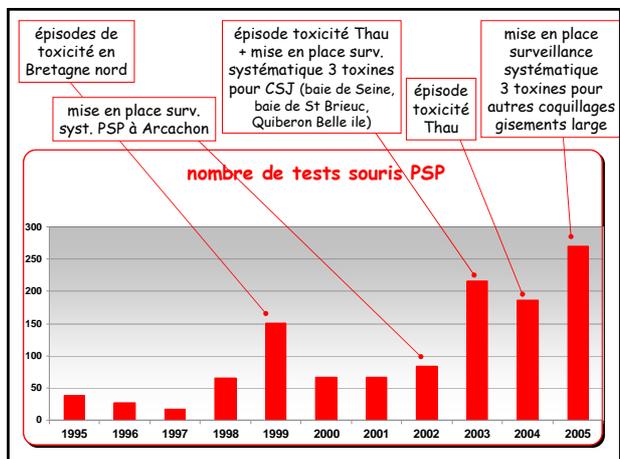
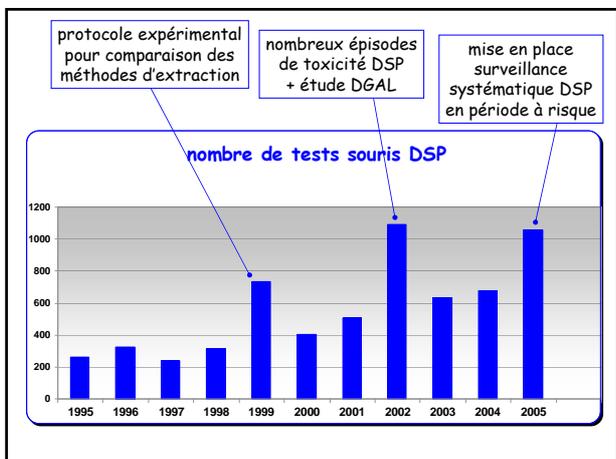
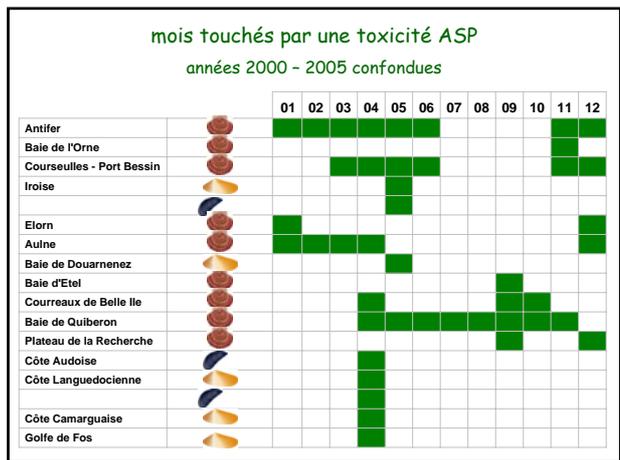
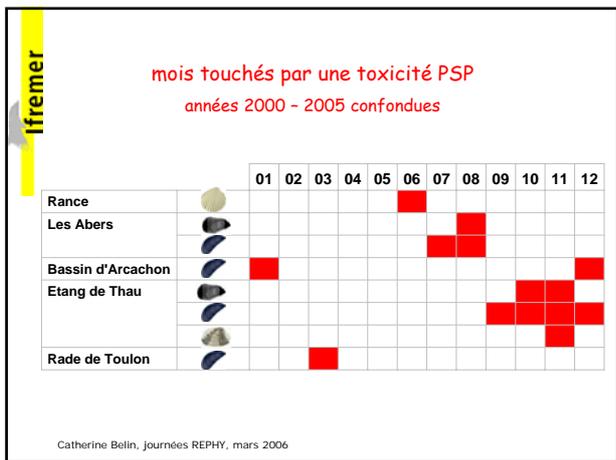
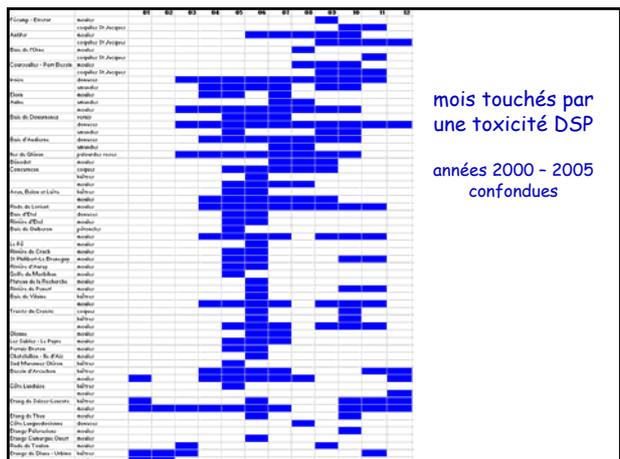
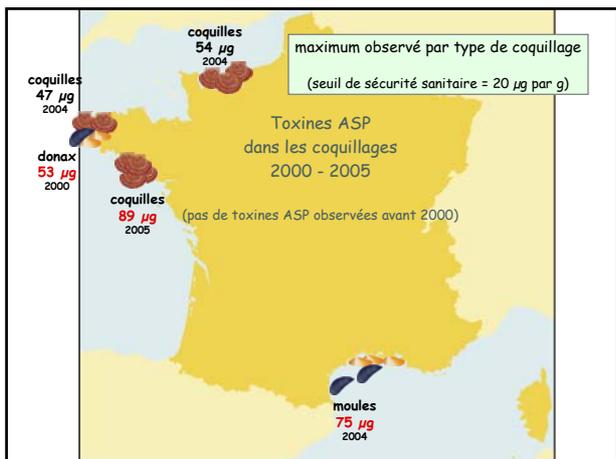
- **LNR / Afssa**
 - moules et huîtres, bassin d'Arcachon
 - ✓ tests souris DSP et analyses ASP, fin à août 2005
- **Laboratoire Municipal Rouen**
 - coquilles St Jacques, Normandie
 - ✓ tests souris DSP et analyses ASP, fin 2004 + 2005
- **Laboratoire Départemental d'Analyses Vendée**
 - huîtres et moules, bassin d'Arcachon, tests souris DSP, mai 2005
 - coquilles St Jacques, Belle île, ASP, octobre 2005
- **IDAC Nantes**
 - coquilles St Jacques, Le Croisic, DSP + PSP + ASP, octobre 2005

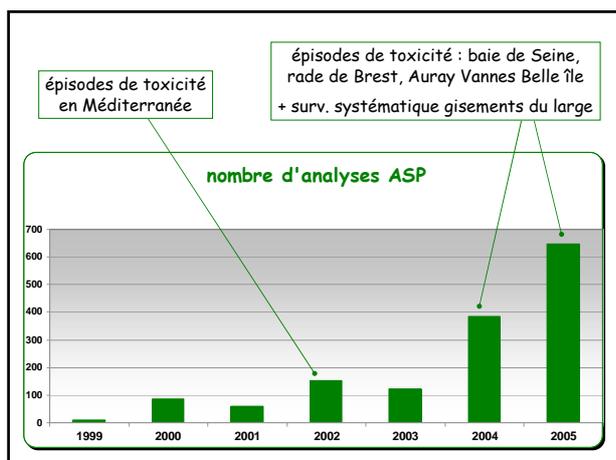
Catherine Belin, Journées REPHY, mars 2006











En conclusion

Principales évolutions de la stratégie REPHY depuis 2000

- 2002 : prise en compte des huîtres dans la surveillance des toxines DSP
- fin 2002 : surveillance systématique des toxines PSP dans le bassin d'Arcachon
- 2003 : mise en place de la surveillance des coquillages de pêche, en particulier les pectinidés des principaux gisements, basée sur une surveillance systématique des trois toxines
- 2004 : extension de cette surveillance systématique à une grande partie des gisements exploités : pectinidés et autres coquillages (amandes, palourdes roses, etc)
- 2005 : mise en place de la surveillance systématique DSP dans les zones à risque en période à risque

Catherine Belin, Journées REPHY, mars 2006

En 2006

toutes ces évolutions sont intégrées dans la surveillance REPHY phycotoxines



stratégie générale :

- gisements et élevages côtiers
 - PSP et ASP : stratégie toujours basée sur indicateur phyto
 - DSP : surveillance systématique toxines DSP dans zones à risque en période à risque
- gisements du large (pectinidés et autres)
 - surveillance systématique trois toxines pendant période de pêche

Catherine Belin, Journées REPHY, mars 2006

Perspectives

- le REPHY continuera à évoluer, en fonction :
 - des événements nouveaux (nouvelles toxines...)
 - des nouvelles connaissances ou des nouvelles techniques
 - des évolutions réglementaires

Catherine Belin, Journées REPHY, mars 2006



Plan de surveillance phycotoxines dans les Coquillages

Journées REPHY 2006

DGAL - S0554 - RQSPMED - 07/03/2006



Plan

- I. Surveillance des coquillages mis sur le marché : stratégie et évolution
- II. Bilan des derniers plans

DGAL - S0554 - RQSPMED - 07/03/2006



I. Stratégie et évolution du PS

Instauré en 1998 et prévu par **exigence communautaire** (règlement (CE) n°854/2004)

- 1. Objectif**
 - évaluer le **taux de conformité des coquillages** au stade de leur mise sur le marché (y compris d'origine non nationale)
 - contribue à évaluer l'exposition des consommateurs
- 2. PS et REPHY**
 - niveau d'intervention et objectifs différents
 - mais nécessaire **complémentarité** dans la réalité (réactivité)
- 3. Évolution**
 - 2005 : meilleure prise en compte des **pectinidés de pêche**, y compris d'origine non nationale
 - 2006 : gestion des **non-conformités** : hors PS

DGAL - S0554 - RQSPMED - 07/03/2006



II. Bilan

1. PS 2004

- 500 analyses demandées par famille de toxines (DSP, PSP, ASP)
- Huîtres, Moules et Coquilles Saint-Jacques

⇒ Faible taux de réalisation (environ **51%**)

⇒ Irlande, Espagne et Italie (15 / 753) : conformes

⇒ Conchyliculture : **100 % de conformité**

⇒ Pectinidés : **1 résultat non conforme sur 239** (rade de Brest : CSJ – ASP ; novembre 2004)

DGAL - S0554 - RQSPMED - 07/03/2006



II. Bilan

2. PS 2005 : résultats partiels (1/2)

- 500 analyses demandées par famille de toxines (DSP, PSP, ASP)
- 200 pour la conchyliculture, 200 pour les pectinidés et 100 pour les coquilles Saint-Jacques d'origine non nationale (3 familles à chaque fois) = **1500 analyses prévues**

⇒ Nette amélioration du taux de réalisation (estimation **90%**, tous contaminants) = environ **1350 analyses réalisées**

DGAL - S0554 - RQSPMED - 07/03/2006



II. Bilan

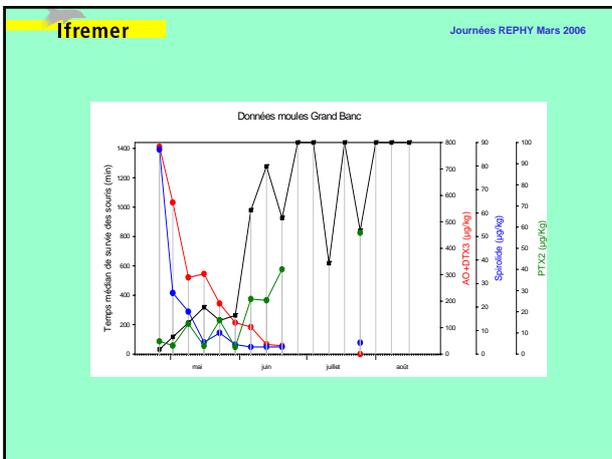
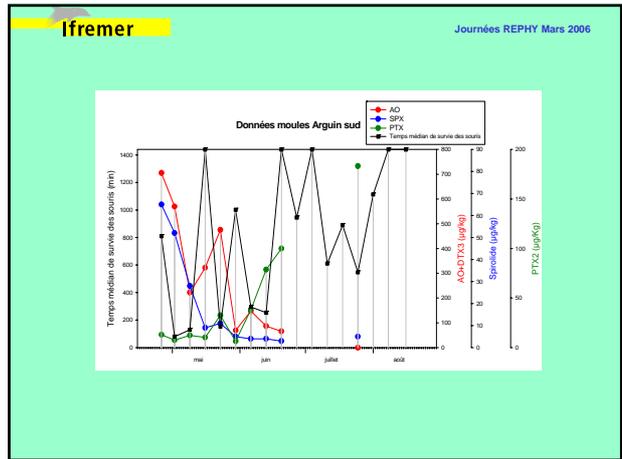
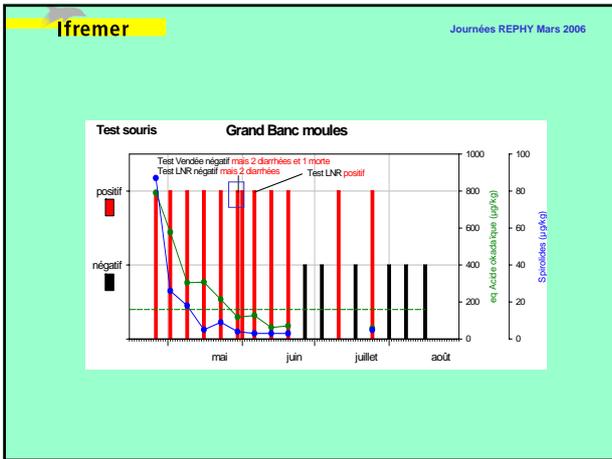
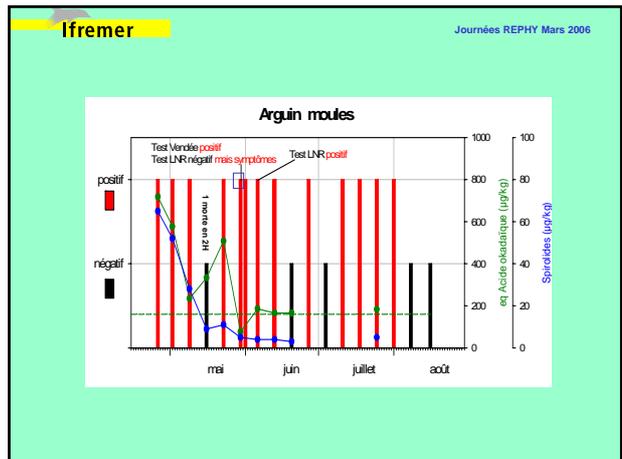
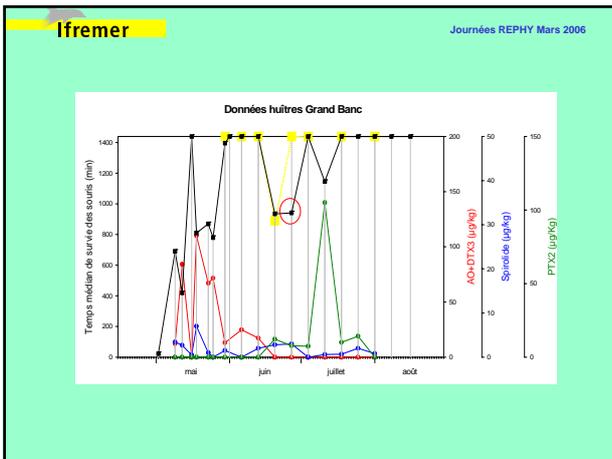
2. PS 2005 : résultats partiels (2/2)

⇒ Sur les résultats reçus (échéance au 01/03/06) : **971 analyses** (15/20 départements)

au 06/03/06	DSP	PSP	ASP	Total
Conchyliculture	132	130	131	393
Pêche	90	88	91	269
CSJ autre origine	69	69	69	207
Total	291	287	291	971

⇒ DSP : **10 résultats non conformes** en première intention dont **un seul confirmé** par le LNR

DGAL - S0554 - RQSPMED - 07/03/2006



Ifremer Journées REPHY Mars 2006

Questions

Quelle est la toxicité des spiroïdes pour l'Homme

En l'absence de réponse à court terme, quelle attitude en cas de renouvellement du problème ?

Ifremer Journées REPHY Mars 2006

Questions



Quelles sont les causes de la divergence des résultats des tests-souris ?
Y a-t-il un effet du délai avant écoquillage ?



Ifremer Journées REPHY Mars 2006

Questions



La « non-concordance » entre chimie et test-souris est-elle :

- inhérente au test souris ?
- particulière aux huîtres ?
- liée à une toxine non identifiée ?





Points critiques de l'épisode Et facteurs d'amélioration

- * Facteurs méthodologiques
- * Facteurs organisationnels
- * Facteurs environnementaux

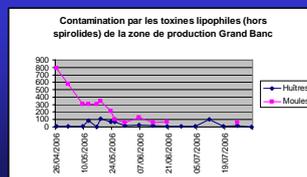
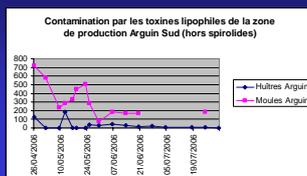


Une succession de toxines

- * Période hivernale : pas de phycotoxines paralysantes
- * Semaine 13 : bloom de *Pseudo-nitzschia*
Contamination Par l'acide domoïque
- * Semaine 17 : blooms de *Dinophysis* et d'*Alexandrium ostenfeldii*
Contamination Par l'AO/DTX3
Par les Spirolides
- * Semaine 28 : blooms de *Dinophysis fortii*
Contamination Par les PTX2s

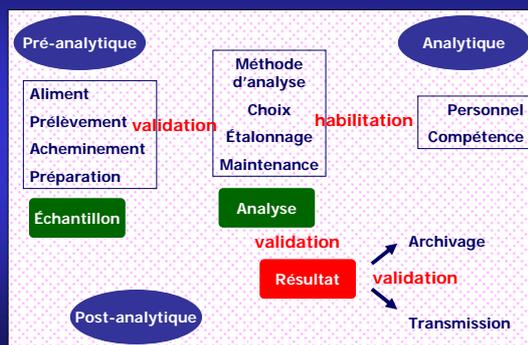
La contamination des moules et des huîtres

Base
analyse
chimique



Facteurs méthodologiques

Le cycle de vie d'un échantillon et de son résultat



Facteurs méthodologiques Audit du laboratoire

- ✓ Pas de problème évident au cours de l'analyse
 - ✓ Compétence de l'analyste
- ✓ Nécessité d'améliorer les conditions pour les animaux
 - Le laboratoire a isolé une salle pour les animaux
 - Le jeûne est instauré et reporté dans les fiches de suivi
- ✓ Nécessité d'insérer des échantillons de contrôle au cours des séries d'analyse
 - ✓ Nécessité d'obtenir une accréditation

Facteurs organisationnels

- ✓ Renforcer l'Encadrement et le Suivi des activités de surveillance
 - Implication locale
 - Implication du POP
- ✓ Renforcer les conditions d'opérationnalité en période de crise
 - Stockage, aide technique habilitée, petit matériel, vaisselle...
 - Fixer la charge d'analyses maximale acceptable
 - Fixer les délais incompressibles d'analyses

Facteurs Environnementaux

✓ Face à un épisode « non classique »

Il serait intéressant de connaître les facteurs environnementaux présents pouvant engendrer l'apparition de phénomènes nouveaux

Episodes toxiques à ASP et DSP dans les coquilles St Jacques de la « baie de Seine » en 2004 et 2005

présentation des 2 événements : historique, principales données acquises, organisation pour la gestion de crise, lacunes dans la connaissance, et quelques propositions



1. L'épisode toxique ASP

- suivi pectinidés lancé en janvier 2003 (crises toxiques ASP en Galice et en Ecosse en 1999 ; DSP pétoncles sud Jersey en 2001) : 2 points « baie de Seine » et 2 points baie de St Brieuc ; ASP, DSP et PSP tous les 15 jours en période d'ouverture (oct/mai)
- début octobre 2004, à l'ouverture de la pêche présence de toxine (8.5 µg d'acide domoïque/g de chair) lors des premiers prélèvements de la saison (analyses par labo de Concarneau en HPLC),
- réunion de la cellule de suivi sanitaire 14 (Aff Mar BN, DSV, DRASS, DGCCRF, Ifremer ; cellule « rodée » car épisodes DSP à la côte chaque année),
- passage à un suivi hebdomadaire sur un point variable du centre « baie de Seine » (prélèvement à la débarque)
- légère « diminution » de la contamination la deuxième semaine, puis « augmentation » les 2 semaines suivantes (8.5 ; 6.2 ; 7.4 et 12 µg AD/g)
- dépassement du seuil (20 µg d'acide domoïque par g. de chair) le 2 novembre sur un point du centre de la baie de Seine

Premiers résultats ASP/CSJ octobre 2004 (acide domoïque en µg/g de chair ; analyses labo Concarneau)

Pt	Date prélèvement	ASP chair totale en µg/g	ASP chair totale sans hépato	ASP sur Noix en µg/g	ASP sur Corail en µg/g	ASP sur Hépato en µg/g
1	02/10/2004	8.5				
2	11/10/2004	6.5				
3	19/10/2004	7.4				
4	25/10/2004	12	< SD	< SD	3	176
5	02/11/2004	21.1	< SD			330.4
7	7 et 8/11/2004	50.6	3	<1	4.6	600
8	7 et 8/11/2004	53.9	2.9	<1	6	720

SD : Seuil de détection = 0,15 µg/g

- fermeture de toute la « baie de Seine » entre les méridiens de Gatteville et d'Etretat, et jusqu'à la limite des eaux françaises le 5 novembre 2004 ; arrêté interpréfectoral Calvados, Manche et Seine Maritime ; la fermeture restera totale jusqu'au 25 novembre

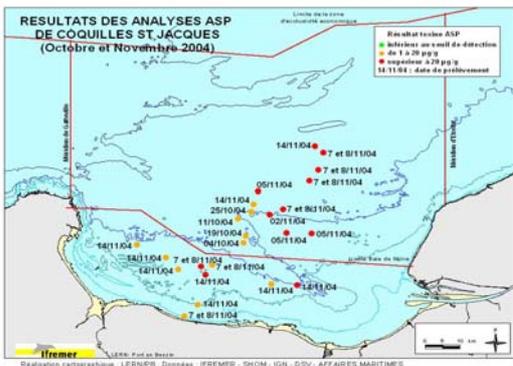
- affrètement (aff mar/Ifremer) d'un bateau professionnel pour réalisation d'une évaluation de l'étendue géographique des zones touchées ; utilisation des cartes d'abondance COMOR (RHPB)

- réunions d'information avec les pêcheurs, les comités régionaux des pêches, et les représentants de la filière coquille (OP, mareyeurs...)

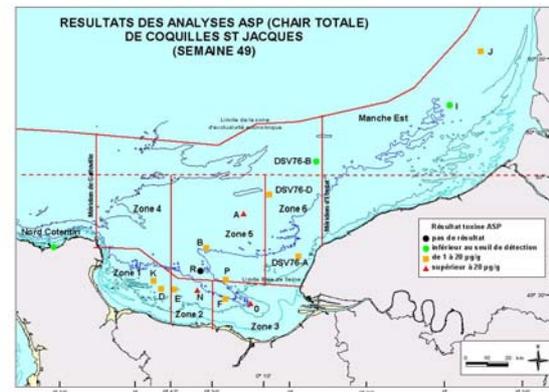
NB : la coquilles St Jacques en « baie de Seine » = 250 à 300 navires, 1000 marins (et donc au moins 2000 emplois à terre), entre 5000 et 15000 tonnes de débarquement selon les années, et + de 50% du CA des armements (entre 10 et 40 millions d'euros/an à la débarque).

- création d'un comité de suivi et de gestion de crise dès le 5 novembre (services 14, 50 et 76) ; pilotage alterné par Préfets HN/BN (ou Dir Cab + directeurs régionaux Aff Mar) et d'un comité d'information associant le comité de suivi et tous les représentants de la filière coquilles (CRPM, OP, mareyeurs...) ; réunions hebdomadaires des 2 comités jusqu'à la fin de la saison (mai 2005)

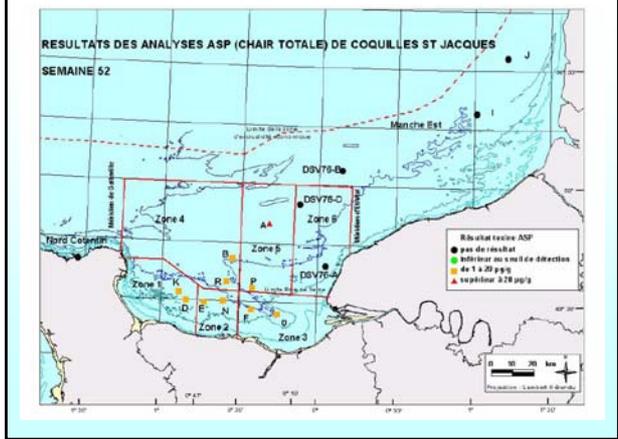
Premiers résultats de contamination ASP obtenus dans le cadre du suivi réphy pectinidés (octobre), puis lors de la première prospection globale (première quinzaine de novembre)



Création de 6 + 2 zones de gestion, avec 2 points de suivi par zone début décembre



- suivi hebdomadaire avec analyses ASP sur tous les points, + prélèvements d'eau pour identification des flores phytoplanctoniques à partir de décembre 2004
- réunions hebdomadaires des comités de suivi et de gestion de crise jusqu'en mai 2005 (puis reprise dans le cadre de la crise DSP entre début septembre et fin décembre 2005)
- diffusion d'un bulletin hebdomadaire de résultats (mise en commun des résultats DSV et Ifremer)

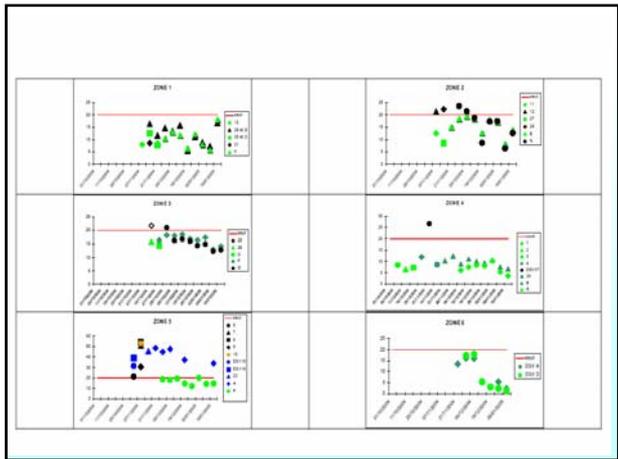


Résultats ASP Coquilles St Jacques

Point de suivi	Secteur 5 Hors baie de Seine A			Secteur 5 Hors baie de Seine P			Secteur 4 Hors baie de Seine B			Secteur 4 Hors baie de Seine R		
	chair totale	muscle	gonade									
Semaine du 21 au 26 novembre 2004 (48)	48.4	<1	4.6				10.3	<SD	1.5			
Semaine du 20 au 26 novembre 2004 (49)	44.6	<SD	4	18.7	<SD	1.2	12.5	<SD	1.9			
Semaine du 05 au 12 décembre 2004 (50)	47.5	<SD	6.4	17.9			8.8			6.1		
Semaine du 13 au 19 décembre 2004 (51)	/			19.5			11.1			7.5		
Semaine du 20 au 26 décembre 2004 (52)	37.2	<1	3.8	14.7			10.1			9.4		
Semaine du 26 au 31 décembre 2004 (53)	/			12.2			9.4			8.1		
Semaine du 01 au 07 janvier 2005 (54)	/			19.9			10.5			10.5		
Semaine du 08 au 14 janvier 2005 (55)	/			14.3			7.5			5.2		
Semaine du 15 au 21 janvier 2005 (56)	33.8	<SD	3.1	14.7			6.6			3.6		

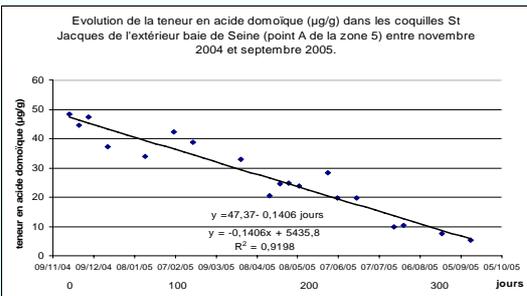
Alerte ASP CSJ Manche Est, CR LERN n°16 du 20/01/2005

Page 1 sur 6



-réouvertures progressives des zones (2 bons résultats consécutifs espacés d'une semaine)

NB : pas de réouverture de la zone 5 « nord » avant octobre 2005 (1 an) ; passage sous le seuil en juin 2005



Identification de la (ou des) espèce(s) toxique(s) impliquée(s)

- les premiers prélèvements d'eau courant novembre (bouteilles) n'ont pas permis de mettre en évidence des concentrations significatives de *Pseudo-nitzschia* => organisation d'une manip plongeurs le 30 novembre (plongeurs Ifremer) : très peu de *Pseudo-nitzschia* également, et une seule sp identifiée = *P. fraudulenta* (rarement considérée comme toxique ; C. Billard, Univ Caen) ;

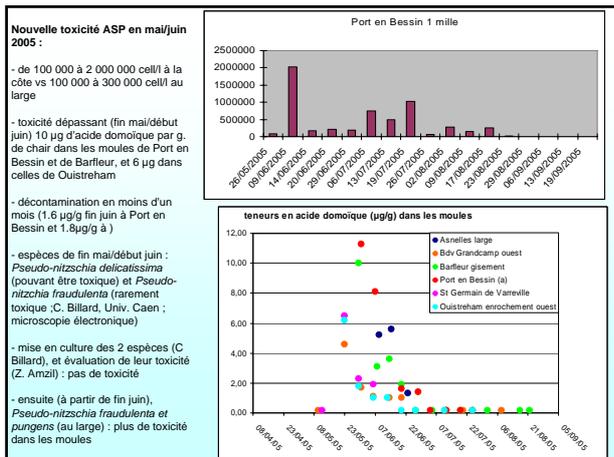
- ensuite, concentrations extrêmement faibles de *Pseudo-nitzschia* dans les prélèvements, inexploitable, et ce jusqu'au mois de mai 2005

- entre mai et fin septembre 2005, lancement d'une étude (EMP/LERN) pour tenter d'identifier sp. toxiques en cas de nouveau bloom : campagnes tous les 15 jours, avec prélèvements de 5 échantillons de CSJ (recherche ASP EMP) + eau (surf.fond : temp, sal, O2, turb, sels nuts, chloro, flores) : + 20 prélèvements id dans le cadre de la COMOR (2 + 1 semaines)

pas de bloom marqué, ni de remontée des toxicités ; sp toxique(s) non identifiée(s)

NB : 2 échantillons collectés dans le cadre du Réphy sur Antifer et en estuaire Seine fin août/début septembre 2004 ont été « analysés » fin 2005 :

- sonde génomique E Antoine : *Pseudo-nitzschia australis*
- µscope électronique C. Billard : *Pseudo-nitzschia multiseries*



- la « gestion de crise » a aussi compris :**
- 1) Organisation de la communication : Services de l'Etat (dont Ifremer) = Préfet ; professionnels + filière = CRPM
 - 2) Le déblocage rapide de fonds pour financer la réalisation des prélèvements par les pêcheurs (DPMA/Ifremer puis CRPM/Aff Mar/DPMA/IFOP), ainsi que les analyses (DPMA/Ifremer)
 - 3) La rédaction de notes de synthèse sur les connaissances actuelles à l'attention de la Diren de façade (et de la DPMA) pour répondre aux questions posés par différentes associations sur l'origine de la crise (port 2000...) :
 - 2 de C. Billard, Univ. Caen, sur *Pseudo-nitzschia* toxiques + absence de kyste, et sur l'identification de *Pseudo-nitzschia fraudulenta* (connue pour être plutôt peu toxique, bien qu'également présente en Ecosse),
 - 1 de P. Gentien sur l'écophysiologie du genre, et les différentes influences des facteurs du milieu sur développement et toxicité
 - 1 de P. Lassus *et al.* sur la toxine, sa bioaccumulation et son transfert, sur les cinétiques de détoxification selon les coquillages, et sur les épisodes toxiques recensés à ce jour
 - 1 de Riou/Le Goff sur les déplacements masses d'eau en baie de Seine
 - rapports d'identification de E Nézan (CC) en uscopie optique
- Conclusion : on connaît très mal ces espèces**
- 4) Mise en place d'une surveillance de la pêcherie par les Affaires Maritimes
 - 5) Analyses « complémentaires » dans différentes fractions des CSJ

2. Crise DSP : d'octobre 2005 à fin décembre 2005

- développements du *Dinophysis* à la côte (dans la zone de l'estuaire Seine) dès juillet, et fermeture entre Ouistreham et l'estuaire le 19 août, puis entre Courseulles et l'estuaire le 1er septembre, puis entre Tracy et l'estuaire le 14 octobre
- au large (suivi des points A, X, T, P et N), pas de *Dinophysis* avant début septembre

POINTS DE PRELEVEMENTS DE COQUILLES ST JACQUES 2004-2005

Dinophysis : nombre de cellules par litre (seuil = 500 cell/L)

POINTS nom + code	12-16 sept 05	19-22 sept 05	26-30 sept 05
Hors baie de Seine A	600	/	0
Hors baie de Seine X	2800	/	0
Hors baie de Seine T	5900	/	300
Hors baie de Seine B	/	/	200
Hors baie de Seine R	/	/	600
Hors baie de Seine P	55300	/	3700
AM1	/	/	0
AM2	/	/	0
AM4/5	/	/	0
AM6	/	/	0
baie de Seine G	/	/	9 000
baie de Seine O	/	/	13 900
baie de Seine F	/	/	1 800
baie de Seine N	7200	/	/
baie de Seine E	/	/	700
baie de Seine K	/	900	400
baie de Seine D	/	2100	400

Tests souris (+++ = positif, 0 = négatif, / pas de test)

POINTS nom	12-16 sept 05	26-30 sept 05
Hors baie de Seine A	0	/
Hors baie de Seine X	/	0
Hors baie de Seine T	/	+++
Hors baie de Seine R	/	0
Hors baie de Seine B	/	0
Hors baie de Seine P	/	+++
baie de Seine G	/	+++
baie de Seine N	0	/

Donc remise en alerte du réseau Réphy au large, relance des 2 comités de gestion de crise, et arrêté interpréfectoral d'interdiction de la pêche des pectinidés entre Gatteville, Etretat et le 49°45N

Tests souris sur CSJ : exemple des résultats du mois d'octobre

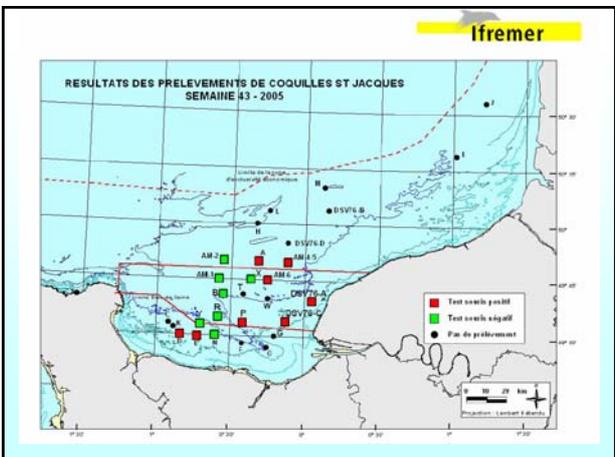
POINTS nom	3-7 oct 05	10-14 oct 05	17-21 oct 05	24-28 oct 05
Hors baie de Seine A	0	0	0	+++
Hors baie de Seine X	0	0	0	0
Hors baie de Seine T	0	+++	+++	0
Hors baie de Seine B	0	0	+++	0
Hors baie de Seine R	0	+++	0	0
Hors baie de Seine Y	/	+++	0	0
Hors baie de Seine P	+++	+++	+++	+++
Hors baie de Seine AM1	0	0	+++	0
Hors baie de Seine AM6	0	+++	0	+++

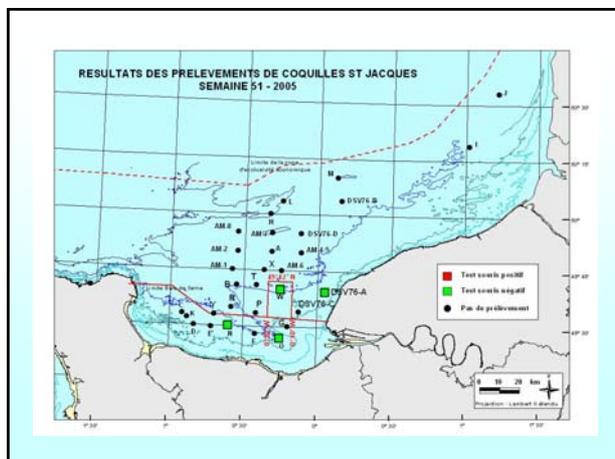
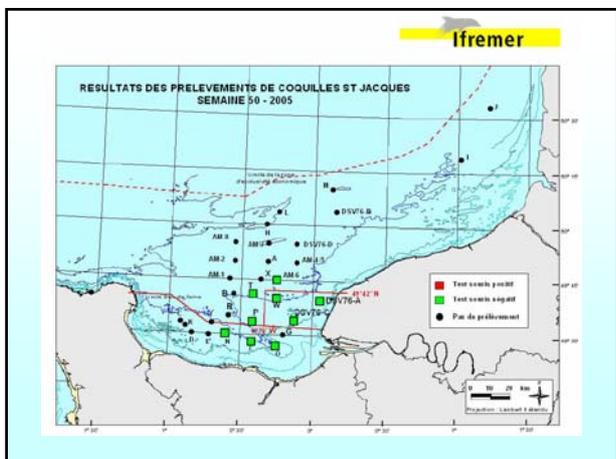
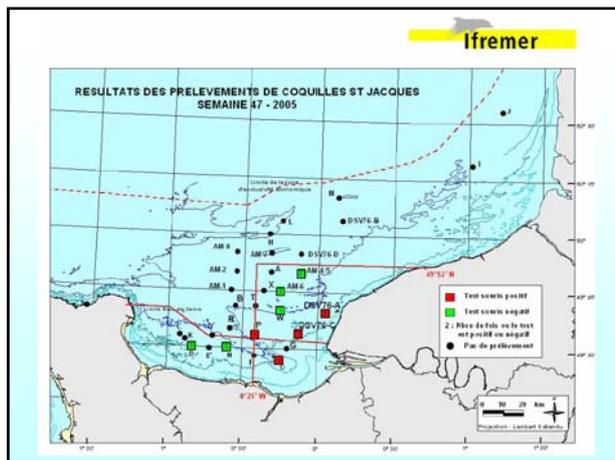
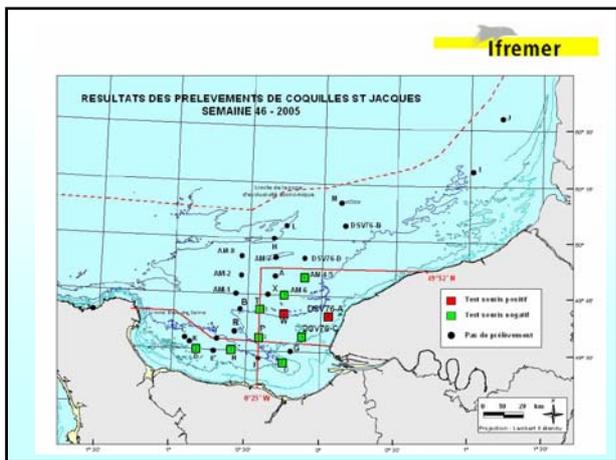
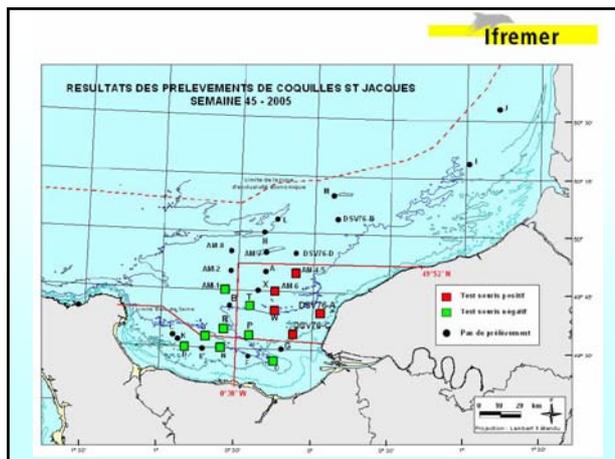
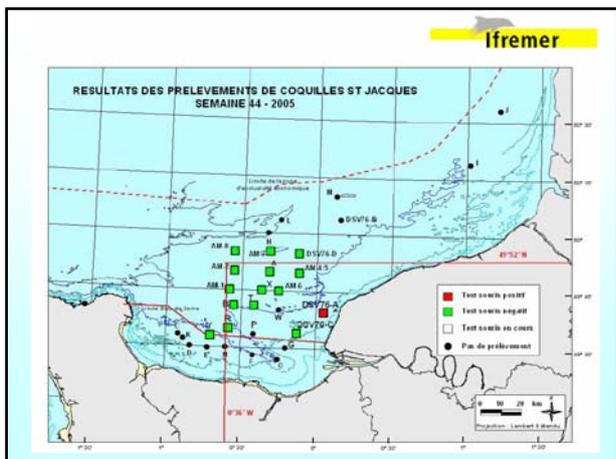
Toxines diarrhéiques DSP méthode de Hannah et al.1995.

prélèvements : CRPM/AFF MAR

Analyses : DSV/labo de Rouen et IFREMER.

+++ = positif
0 = négatif
/ = pas de test.





Donc, concernant la crise DSP :

- ouverture au 3 octobre comme prévu, mais uniquement dans le nord du 49°52 (inaccessible petits bateaux)
- gestion, non plus par zone, mais par méridien et parallèle
- surveillance Affaires maritimes ; saisies et destructions de lots
- « réouverture totale » semaine 52
- 1 malade

En conclusion :

- 2 crises consécutives sur les coquilles St Jacques en baie de Seine ; deux « premières » (car contrôles à l'export presque toujours négatifs)
- fortes tensions, mais apaisées par l'importance exceptionnelle des stocks 2004/2005 et 2005/2006, et communication commune Préfectures/CRPM
- connaissances à développer sur l'ASP : projet Manche (*Pseudo-nitzschia* et *Dinophysis*) à monter (fonds Ifop et organisation pour prélèvements déjà en place ; il manque un coordinateur) :
 - identification sp toxique(s)
 - développement d'outils d'identification plus rapides que µscope électronique
 - comparaison des conditions de milieu entre baie de Seine, rade de Brest, courreaux de Belle Ile pour modèle statistique d'occurrence ?
 - culture des sp toxiques, identification des facteurs du déterminisme de leur dévelpt et/ou de leur acquisition de toxicité, et modélisation prédictive

Résultats des analyses fractionnées (Z. Amzil et D. Le Gal)

1. DSP



Expertise physico-chimique / Complexe des toxines diarrhéiques (DSP) / Coquilles Saint-Jacques de baie de Seine

Objectif : à partir d'un lot de 10 coquilles en provenance de différents points de prélèvements, évaluer la répartition des toxines DSP dans les différents organes de coquilles Saint-Jacques (CSJ) : glandes digestives, gonades, muscles, autres tissus.

Point	Semaine 39				Semaine 40				Semaine 41				Semaine 42							
	10 CSJ		10 CSJ		10 CSJ		10 CSJ		10 CSJ		10 CSJ		10 CSJ		10 CSJ					
	CT*	GD*	G*	M*	A*	CT*	GD*	G*	M*	A*	CT*	GD*	G*	M*	A*	CT*	GD*	G*	M*	A*
P	2534	18541	111	ND*	ND	1247	7674	192	ND	ND	3036	13400	ND	ND	ND	1835	19812	51	ND	ND
R						85	584	ND	-	-	311	4146	-	-	-	137	4940	-	-	-
T						222	1574	41	-	-	935	12253	-	-	-	888	11954	-	-	-
X						23	1011	ND	-	-	443	3835	-	-	-	109	1890	-	-	-
Y											498	4670	-	-	-	ND	1150	-	-	-

*Chair Totale, *Glandes Digestives, *Gonades, *Muscles, *Autres tissus, *Non Détecté

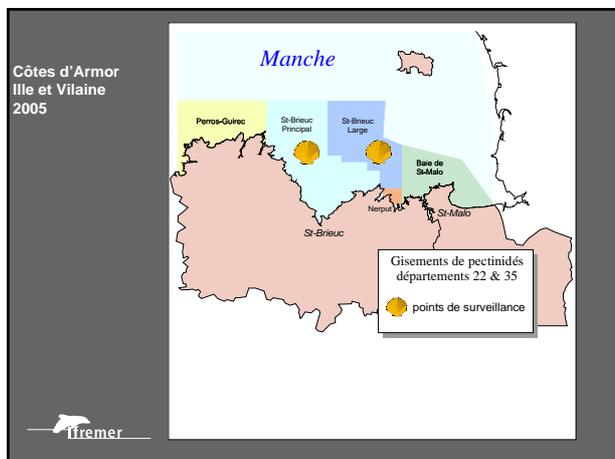
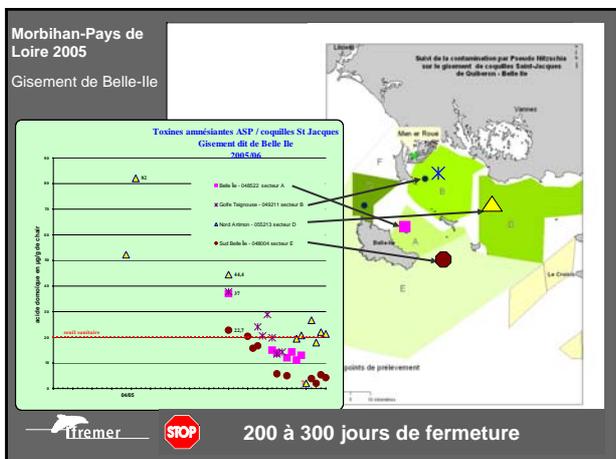
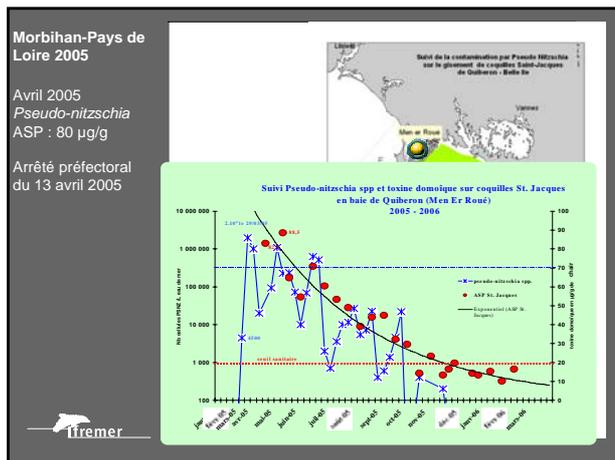
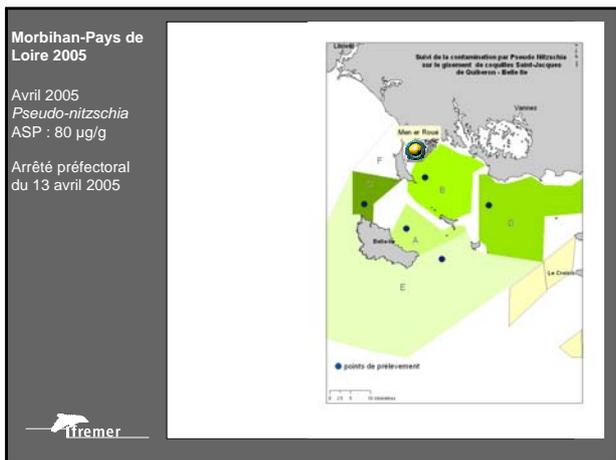
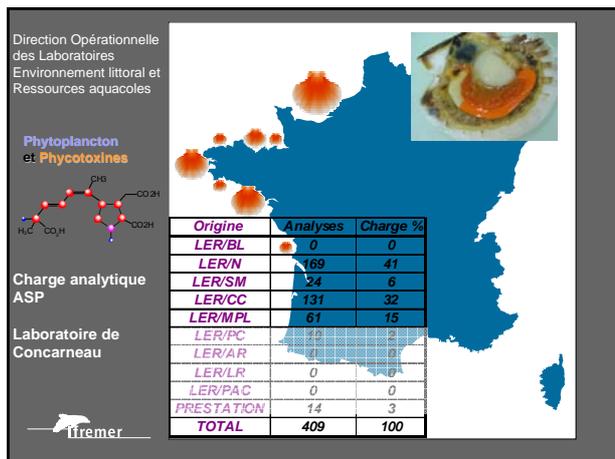
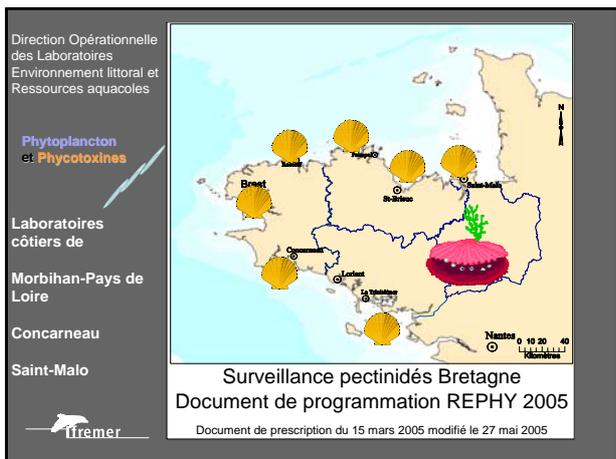
➤ Pour l'ensemble des échantillons, la quasi-totalité des toxines DSP se concentre dans les glandes digestives (colonne jaune).

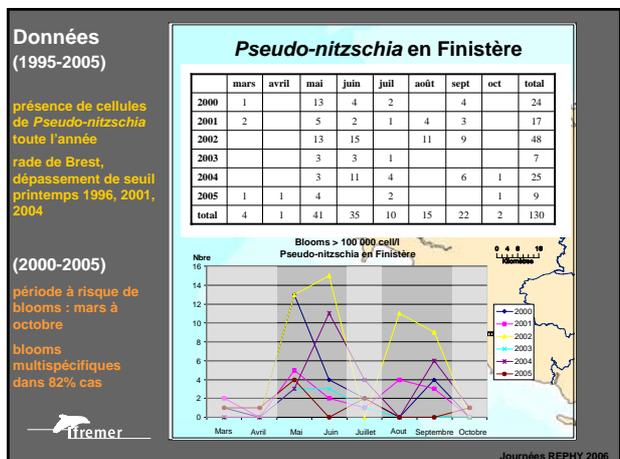
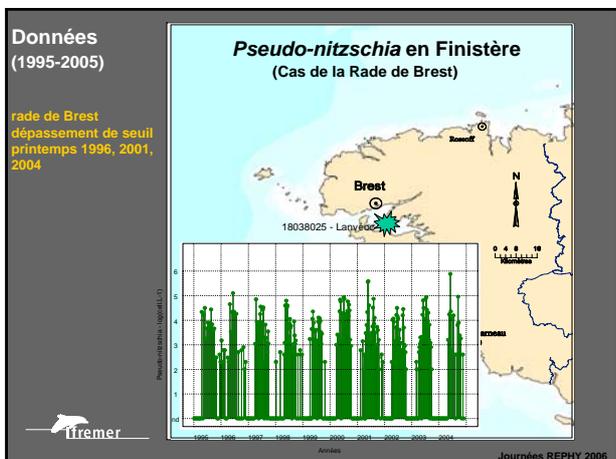
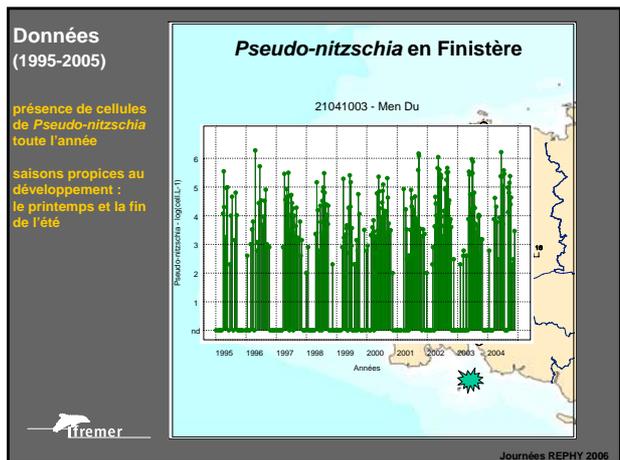
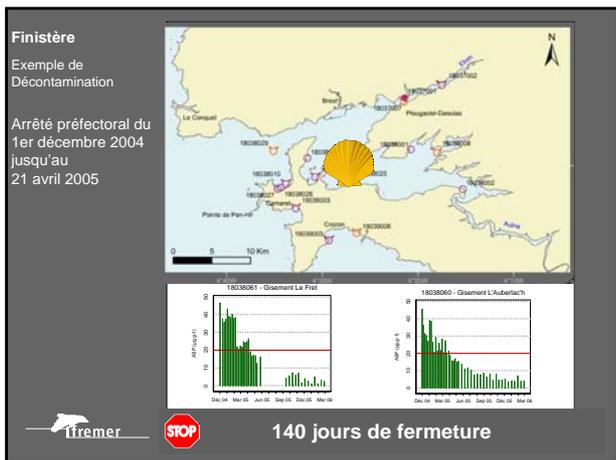
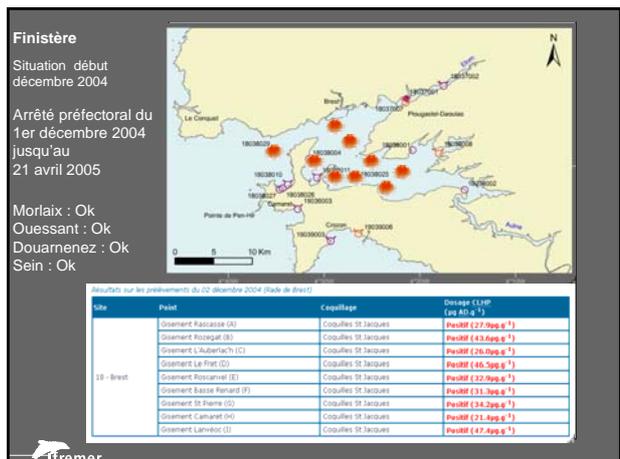
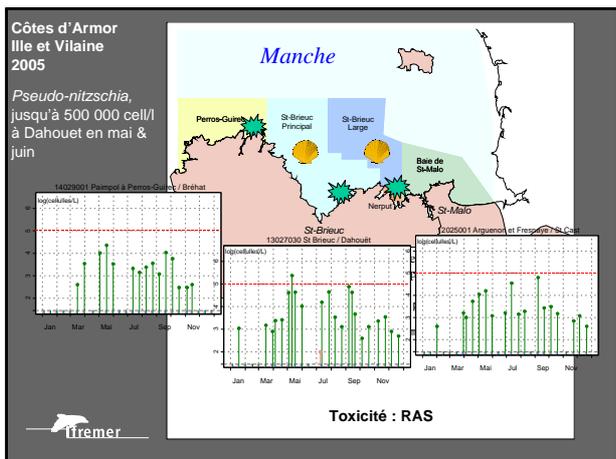
Z. Amzil, Nantes, le 27 octobre 2006

2. Analyses d'ASP (en µg d'acide domoïque par g de chair) dans les différentes fractions des coquilles St Jacques (D Le Gal, LERCC)

Date	chair totale	Chair totale sans hépato	Noix (muscle)	Corail (gonade)	Hépatopancréas (Glande digestive)
25/10/2004	12	< SD	< SD	3	176
02/11/2004	21.1	< SD			330.4
8/11/2004	50.6	3	<1	4.6	600
8/11/2004	53.9	2.9	<1	6	720
8/11/2004	30.5	1.5	<1	11.7	635
8/11/2004	52.9	<1	<SD	6.3	300
8/11/2004	12.5	<1	<SD	2.6	235
8/11/2004	21.3	<1	<SD	1.8	269
8/11/2004	8	<1	<SD	1.4	130

SD : Seuil de détection = 0,15 µg/g seuil sanitaire = 20µg/g



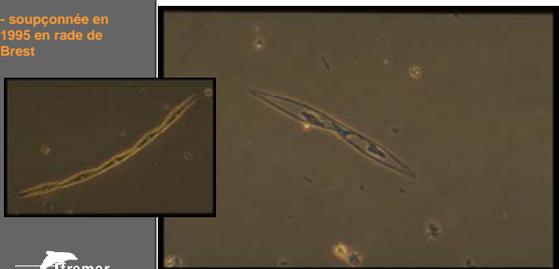


Ce qu'il faut savoir

les souches les + toxiques sont de *P. australis*

- soupçonnée en 1995 en rade de Brest

- 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



Ifremer

Journées REPHY 2006

les souches les + toxiques sont de *P. australis*

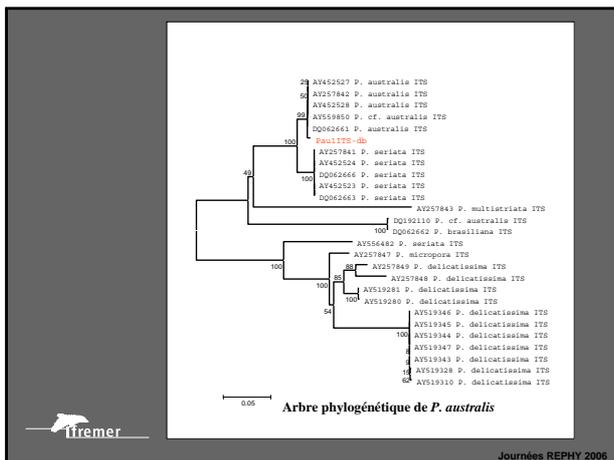
- observée en 2003 en baies de Concarneau et d'Audierne

- observée en 2004 en baie de Seine



Ifremer

Journées REPHY 2006



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/pseudodel</i>	0.22	1	300 000
	<i>P. pungens</i>	0.47	2	100 000
Effilées	<i>P. multiseriata</i>	21.0	95	100 000
	<i>P. australis</i>	37.0	170	100 000
Larges asym	<i>P. seriata</i>	33.6	150	100 000
	<i>P. subpaciifica</i>	ND	ND	100 000
	<i>P. fraudulenta</i>	0.12	0,25	100 000
Sigmoïdes	<i>P. multistriata</i>	0.70	3	100 000

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

Ifremer

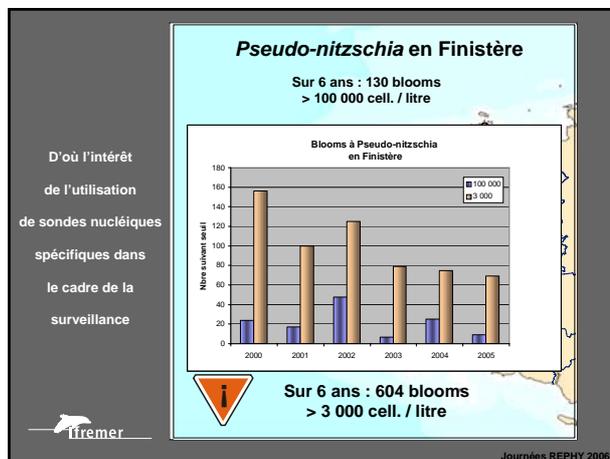
Journées REPHY 2006

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

Le principe de précaution impliquerait donc que les seuils d'alerte soient à 3 000 cell/l pour tous les groupes !

Ifremer

Journées REPHY 2006



Direction Opérationnelle
des Laboratoires
Environnement littoral et
Ressources aquacoles

Phytoplancton
et Phycotoxines

Laboratoires
côtiers de

Morbihan-Pays de
Loire

Concarneau

Saint-Malo



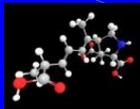
Conclusion 

La toxicité des coquillages 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*)

Journées REPHY 2006

Pseudo-nitzschia & ASP

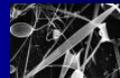


Recensement des événements toxiques ASP vus par le RePHY



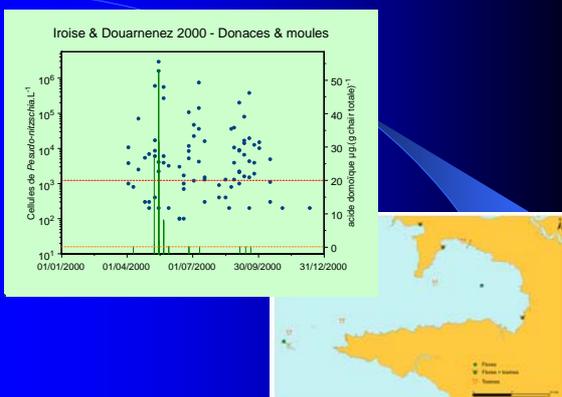
Evénements ASP

- **Recensement** des événements depuis la détection de l'ASP en 2000 en Bretagne Ouest
- **Description**
- Quels **enseignements** en matière d'évaluation du risque ?



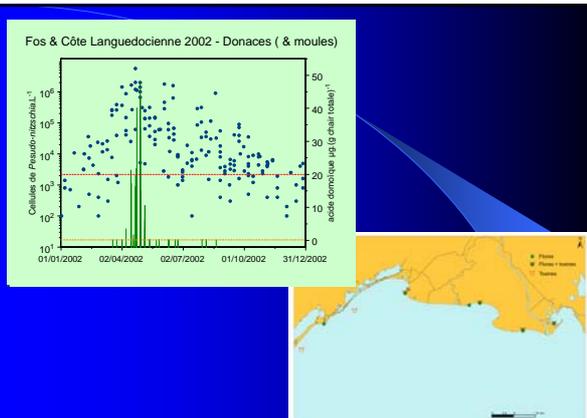
B. Beliaeff - Journées REPHY, 7-9 mars 2006

Iroise & Douarnenez 2000 - Donaces & moules



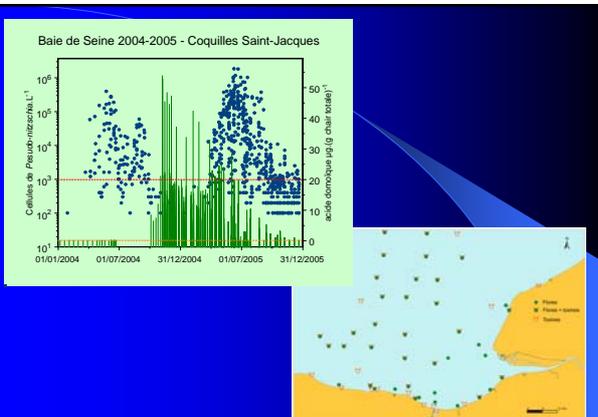
B. Beliaeff - Journées REPHY, 7-9 mars 2006

Fos & Côte Languedocienne 2002 - Donaces (& moules)



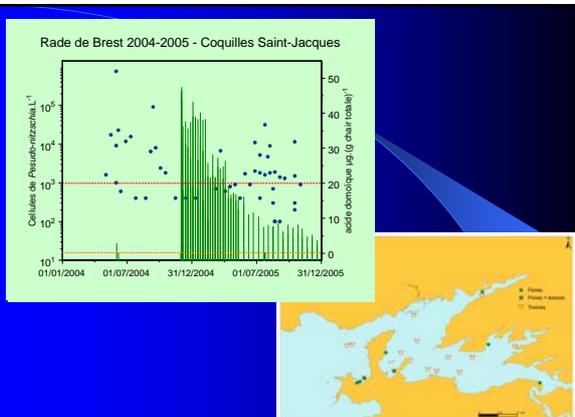
B. Beliaeff - Journées REPHY, 7-9 mars 2006

Baie de Seine 2004-2005 - Coquilles Saint-Jacques

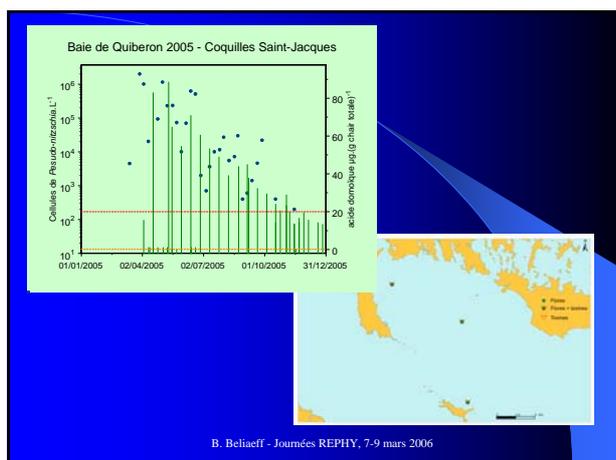


B. Beliaeff - Journées REPHY, 7-9 mars 2006

Rade de Brest 2004-2005 - Coquilles Saint-Jacques



B. Beliaeff - Journées REPHY, 7-9 mars 2006



En résumé

- Evénements toxiques ASP
 - 2000 Iroise
 - 2002 Fos & Côte Languedocienne
 - 2004 Baie de Seine & Brest
 - 2005 Baie de Quiberon
- Cinétique
 - Moules/donaces : contamination et décontamination rapide
 - Coquilles Saint-Jacques : décontamination très lente (~ 1 µg/g/semaine)

B. Beliaeff - Journées REPHY, 7-9 mars 2006

Perspectives

Pseudo-nitzschia

- Hypothèse : toxicité liée à l'évolution de *Pseudo-nitzschia* dans le temps et dans l'espace
- Constat : manque de connaissances fondamentales (écologie)
- Nécessité : acquérir des données de phytoplancton en début d'événement toxique

B. Beliaeff - Journées REPHY, 7-9 mars 2006

L'épisode à *Ostreopsis* en Italie (été 2005) et risques liés à la palytoxine

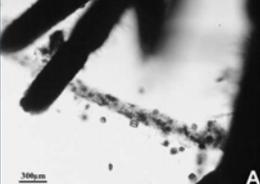
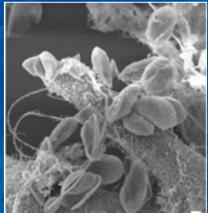


Sophie Trotereau (L.N.R. AFSSA)
Françoise Marco-Miralles (Ifremer Toulon)
Hubert Grossel (Ifremer Nantes)



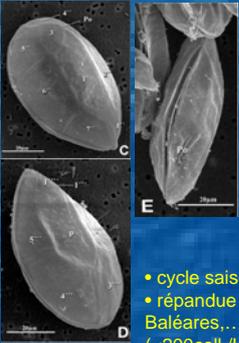

Rappel : Classe des Dinophycées

Genre *Ostreopsis* : formé d'espèces principalement tropicales. La majorité des espèces est potentiellement toxique (syndrome ciguaterique).
Ostreopsis a été observé depuis les années 90 en Méditerranée. Sa présence dans la colonne d'eau (et donc son observation par le REPHY), est un indicateur de sa présence au niveau benthique.

O.ovata est la plus petite espèce du genre, mais sa taille (40-50µm) la rend aisément identifiable

Vila et al.: Epiphytic dinoflagellates in the Mediterranean Sea (Aquat Microb Ecol 26: 51-60, 2001)



- **habitat** : dinoflagellé épiphyte sur des macroalgues brunes et rouges particulièrement en milieu rocheux peu profond et abrité, et aussi dans les sédiments avoisinants.
- des conditions de vents favorisent la dispersion dans l'eau.
- la rupture des cellules libère alors la toxine, qui peut se mêler aux aérosols.

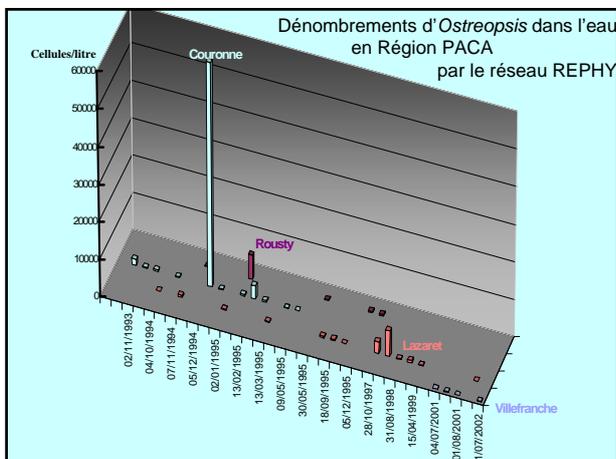
- cycle saisonnier marqué (printemps, été).
- répandue en Méditerranée: Italie, Catalogne, Baléares,... souvent à des concentrations faibles (<200cell./L)
- *Ostreopsis* s'attache aussi à des débris flottants (plastiques...) qui peuvent assurer sa dispersion

Journées REPHY 7-8 mars 2006

En France, *Ostreopsis* est très rarement décelé en Languedoc-Roussillon (influence potentielle du panache du Rhône? nature du substrat sédimentaire?)
En région PACA, il a été épisodiquement dénombré à des concentrations significatives:



Journées REPHY 7-8 mars 2006



Quelques événements remarquables :

- Côte toscane et ligurienne
 - 1998: baignades avec irritation de la peau, problèmes respiratoires et fièvre
 - 1999: mortalités de poissons
 - 2001: baignades avec irritation de la peau
- Côte catalane
 - 2004: (30km au nord de Barcelone) environ 200 personnes touchées par des difficultés respiratoires, résidant dans immeubles directement en bord de mer. (Maso M., Vila M., Alvarez P., 2005)

Journées REPHY 7-8 mars 2006

DONNEES TOXICOLOGIQUES ANIMALES

Toxicité

Injection par voie intra péritonéale de PTX pure
DL50 0,72 µg/kg poids corporel (Rhodes et al, 2003)

Injection par voie orale → **Moins toxique**
DL50 510 µg/kg et NOAEL de 320 µg/kg (*Données Rex Munday NZ*)
Passage animal → homme : facteur de sécurité de 300 → DRA 1,07 µg/kg

Estimation du seuil de salubrité à **250 µg palytoxine/kg poisson**
(Portion 250g Individu de 60kg) (WG Toxicology oct 2005)

Symptomatologie

A de faibles doses
Inactivité, diarrhée, difficultés respiratoires, cyanose, piloérection, paralysie du train postérieure

A des doses létales (1,5 µg/kg pc)
Déhanchement, incoordination des membres, déséquilibre, convulsions, suffocation et mort après 40 min

Evaluation d'un seuil mais toxine non réglementée



Journées REPHY 7-8 mars 2006 13

CAS D'INTOXICATION ALIMENTAIRES HUMAINES

Cas rares rapportés principalement dans les Caraïbes et zone Indo-Pacifique

En 1988, cas d'intoxication aiguë aux Philippines après consommation de crabes

En 1989, présence de composés palytoxin-like dans la chair et les viscères des maquereaux fumés (*melichthys vidua*) importés des Philippines. Symptômes 7 heures après ingestion chez une personne de 35 ans.

En 1998, intoxication fatale à Madagascar après consommation de sardines (*Herklotsichthys quadrimaculatus*) → agent causal découvert *Ostreopsis siamensis* (Yasamoto 1998 et Hansen et al 2001)

Manifestations cliniques:

Nausées, vomissements, hypersalivation, crampes abdominales, paresthésies des extrémités (Yasamoto et al 1986)

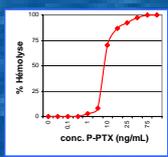


Journées REPHY 7-8 mars 2006 14

METHODES DE DETECTION BIOLOGIQUES

Test hémolytique

Analyse sur des hématies de souris, libération de l'hémoglobine dans le milieu au contact de la toxine. Cette hémolyse est détectable par spectrophotométrie à 450nm.

Bio essai sur souris

Relation dose/ temps de survie (*Ted & Gardiner 1974*)
Symptômes caractéristiques
Vacillement, pertes d'équilibre, paralysie progressive, ataxie, difficultés respiratoires

Méthode utilisée sur échantillons toxiques de crabes (*Lau et al 1995*)

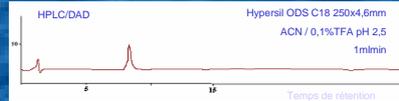


Journées REPHY 7-8 mars 2006 15

METHODES DE DETECTION PHYSICO-CHIMIQUES

HPLC/DAD

Hypersil ODS C18 250x4,6mm
ACN / 0,1%TFA pH 2,5
1ml/min

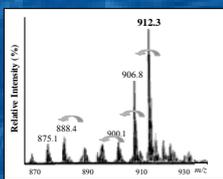


Méthode sur poisson (*Onuma et al 1999*)
Inconvénient : Sensibilité 0,25µg/injection

LC/MS-MS

Prédominance d'ions tri et di chargés
Fragments spécifique m/z 327
Perte de molécules d'eau

Développée pour les algues, méthode à optimiser sur d'autres matrices



Journées REPHY 7-8 mars 2006 16

ACTIONS DE RECHERCHE

- Thèse « Caractérisation chimique et toxicologique du complexe neurotoxique impliqué dans la contamination des produits de la mer de l'Océan Indien : contribution des toxines de *G. toxicus* et d' *O. mascarensis*. Séverine Lenoir - Avril 2006
- Développement du test hémolytique sur des matrices autres que des algues
- Optimisation d'une méthode HPLC Stagiaire Avril-juillet 2006

Disponibilité d'étalons et de matériaux contaminés

Journées REPHY 7-8 mars 2006 17



Informazioni e iscrizioni: 010 6437208 - info@reph.org

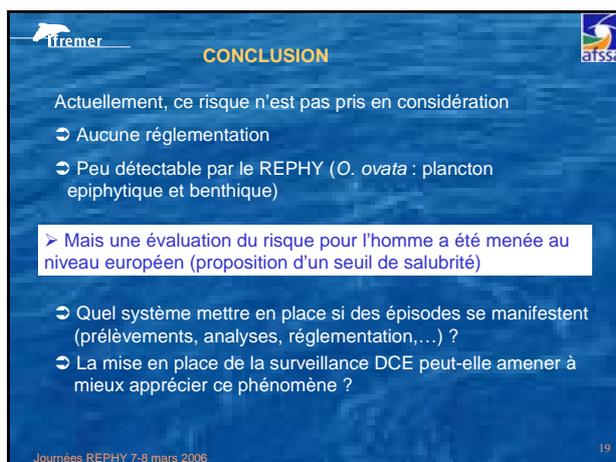
La Signoria Vostra è invitata al seminario internazionale **OSTREOPSIS: problema per il Mediterraneo?**

5 dicembre 2005
Teatro della Gioventù, via Cesareo Genova - Italy

You are kindly invited to the international workshop **OSTREOPSIS: is it a problem for the Mediterranean Sea?**

Information and registration: +39010 6437208 - info@reph.org

Journées REPHY 7-8 mars 2006 18



CONCLUSION

Actuellement, ce risque n'est pas pris en considération

- ↻ Aucune réglementation
- ↻ Peu détectable par le REPHY (*O. ovata* : plancton épiphytique et benthique)

➤ Mais une évaluation du risque pour l'homme a été menée au niveau européen (proposition d'un seuil de salubrité)

- ↻ Quel système mettre en place si des épisodes se manifestent (prélèvements, analyses, réglementation,...) ?
- ↻ La mise en place de la surveillance DCE peut-elle amener à mieux apprécier ce phénomène ?

Journées REPHY 7-8 mars 2006 19

Session recherche



**Conchyliculture
et problématiques liées
au phytoplancton et aux toxines marines**

Constats professionnels
--
Initiatives et perspectives

Journées REPHY – 7 et 8 mars 2006 – Centre Ifremer Nantes

Constats professionnels :



- Conchyliculture et phytoplancton
- Risque sanitaire et gestion administrative
- Recherche scientifique

Initiatives et perspectives :



- Attentes
- COSTE

Journées REPHY – 7 et 8 mars 2006 – Centre Ifremer Nantes

1931 - 1980

Conchyliculture

Phytoplancton et production : engraissement
Phytoplancton, naissain et mortalité
Risques sanitaires et bénéfiques nutritionnels
« l'affaire dinophysis »

Risque sanitaire

Salubrité, contrôle (microbiologique),
qualité de l'environnement (STEP, agriculture),
Produits d'élevage – Produits sauvages,
« Image » du risque

1980 - 2000

Conchyliculture

10 novembre 1983 – ISTPM Nantes – réunion d'information,
87 : mytiliculture, vénériculture et dinophysis,
pertes marchandises, manque à gagner, difficultés de
trésorerie, image des produits, médias, décontamination
Nouvelles toxines / ((pratiques)) - information

Risque sanitaire et gestion administrative

Cas d'intoxication diarrhéiques en France et en Europe
Directive 91/492/CE (PSP, DSP); 97/61/CE (ASP)
-interdiction par arrêté de l'exploitation en zone concernée – suspension de la
validité du certificat d'inscription au casier sanitaire – le cas des huîtres

Recherches scientifiques

Observation des efflorescences toxiques
Méthodes : tests souris 
Décontamination 

2000 - 2006 ...

Conchyliculture

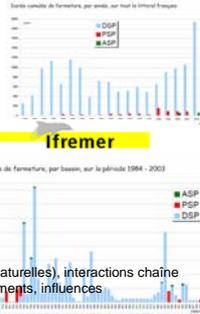
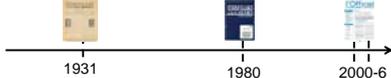
Fermetures – contraintes économiques et sociales
Nouvelles toxines – « Image » du risque
Gestion (connaissance, informations, moyens et procédures)
Evolution

Risque sanitaire et gestion administrative

Pas de données épidémiologiques
Décision 2002/225/CE
Évolution des seuils (évaluation scientifique)

Recherches scientifiques

Observation / surveillance - Effort de recherche
Echelle globale, locale
Pluridisciplinaire :
biologie, physique, chimie. Variations temporelles-spatiales (naturelles), interactions chaîne
alimentaire, dynamique, changement climatique, apports nutriments, influences
anthropiques ...usages-pratiques...

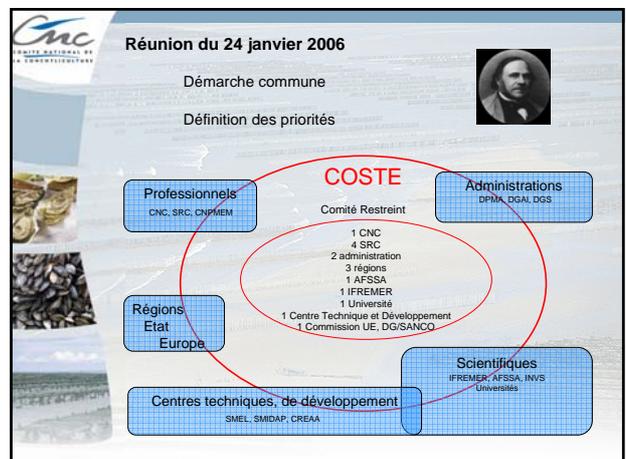
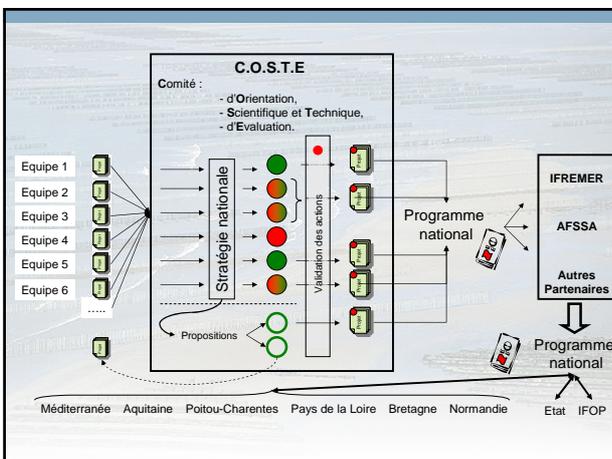
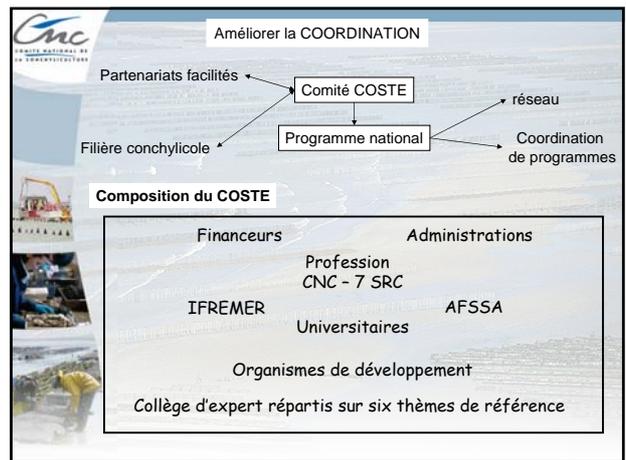
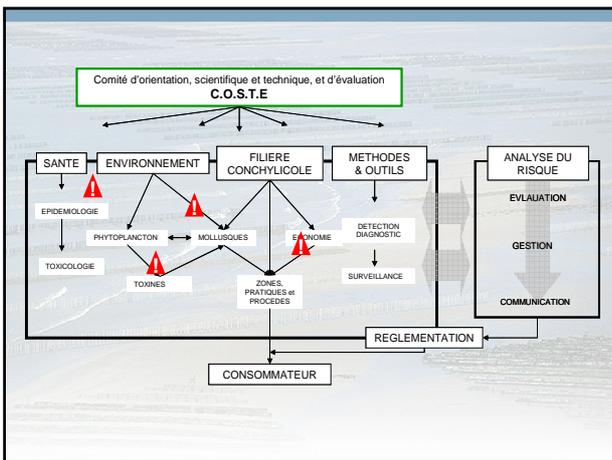
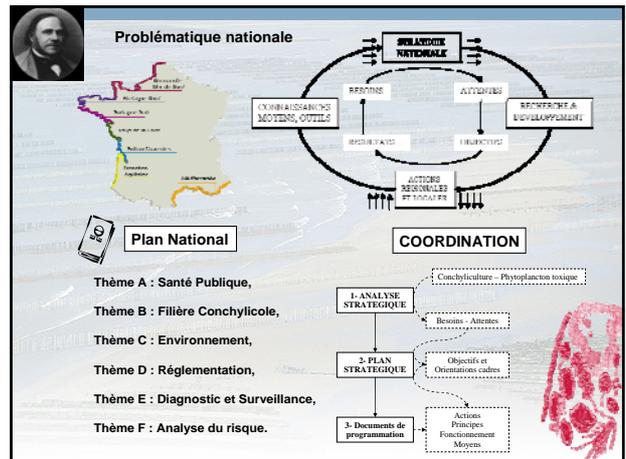
Des interrogations professionnelles ?

- Risques : Incertitudes et précaution de l'évaluation
- Compatibilité des mesures avec l'exploitation des ressources
- Comparaison des situations et des expériences

Des attentes professionnelles !

- Information
- Profil de risque (réglementation)
- Nouvelles toxines
- Passage aux analyses chimiques
- Des solutions pour la surveillance, les pratiques, le diagnostic de la qualité
- La gestion
- Communication (« denrée »)





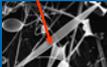
GET

COMPRENDRE ET GERER LES EFFLORESCENCES TOXIQUES

Les espèces connues

-  *Dinophysis acuminata* - Syndrome diarrhéique – toutes les côtes de France – 1200 jours de fermeture/an
-  *Alexandrium catenella* – Syndrome paralysant – Etang de Thau – Efflorescences printemps / automne
-  *Alexandrium minutum* – Syndrome paralysant – abers et estuaires de Bretagne nord - Eté
-  *Karenia mikimotoi* – Hémolytique – Mortalités faune - Côte Atlantique - Eté

Les espèces identifiées

-  1 des *Pseudo-Nitzschia (australis)* – Syndrome amnésiant – Baie de Seine- Sud-Bretagne – Golfe du Lion
- Proocentrum mexicanum* – Ichtyotoxique - identifié lors de la mortalité de crevettes en élevage en Nouvelle Calédonie – causalité non démontrée
- 
- 
- Ostreopsis ovata*,
- Alexandrium ostenfeldii*,
- Protoperidinium ?? (AZP)*,
- Pyrodinium bahamense (PSP)*, ...

Prévision de durcissement des normes
Impacts économiques des perturbations:
ponctuelles (adm., cons., prof.)
récurrentes (adm., cons., prof.)

- Une initiative à la demande du PDG :
 - Pour accorder les potentiels de l'institut en matière de recherche aux besoins des L.E.R.
 - Permettant d'intervenir dans le cadre des mandats de l'IFREMER sans en endosser d'autres.
- Un défi scientifique et technologique :
 - CONNAISSANCE : Comprendre la dynamique d'une espèce de phytoplancton revient à comprendre comment, pourquoi et quand un pissenlit pousserait dans votre pelouse si elle était à trois dimensions.
 - OUVERTURE : Prise en compte de la biodiversité du phytoplancton pour dépasser les hypothèses « agricole » et « de victime »
 - Adaptation des modèles physiques aux bonnes échelles

Mise au point de

- capteurs spécifiques
- de systèmes de mesure aux échelles pertinentes
- de procédés

CONSTAT

DES ATOUTS

- Le système REPHY (réseau de la surveillance du phytoplancton et des phycotoxines) est reconnu en Europe et dans le monde pour sa qualité. Ce dispositif de surveillance est avec le réseau norvégien exemplaire en Europe ; il est tout à fait au niveau d'excellence du réseau néo-zélandais.
- La capacité des équipes de recherche sur la dynamique de population d'espèces phytoplanctoniques est largement reconnue au niveau international ainsi que l'attestent plusieurs publications, le montage du programme IOC-SCOR GEOHAB (<http://www.geohab.info>), l'organisation de plusieurs workshops / forum scientifiques internationaux.

DES ADAPTATIONS NECESSAIRES

- Etablissement d'un dialogue avec les professionnels entre les différentes équipes de l'Ifremer
- Evaluation économique des crises environnementales
- Mise en place de systèmes de gestion des crises

ANALYSE

- Nous devons assurer une réponse quel que soit le problème
- Mais cette réponse peut être à différents niveaux
- En tous les cas, elle doit être formulée en tenant compte des besoins des acteurs socio-économiques
- D'où l'analyse suivante

Différents niveaux de réponse

- 1- Protection du consommateur
- 2- Prévision des événements
- 3- Protection du cheptel et/ou du revenu

Protection du Consommateur

- Le « défi » transversal aura pour objectifs :
- le développement de tests alternatifs au test souris
 - la « veille » sur les nouvelles espèces et toxines identifiées dans le monde – mise au point des méthodes
 - Le transfert (scientifique et technique) des méthodologies au réseau de surveillance RePHY

Cette opération doit être menée en étroite collaboration avec le LNR-Biotoxines/AFSSA afin de :

- participer à la validation de tests alternatifs au test souris
- améliorer la réactivité et l'appui scientifique et technique aux instances nationales
- contribuer à la résolution des problèmes de sécurité sanitaire des prod. de la mer (F, UE)

- Les premiers objectifs à court terme de ce volet du programme sont de :
- participer à la validation de tests alternatifs au test souris
 - développer des méthodes de détection des espèces toxiques dans le milieu
 - valider les méthodes d'analyse chimique nécessaires aux études expérimentales de décontamination
 - mettre en place une base de données européenne sur les espèces toxiques (Réseau d'expertise)
 - d'assurer le soutien au REPHY par transfert de méthodes, études « terrain » et une contribution à l'analyse rétrospective des crises en vue d'optimiser la stratégie de prélèvement.

Ce niveau est essentiel car une réponse de premier niveau permet d'apporter des réponses utiles (sécurité alimentaire / image produit) même quand la connaissance de l'espèce n'est pas suffisante pour établir des schémas de prévision.

PREVISION

- Objet ALTOX : Comprendre suffisamment pour prévoir
- Quand ? Jusqu'à quand ? Quelle toxicité ? (ordre de priorité et faisabilité)
- Comment ? : Océanographie Opérationnelle
Dynamique de population ≠ Dynamique biomasse
- 2 cas :
 - Thau et Penzé – *Alexandrium* - mesures *in situ* des conditions d'ouverture de la niche – en cours – faisabilité-validation des schémas – application – Ino, Capt spécifiques
 - Façades – mise en place de schémas opérationnels basés principalement sur la physique (température, lumière, cisaillement pour *K. mikimotoi* & température, structures de rétention temporaires pour *Dinophysis*)
- Action de la responsabilité des professionnels

Mesures de sauvegarde

Contre-mesures possibles mais trop coûteuses sans prévision
Station pilote de Bouin // essais à Leucate (Dec. 2005) // projet Thau avec SRCM

Deux types de réponses :

- En cas de préavis d'événement : Procédures de sauvegarde des coquillages en bassins insubmersibles avec ou sans apport de nourriture : expériences et cahier méthodologique à réaliser avec les professionnels.
- En cas de contamination : sur la base des résultats expérimentaux, mise au point d'une unité pilote de détoxification à fins de démonstration de la faisabilité du procédé, estimation des coûts, démonstration et conseil aux professionnels. Le transfert aux professionnels d'expériences de laboratoire doit obligatoirement passer par une échelle pilote.

Les procédés de détoxification 'à terre' (en bassins) des coquillages contaminés n'ont d'intérêt que si :

- i) le procédé utilisé est reproductible et efficace,
- ii) l'investissement consenti par le(s) producteur(s) est rentable à moyen terme,
- iii) si les réglementations l'autorisent.

Dans la mesure où les conditions réglementaires de recours à des systèmes de détoxification seront clairement définies et où les coûts du « process » à différentes échelles de regroupement seront évalués, il conviendra de faire une évaluation économique des périodes d'interdiction de commercialisation

Autres contre-mesures

- Coquillages de pêcheries
 - Gestion alternative des pêcheries
Analyse (à conduire) tenant compte de l'état des stocks et des pratiques
 - Eviscération des coquillages
- Crevettes et poissons d'élevage :
(dossier à instruire)

INTEGRATION LOCALE

- Les LER :
points d'applications &
interfaces de communication indispensables
- Exemples :
 - Arcachon
 - Sète (Thau et Salses - Leucate)
 - Baie de Seine

ORGANISATION ACTUELLE

- > Un bureau restreint provisoire composé de
 - Amzil, Beliaeff (soutien surveillance)
 - Gentien, Fiandrino (prévision)
 - Baud, Lassus (préservation)
 - Lazure, Legrand (Thème 6, OCO) Opérationnel
 - 1 chef de LER par façade
 - + DEM (à définir)
 - + Thème 4 (à définir)
- > Échéance mi-avril pour document de programme
- > Harmonisation des propositions d'études 2006 avec les différentes équipes de l'Ifremer

Grille d'analyse économique des crises environnementales

	PERTURBATIONS ENVIRON.	REPONSES DES ACTEURS	COÛTS (-) / BÉNÉFICES (+)
Court terme	ponctuelles	administration <ul style="list-style-type: none"> → Réglementation temporaire (arrêts d'activités) → compensation (gestion crises)..... 	(-) voir coûts liés au respect de la réglementation (-) dégradation de l'image du produit (+) indemnisations, subventions
		consommateurs <ul style="list-style-type: none"> → arrêts de consommation/effets de substitution..... 	
		professionnels <ul style="list-style-type: none"> → aucune..... → modification adaptatives des stratégies de production }..... 	(-) pertes de revenu (-) problèmes de trésorerie (-) chômage technique..... (+) surcoûts d'exploitation (+) manque à gagner évités
Long et moyen terme	récurrentes ou permanentes	administration <ul style="list-style-type: none"> → Modifications réglementaires..... → Mécanismes financiers { <ul style="list-style-type: none"> - financement de programmes de recherche - aides à l'innovation 	(-) voir coût de la mise en œuvre des dispositifs d'adaptation (+) restauration potentielle de la sécurité du produit (+) subventions
		consommateurs <ul style="list-style-type: none"> → arrêts de consommation/effets de substitution..... → variation du consentement à payer..... 	
		professionnels <ul style="list-style-type: none"> → Dispositifs techniques { <ul style="list-style-type: none"> - zones refuge - basses de détoxication, etc. → Dispositifs financiers { <ul style="list-style-type: none"> - fonds de garantie - assurance 	(+) gains de productivité (+) investissements (+) remboursement des impacts (+) cotisations

La détoxification PSP : mythe ou réalité ?

Projet européen
« SHELLFISH »

EU Project QLK1 - CT - 2002 - 72076

mercredi 8 mars 2006

www.ifremer.fr

OBJECTIFS :

- Décontaminer des huîtres creuses et des palourdes pour abaisser leur contenu toxique de 200 à moins de 80 µg eq STX 100g⁻¹ en 4 à 5 jours.
- Développer un système industriel susceptible d'atteindre cet objectif à moindre coût

mercredi 8 mars 2006

www.ifremer.fr

PARTENAIRES

A	IDEE COM	France	Ingénierie aquacole
A	MARILIM	Allemagne	Biologie Marine
A	Atlantic Shellfish	Irlande	Ostréiculteur
A	TST	Espagne	Consultant aquacole
A	BlueBiotech	Allemagne	Algoculteur
A	Larrieu	France	Conchyliculteur
A	GORO	Italie	Conchyliculteur
B	IFREMER	France	Institut de Recherche
B	INTEGRIN	Ecosse	Biotechnologies
B	Systemia	France	Ingeniérie. logiciels

mercredi 8 mars 2006

www.ifremer.fr

ETAPES DU PROJET (2003 - 2004)

- Analyse fonctionnelle (2003)
- Modules expérimentaux (2003-2004)
- Pilote industriel (2004)
- Validation (2004)

mercredi 8 mars 2006

www.ifremer.fr

Analyse fonctionnelle

- 75% des industriels interrogés ont déjà été confrontés à du PSP et 100 % estiment qu'ils seront confrontés tôt ou tard
- Le système proposé convient aux besoins exprimés à condition que sa capacité soit de 0.5 à 5 tonnes pour une durée max. de détoxification de 4 jours et un investissement temps n'excédant pas 1H par jour
- Les coûts ne devraient pas excéder 0.03 à 0.6 € par Kg et 0.03 à 3 € par Kg respectivement pour les huîtres et les palourdes

mercredi 8 mars 2006

www.ifremer.fr

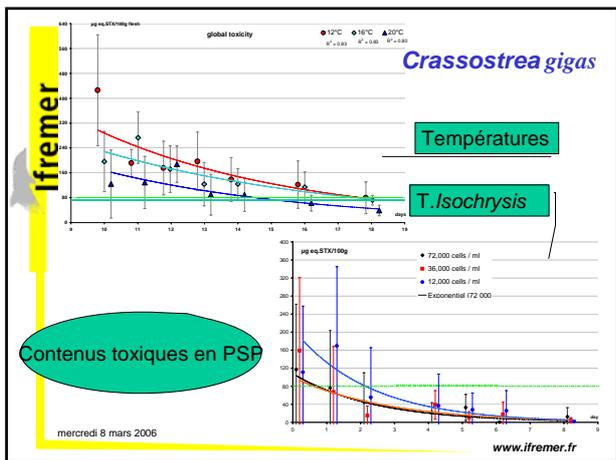
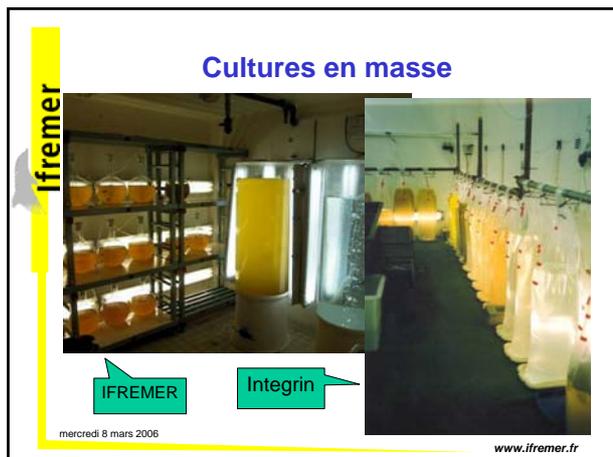
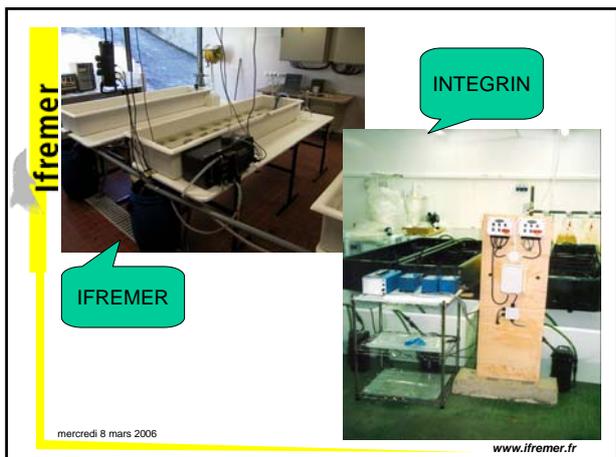
MODULES EXPERIMENTAUX

- IFREMER Nantes (*Crassostrea gigas*)
- Températures (12, 16 et 20°C) / T *Isochrysis*
- Concentration algale (0.5 - 1.20 et 2.0 mg l-1 TPM) / T. *Isochrysis*
- Culture / pâte de *Skeletonema*
- Integrin Barcaldine (*Tapes decussatus*)
- Concentration algale (0.5 - 1.20 et 2.0 mg l-1 TPM) / T. *Isochrysis*

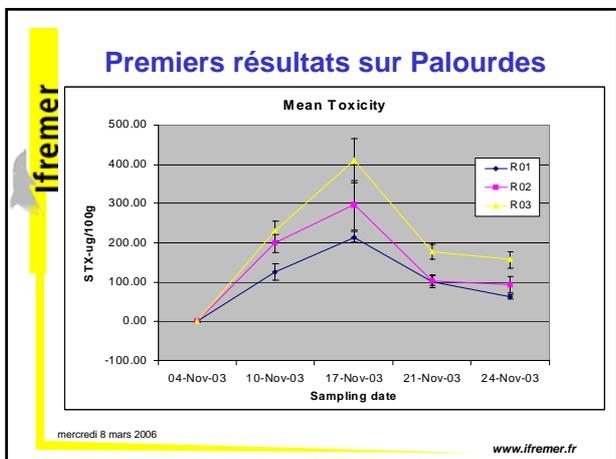
Contamination toujours effectuée avec *A.minutum*, 200 à 300 cellules ml-1

mercredi 8 mars 2006

www.ifremer.fr



- Résultats sur les huîtres
- On peut atteindre les 200 à 300 µg eq STX requis avec 10 jours de contamination par *A.minutum* mais avec une variation individuelle élevée
 - Il n'y a pas de différences significatives entre les trois concentrations de T.ISO testées, mais une différence significative entre 12 et 16 ou 12 et 20 °C
 - Une température de 16°C et une concentration algale permettant d'obtenir 1.20 mg l-1 TPM sont retenues pour les essais suivants
- mercredi 8 mars 2006
- www.ifremer.fr



- Premiers résultats sur Palourdes
- Pas d'influence de la densité en palourdes sur la consommation de T.ISO aux valeurs de 1, 2.5 et 4 Kg / 100 L
 - Augmentation globale de NH4 et NO2 mais sans effet sur le taux de filtration et la consommation des palourdes
 - Avec 36 000 cellules ml⁻¹ de T.Iso l'abattement en toxicité est de 65 % en 4 jours. Cette concentration (# 1.20 mg l⁻¹ TPM) est donc retenue.
- mercredi 8 mars 2006
- www.ifremer.fr

Traitement des données

- Le temps nécessaire à la détoxification ($t = 0.91 \cdot k$) est directement lié à la pente de la fonction exponentielle de premier ordre qui décrit la détoxification
- Appliqué aux résultats obtenus sur huîtres et palourdes, il apparaît que le temps nécessaire (entre 3 et 5 jours) est peu différent du modèle de référence

mercredi 8 mars 2006 www.ifremer.fr

Pilote pré-industriel : schéma général

séries de bacs plastiques de 550 à 670 L (pallox) de capacité, montés en série

mercredi 8 mars 2006 www.ifremer.fr

Éléments du prototype industriel

Annexe I : détails d'un bac de stockage.
À droite se trouve l'arrivée d'eau tandis qu'à gauche on voit l'arrivée d'air. Les débits des deux fluides sont régulés par les vannes d'ouverture/fermeture.

Annexe II : vue globale de tout le système.
À gauche se trouvent les quatre bacs de stockage, au fond les deux bacs tampons et le bac technique, à droite les deux ordinateurs, le filtre biologique (en rouge) et le bac à phytoplancton (en blanc).

mercredi 8 mars 2006 www.ifremer.fr

Interface Homme - machine

Mesure des paramètres (1-8); boutons de contrôle (9-17); seuils maximaux des paramètres (18-22); informations diverses (23-28)

mercredi 8 mars 2006 www.ifremer.fr

Contraintes du pilote pré-industriel

- Eviter l'augmentation du taux d'ammoniacque dans le circuit (filtre biologique suffisant)
- Vérifier que l'injecteur de phytoplancton à membrane ne détériore pas les algues
- Vérifier l'efficacité du circuit de récupération des biodépôts et de sédimentation
- Utiliser des pâtes d'algue pour réduire les coûts, la maintenance et l'indisponibilité
- Ne pas dépasser des coûts opérationnels de 0.03 à 3€ par Kg

mercredi 8 mars 2006 www.ifremer.fr

Options de validation du prototype :

Paniers d'huîtres sur tables

Contamination PSP *in situ* lors de blooms dans la crique de l'Angle : paniers expérimentaux ou tables d'industriels. Quantités visées : 100 à 500 Kg. Essais en 2003

mercredi 8 mars 2006 www.ifremer.fr

Options de validation du prototype :

Pas de contamination des huîtres en 2004
Etat physiologique des moules interférant avec le processus de décontamination
Trop faibles quantités de palourdes récupérées et résultats non probants

mercredi 8 mars 2006 www.ifremer.fr

Résultats provisoires sur les palourdes

- Un lot s'est décontaminé en 5 jours de 270 à 150 µg eq STX .100g-1
- Un autre lot a commencé à se décontaminer puis est revenu à son niveau de toxicité initiale
- *Conclusions : résultats non probants réalisés sur 2 à 3 Kg de palourdes et avec un pilote non encore opérationnel pour ce qui concernait le contrôle de l'apport de nourriture*

mercredi 8 mars 2006 www.ifremer.fr

Test de la fiabilité du système avec des coquillages non contaminés

relation entre la mortalité et les concentrations de NO₂- et NH₄+ (première manipulation)
relation entre la mortalité et les concentrations de NO₂- et NH₄+ (seconde manipulation)

Charge : 150 Kg
Charge : 50 Kg

mercredi 8 mars 2006 www.ifremer.fr

Résultats satisfaisants

- Mortalité d'environ 16 % pour 150 kg d'huîtres (état moyen des individus) et de moins de 2 % pour 50 Kg
- Pour 50 Kg d'huîtres triploïdes, stabilisation de la production d'NH₄ à 16 µAtg.L-1
- Bonne relation comptages cellulaires / fluorescence avec *S. costatum* vivant (mais niveau de détection insuffisant pour la pâte d'algue)
- Biométrie : pas d'évolution significative du poids sec individuel moyen en 6 jours

mercredi 8 mars 2006 www.ifremer.fr

Améliorations souhaitables

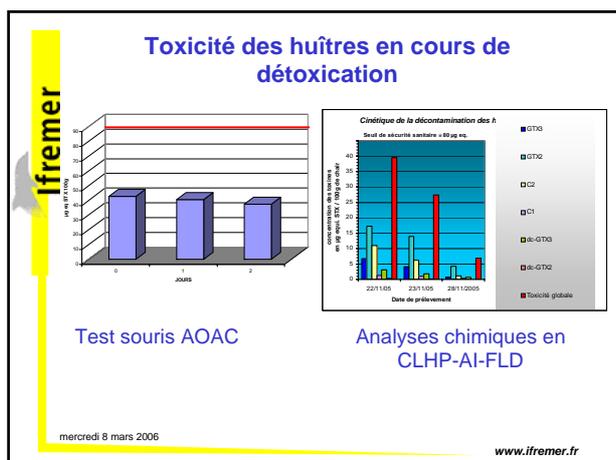
- Vidange des bacs / aspiration des biodépôts
- Charge maximale tolérable sans doute < 150 Kg
- Positionner autrement le débitmètre
- Adapter la régulation thermique
- Charger le filtre biologique 40 jours avant essai
- Contrôler le suivi de la teneur en pâte d'algue avec un spectrophotomètre plutôt qu'un fluorimètre
- Revoir le système de régulation du débit de la pompe péristaltique par la consigne affichée

mercredi 8 mars 2006 www.ifremer.fr

Validation sur 50 Kg d'huîtres contaminées PSP

Vue générale du bloc expérimental
Croissance et toxicité d'*Alexandrium minutum* en skobalites de 310 L

mercredi 8 mars 2006 www.ifremer.fr



- ### Conclusions
- Un abattement de 60 % de toxicité en moins de 6 jours est bien obtenu MAIS...
 - Les faibles quantités de toxines accumulées permettent difficilement d'extrapoler aux valeurs prévues dans le cahier des charges
 - La maîtrise des cultures en masse d'algues toxiques (biomasse ET toxicité) reste la condition majeure des études de détoxification si on veut rester indépendant des contaminations naturelles
- mercredi 8 mars 2006 www.ifremer.fr



BIOTOX

Development of cost effective tools for risk management and traceability systems for marine biotoxins in seafood

Claire MARCAILLOU



Claire Marcaillou Journées REPHY 2006 2



BIOTOX

- ❖ 6^{ème} PCRD : Food Quality and Safety
- ❖ STREP : Specific Targeted Research (or innovation) Project (aidé à 50%)
- ❖ Date de la signature : 1^{er} janvier 2005
- ❖ Coût total : 5 317 496 euros

Claire Marcaillou Journées REPHY 2006 2



Objectifs

Cibles

- ❖ AO
- ❖ DTXs
- ❖ PTXs
- ❖ YTXs
- ❖ AZAs

- 1 Développer et valider des méthodes analytiques et alternatives
- 2 Développer des outils d'alerte : détection précoce des algues/des toxines
- 3 Développer une méthode de décontamination
- 4 Mettre en place une stratégie de contrôle des procédures (HACCP)

Claire Marcaillou Journées REPHY 2006 3



Organisation

- ❖ 9 unités fonctionnelles (WP)
- ❖ 12 participants
 - Pays Bas (RIVO, RIKILT)
 - Irlande (MI, Univ. College, Food Safety Authority, [Oyster Creek Seafoods Limited](#))
 - Norvège (Norv. School, Veterinary Inst., [Biosense](#))
 - Belgique (Inst. Santé Publique)
 - Italie (Univ. Modène)
 - France (IFREMER)

Claire Marcaillou Journées REPHY 2006 4



WP 1, 10, 8

Activités transversales

- WP 1 Coordination du projet (J. De Boer, Pays Bas)
- WP10 Diffusion / Valorisation/communication
- WP 8 Analyse de risques - Etude des points critiques -Traçabilité - Gestion du risque

Claire Marcaillou Journées REPHY 2006 5



WP 2, 3, 4

Développement méthodologique

Méthode de référence	Essais biochimiques	Essai fonctionnel
LC/MS multitoxine Performance des paramètres Effet matrice Validation	Elisa Récept. protéique (PP2A) Kit de détection rapide monotoxine Biocapteur	Résistance électrique trans épithéliale YTX ; AZA

Claire Marcaillou Journées REPHY 2006 6



WP 5

Validation des méthodes

- ❖ Préparation matériel toxique (standard, échantillons naturels)
- ❖ Homogénéité et stabilité
- ❖ Protocole de validation
- ❖ Traitement statistique
- ❖ Standardisation

Claire Marcaillou Journées REPHY 2006 7



WP 6

Faisabilité – matériel de référence

- ❖ Choix d'une méthode de préservation
- Collecte du matériel
- ❖ Evaluation de l'homogénéité et stabilité
- ❖ Faisabilité d'un protocole
- ❖ Essai interlaboratoire

Claire Marcaillou Journées REPHY 2006 8



WP 7

Outils d'alerte

- ❖ Détection *Protoceratium reticulatum* (YTX)
- ❖ Performance des échantillonneurs passifs

Claire Marcaillou Journées REPHY 2006 9



WP 9

Décontamination

- ❖ Effet de la nourriture sur la détoxification
- ❖ Faisabilité à l'échelle professionnelle

Claire Marcaillou Journées REPHY 2006 10



Collaboration

- ❖ Autres projets
 - BIOTOXmarin
 - DETECTOX
- ❖ Recouvrement souhaité (YTX, cultures, mise au point d'essais...)
- ❖ Aide à la collection de matériel toxique
- ❖ Partage du matériel purifié pour essais biologiques

Claire Marcaillou Journées REPHY 2006 11

Biocapteurs de détection d'algues toxiques en milieu marin

HAB - SEACHIP

1

Objectifs

Réalisation d'un biocapteur sensible au niveau des seuils d'alerte fixés pour les micro-algues posant problème dans le secteur économique lié à l'exploitation aquacole.

- Simplification de l'identification des espèces produisant des phycotoxines responsables d'intoxications alimentaires graves
- Mesure automatisée, en temps réel, *in-situ*
- Quantification

➡ Apport considérable dans la gestion des épisodes de toxicité

Objectifs 2

Partenaires

HAB - SEACHIP

3



Centre de Nantes, **Laboratoire Phytotoxines et Nuisances**
Centre de Brest, **PELAGOS**
Centre de Brest, **Service Interface et Capteurs**
Université Pierre et Marie Curie, **Laboratoire Interface et Système Electrochimique**
CEA, **Service de Biochimie post-génomique & Toxicologie Nucléaire (SBTN)**
INSA, **Plateforme Transcriptome - Biopuces**
Greiner Bio-one

4

Biopuces



ParoCheck®
1ère biopuce ADN pour la détection et l'identification de 20 bactéries pathogènes. Periodontologie.



CarnoCheck®
Puce ADN pour la détection des espèces animales dans les aliments.



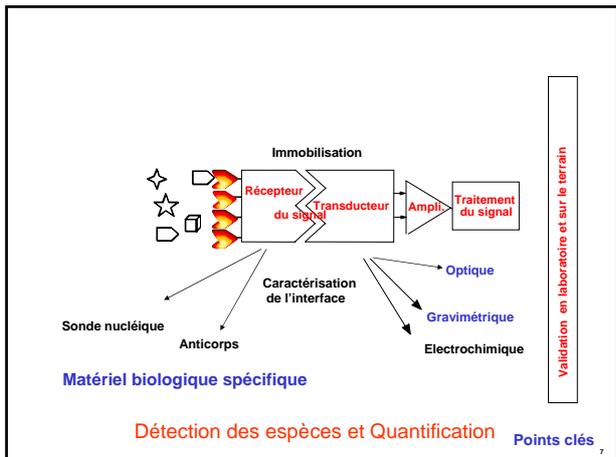
PapilloCheck®
Puce ADN pour l'identification de virus (types Papilloma).

5

Projet

HAB - SEACHIP

6



Tâche 1 : Développement de nouvelles sondes

Tâche 2 : Immobilisation des molécules biologiques et vérification de leur spécificité.

Tâche 3 : Augmentation de la sensibilité des techniques de détection

Tâche 4 : Validation des applications en milieu réel

Ifremer

Tâche 1 : Développement de nouvelles sondes

Sondes spécifiques de type ADN

4 marqueurs PCR à valider en tant que sondes pour Alexandrium

Amin2 5'-AGCACTGATGTGTAAGGGCT-3' *A. minutum*
 SCAR 674 *A. catenella*
 SCAR 566 - SCAR 712 *A. tamarense*

2 marqueurs PCR à valider en tant que sondes pour Dinophysis

Dino1 5'-TTGTGGCAGCAACCAATCCT-3' genre :
 Dacu1 5'-AACCCACAGCAAAGCTTGAGG-3' complexe *acuminata*

2 marqueurs PCR à valider en tant que sondes pour Karenia

Kare1 5'-CAGTATCGAATCCAGATCAA-3' *K. mikimotoi/breve*
 Kmiki1 5'-TCATGCAGAGCAGAAGATCG-3' *K. mikimotoi*

4 marqueurs PCR à valider en tant que sondes pour Pseudonitzschia

muD1 5'-ATGACTCACTTGCCA-3' *P. multiseriis*
 muD2 5'-AAGGCCACAGGGCCCAAGCC-3' *P. multiseriis/pseudodelicatissima*
 puD1 5'-ATGACTCACTTTACCA-3' *P. pungens*
 frD1 5'-AAAGACTATTCTACCCAG-3' *P. fraudulenta*
 SCAR 431, 731, 681 *P. calliantha*

Minimum de 5 sondes nucléiques par espèces

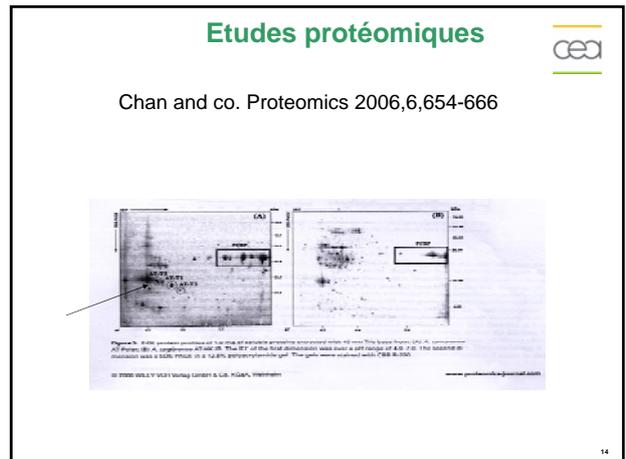
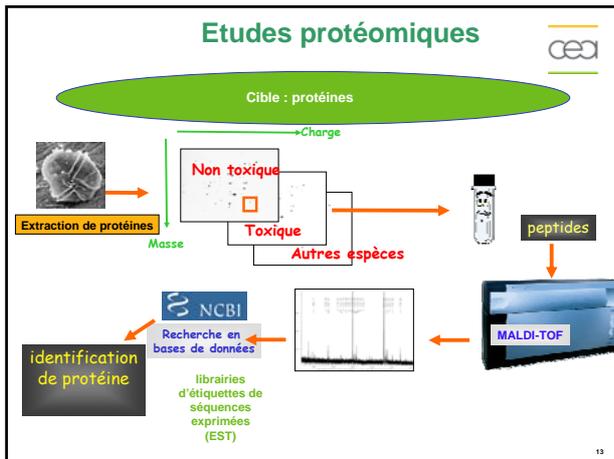
➔ Nécessité d'accroître le nombre de sondes spécifiques par espèce

Ifremer **cea**

Tâche 1 : Développement de nouvelles sondes

Sondes spécifiques de type anticorps

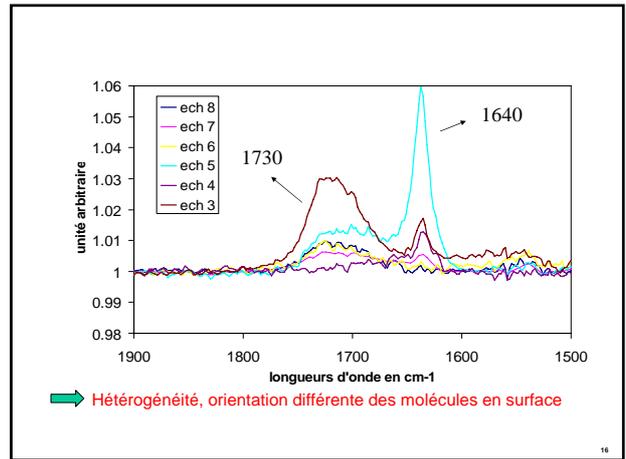
- La thèque d'algue comme immunogène
- Etude protéomique pour identification de protéines spécifiques



Tâche 2 : Immobilisation des molécules biologiques et vérification de leur spécificité.

- **Objectifs :** Optimiser l'étape d'immobilisation de la biomolécule
- Analyses des interfaces biomolécule / substrat après immobilisation :
 - par Spectroscopie Infra-rouge
 - Caractérisations chimiques et structurales des biomolécules immobilisées
 - Évaluation de l'orientation des biomolécules immobilisées
 - Quantification des biomolécules immobilisées marquées
 - Taux de recouvrement
- **Evaluation de la spécificité après fixation des biomolécules**

15



Dépôt de sondes

VersArray ChipWriter Pro BIO-RAD

PINS' DISPOSITION

SPOTS' DISPOSITION

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	M	Arad									
2	M	Arad									
3	M	Arad									
4	M	Arad									
5	M	Arad									
6	M	Arad									

18

Tâche 3 : Augmentation de la sensibilité des techniques de détection

18

Détection : Transduction gravimétrique

quartz piézo-électrique

Oscillation à 27 MHz

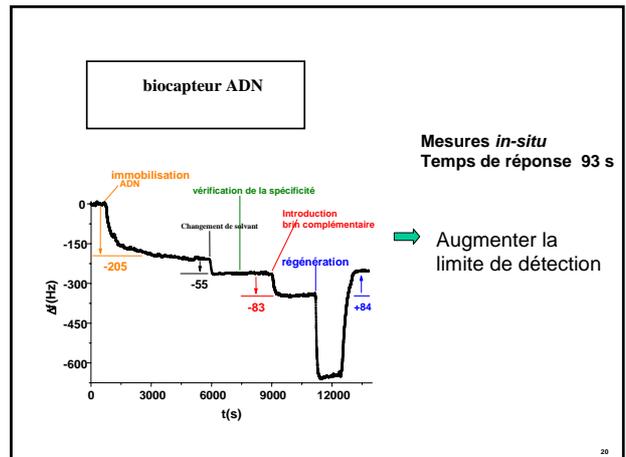
Microbalance à quartz

Volume 50 µl

$$\Delta f_m = -2.26 \cdot 10^{-6} \cdot \frac{f_0^2}{n} \times \frac{\Delta m}{A} = -k_g \times \Delta m$$

sensibilité = 350 pg/Hz
limite de détection qqs ng

oscillateur (1) régulation en température (2) cellule en plexiglas (3) pompe péristaltique (4) différentes solutions (5)



Tâche 4 : Validation des applications en milieu réel

Comparaison avec les méthodes classiques de détection

Etapes du Programme	Année 1	Année 2	Année 3
Tâche 1 : Préparation et caractérisation du matériel biologique			
1) Développement de nouvelles sondes		CEA + IFREMER	
- Identification de protéines spécifiques par protéomique			
- Production d'anticorps spécifiques			
2) Mise au point de conditions d'extraction de l'ADN à partir du phytoplancton en condition naturelles.	IFREMER		
3) Recherche de sondes oligonucléotidiques supplémentaires		INSA + IFREMER	
Tâche 2 : Immobilisation et vérification de la spécificité des molécules biologiques			
1) Immobilisation des anticorps spécifiques		IFREMER + CEA + GREINER BIO-ONE	
2) Immobilisation des sondes oligonucléotidiques. Production de biopuces.		IFREMER + INSA + GREINER BIO-ONE	
Hybridation des sondes nucléiques de l'algue sur la biopuce. Validation de leur spécificité.			

Etapes du Programme	Année 1	Année 2	Année 3
Tâche 3 : Révélation et détection			
1) Etude de la pré-amplification des séquences spécifiques	1) LISE + IFREMER		
2) Transfert du processus biopuce au biocapteur (fixation et détection)		INSA + GREINER BIO-ONE + IFREMER	
3) Amplification de la sensibilité du signal de détection	LISE + IFREMER		
- Couplage amplification PCR et détection microgravimétrique			
- Amélioration des dispositifs actuels			
- Développement système multi-détection			
Tâche 4 : Validation des applications en milieu réel			
Test pilote du biocapteur marin			INSA + IFREMER + LISE
- basé sur les hybridations diacides nucléiques obtenus à partir du phytoplancton en conditions naturelles			
- basé sur les interactions anticorps/antigènes			CEA + IFREMER + LISE

Définition d'indicateurs environnementaux liés au risque d'apparition d'algues toxiques à partir de données *in situ* et de modèles. Application aux blooms d'*Alexandrium* (et *Pseudo-nitzschia*). Projet FINAL Interreg NW.

Journées REPHY 7,8 mars 2006 – A. Chapelle – Ifremer/Dyneco

Forecasting Initiation of Blooms of Toxic Algae (FINAL) un projet Interreg IIBB NW

septembre 2005 - avril 2006 - juin 2008

3 partenaires : Ifremer (coordinateur), National University of Ireland, Galway, Scottish Association for Marine Science (SAMS)

FINAL – Le contexte

- Une aquaculture importante : Irlande : 50 Meuro/an
France: 300 Meuro/an
Ecosse : 35 MEuros.
- Des fermetures régulières liées à la contamination par des efflorescences d'algues toxiques.
- Un coût non négligeable de la surveillance.
- Une méconnaissance des conditions d'apparition de ces événements toxiques.



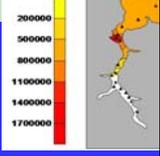

Evènements PSP Evènements ASP

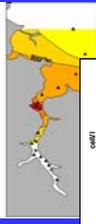
FINAL – Le contexte français

- Ifremer, Thème 2, programme DYSCO, projet ALTOX
- Suite du projet Icrew (interreg – Almin) qui s'est attaché à la compréhension des efflorescences toxiques d' *Alexandrium minutum* dans l'estuaire de Penzé (Bretagne Nord).

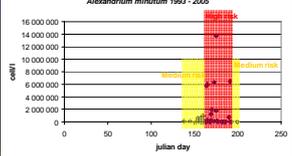


Alexandrium minutum
cells/litre





Alexandrium minutum 1993 - 2005



FINAL – Les objectifs

- Etablir un réseau de scientifiques et d'experts sur les algues toxiques et en particulier sur *Alexandrium* et *Pseudo-nitzschia* afin d'échanger, comparer et optimiser les approches de mesure, de traitement des données et de modélisation
- Evaluer des indicateurs environnementaux liés à l'apparition des algues toxiques par site et au niveau transnational à partir de données *in situ* et des sorties de modèle (3D)
- Mener des études pilotes dans chaque pays pour acquérir de nouvelles informations, mettre en place un système de monitoring et valider les modèles (Penzé, Shetlands, Cork)
- Mettre en place une stratégie d'alerte vis-à-vis des HAB, basée sur des indicateurs facilement mesurables ou modélisables en liaison avec les besoins des « end users » (réseaux de surveillance, conchyliculteurs, organismes d'état)..

FINAL – Le programme de travail

- Synthèse des données sur les efflorescences d'*Alexandrium* et définition de zones et de périodes à risque (au plan national et transnational). Analyse des fréquences d'apparition au niveau temporel et spatial et comparaison entre les 3 pays.
- Par site pilote, analyse détaillée des informations environnementales disponibles et liées à la présence d'*Alexandrium* : facteurs physiques (température, vent, ensoleillement, débits, stratification, ...), facteurs chimiques (concentrations en sels nutritifs, MES, paramètres du sédiment...) et facteurs biologiques (numération et biomasse planctonique, diversité).
Recherche de cas type de conjonction de facteurs favorables et utilisation d'outils statistiques. L'objectif de ces analyses est de définir des périodes à risques faibles, moyens ou forts pour chaque site.

Température	River flow	Insolation	Tide
>16°C	< 1,7 m ³ .s ⁻¹	>2500 J.cm ² for 8-10 days	<60

Facteurs de risque pour des efflorescences d'*Alexandrium* en Penzé

FINAL – Le programme de travail

- Suivi des paramètres *in situ* et par modélisation

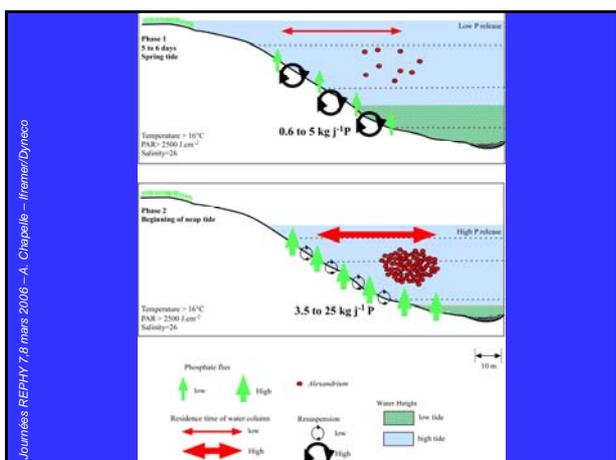
Etudes de terrain :

- ✓ compléter la recherche des paramètres liés aux blooms (être prêt à la mesure si bloom)
- ✓ mise en place d'un suivi à haute fréquence par des sondes pendant la période à risque (sonde eau et sonde météo)

Modélisation environnementale :

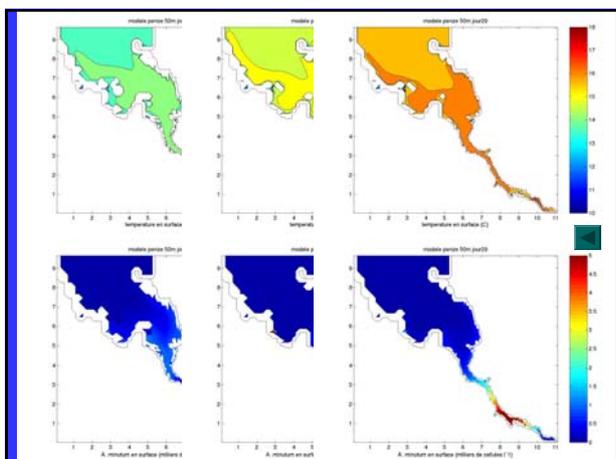
- ✓ utiliser un modèle hydro-sédimentaire pour estimer des paramètres liés à la structure physique (stratification,...) favorables aux blooms (modèle à calibrer et valider au préalable)
- ✓ coupler ce modèle à un modèle écologique (N,P,Z,D) pour tester également les facteurs favorables à l'initiation des blooms
- ✓ modéliser l'impact du sédiment

Définition d'indicateurs environnementaux liés au risque d'apparition d'algues toxiques à partir de données *in situ* et de modèles. Application aux blooms d'*Alexandrium* (et *Pseudo-nitzschia*). Projet FINAL Interreg NW.



FINAL – Le programme de travail

- Prédire et quantifier les blooms
Outil modèle écophysologique couplé au modèle 3D doit permettre de simuler la durée et l'extension et l'intensité des blooms)
Forte interactivité entre partenaires (modèle d'*Alexandrium* en France et Irlande, modèle de *Pseudo-nitzschia* en Ecosse)
- Proposer un schéma d'alerte des risques d'efflorescences toxiques
En relation avec les users et fondé sur la détermination et le suivi d'indicateurs par surveillance ou modélisation, proposer une grille de valeurs de ces paramètres pour l'alerte et la prévision de l'intensité des blooms



FINAL – les moyens

- Qui est impliqué en France ?
Ifremer Dyneco : laboratoire Pelagos (coordination, études *in situ*, modélisation écologique, détermination d'indicateurs)
Lab. Physed (modélisation hydrosédimentaire)
Lab Vigies (surveillance, approche statistique)
Ifremer LER : Concarneau, Saint-Malo, Port en Bessin, Sète : suivi des sites des Abers, de la Rance et de la Baie de Seine, Thau ...
End users : Rephy, conchyliculteurs, organismes d'état, élus
- Les coûts et recettes
Budget total de 1 154 367 euros 1/3 pour la France et 2/3 en recette.

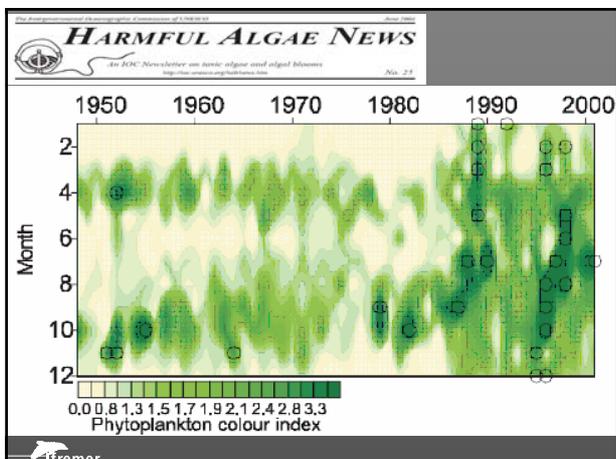
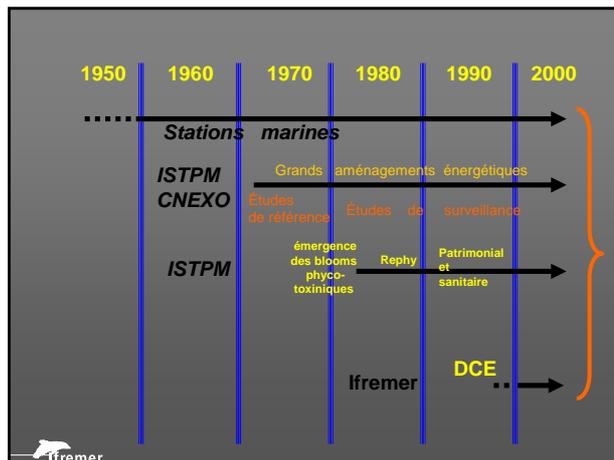
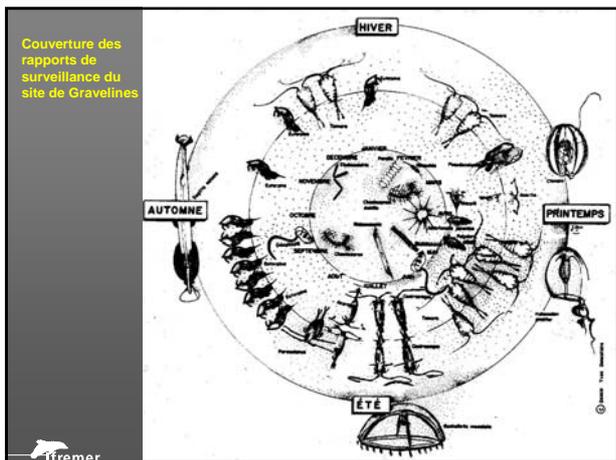
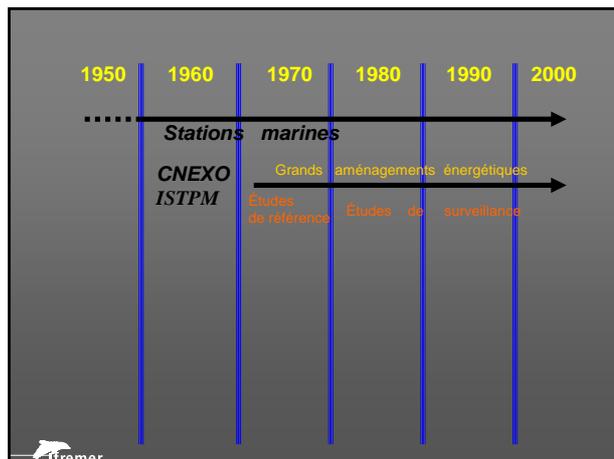
FINAL – les liens

- Démarche faite pour *Alexandrium* en Penzé, en Irlande et Ecosse
- Lien vers d'autres sites : *Alexandrium catenella* à Thau
- Lien vers d'autres HAB : *Pseudo-nitzschia* .

Session aspects patrimoniaux et DCE

Aspects patrimoniaux et DCE

**"petite" histoire de la surveillance
(phytoplanctonique)**

1 AG



Indicateurs phytoplancton pour la Directive Cadre sur l'Eau (DCE)

Journées RePHY Nantes
7 mars 2006



2 AG



Les éléments de qualité biologiques -> « la DCE »

- ◆ Classification de l'état écologique annexe V de la DCE
- ◆ Eaux de transition et eaux côtières
 - paramètres biologiques
 - composition, abondance et biomasse du phytoplancton
 - paramètres chimiques et physico-chimiques soutenant les paramètres biologiques
 - transparence, température, oxygène, salinité, concentration en nutriments

Journées RePHY Nantes
7 mars 2006



3 AG



Classification de l'état écologique -> « le très bon état pour la DCE »

- Composition et abondance des taxa correspondant aux conditions non perturbées
- Biomasse moyenne en rapport avec les conditions physico-chimiques caractéristiques et transparence caractéristique
- Efflorescence d'une fréquence et intensité qui correspondent aux conditions physico-chimiques caractéristiques

Journées RePHY Nantes
7 mars 2006



4 AG



Surveillance de l'état écologique --> « la DCE »

- Pour permettre la classification des masses d'eau en cinq classes
- en surveillant les paramètres qui sont indicatifs de l'état de chaque élément de qualité **pertinent**
- programme de contrôle de surveillance et programme de contrôles opérationnels

Journées RePHY Nantes
7 mars 2006



5 AG



Conception du contrôle de surveillance --> « la DCE »

- ◆ Les points : dans un nombre de masses d'eau suffisant
- ◆ La durée : 1 an sur le plan de gestion
(voire tous les 3 plans de gestion si l'état de la masse d'eau est bon et que rien n'indique que les incidences ont changé)
- ◆ La fréquence : niveau de confiance et de précision acceptable

Journées RePHY Nantes
7 mars 2006



6 AG



Le contrôle de surveillance français

- ◆ Les indicateurs retenus :
 - biomasse : la chlorophylle *a*
 - abondance : efflorescences phytoplanctoniques de toutes les espèces
 - composition : efflorescences phytoplanctoniques des espèces nuisibles
- ◆ **Applicables aux eaux côtières et aux eaux de transition hors estuaires turbides macrotidaux**

Journées RePHY Nantes
7 mars 2006



7 AG

Chlorophylle a

- ◆ tous les ans
 - sauf lagunes en TB ou mauvais état : 1/ 3 ans
- ◆ période productive
 - mars à octobre en NEA
 - année en Méd côtière
 - juin à août en lagune
- ◆ fréquence :
 - NEA : 1/15j
 - Méditerranée : 1/mois
- ◆ température
- ◆ salinité
- ◆ turbidité
- ◆ profils sur toute la colonne d'eau pour les sites de référence

Journées RePHY Nantes
7 mars 2006



8 AG

Classification de la biomasse

◆ Indicateur : percentile 90 sur 6 ans

Façade	Catégorie	Période prod.	Percentile 90 des données de chlorophylle a (µg/l)				
			très bon état	bon état	état moyen	état médiocre	état mauvais
Manche/Atlantique	MEC	03 - 10	0 - 5	5 - 10	10 - 20	20 - 40	> 40
Méditerranée (ouest Rhône)	MEC	01 - 12	0 - 2	2 - 4	4 - 8	8 - 16	> 16
Méditerranée (est Rhône + Corse)	MEC	01 - 12	0 - 1	1 - 2	2 - 4	4 - 8	> 8
Méditerranée	Lagunes (T10)	06 - 08	0 - 5	5 - 10	10 - 20	20 - 40	> 40

Journées RePHY Nantes
7 mars 2006



9 AG

Composition et abondance

- ◆ tous les ans
 - sauf lagunes en TB ou mauvais état : 1/ 3 ans
- ◆ période productive
 - mars à octobre en NEA
 - année en Méditerranée
- ◆ fréquence :
 - NEA : 1/15j
 - Méditerranée : 1/mois
- ◆ température
- ◆ salinité
- ◆ turbidité
- ◆ profils sur toute la colonne d'eau pour les sites de référence

Journées RePHY Nantes
7 mars 2006

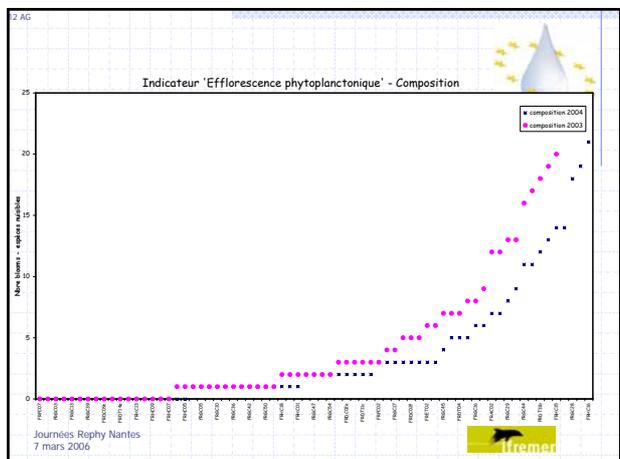
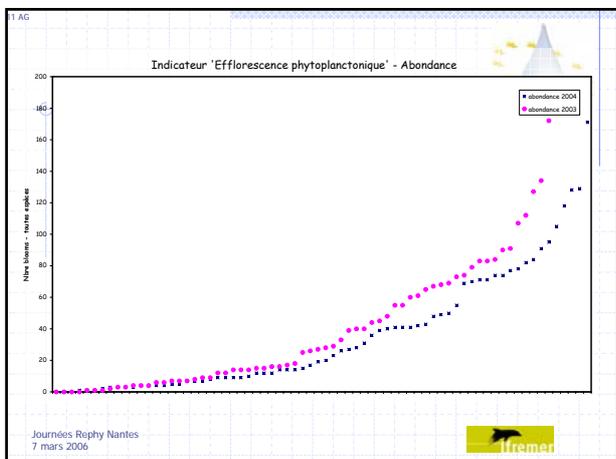


10 AG

Classification abondance et composition

- ◆ Indicateur : nombre moyen de blooms annuels
 - seuil : 100 000 cell/l pour l'abondance
 - seuil : 1 000 000 cell/l pour la composition
- ◆ Indicateur en lagunes : abondance maximale par classe de taille (limite à 3µm)

Journées RePHY Nantes
7 mars 2006

13 AG

Les conditions de référence



- ◆ celles du très bon état écologique
- ◆ pour chaque type de masse d'eau
- ◆ réseau de référence
 - nombre suffisant de sites en très bon état
 - Chla à la fréquence :
 - ◆ NEA : 1/15j [mars - octobre]
 - ◆ EC - Méd : 1/sem [janvier - juin] et 1/15j [juillet - décembre]
 - ◆ lagunes : 1/mois [juin - août]

Journées RePHY Nantes
7 mars 2006



14 AG

Abondance et composition :



- ◆ NEA : 1/15j [mars - octobre]
- ◆ EC - Méd : 1/sem [janvier - juin] et 1/15j [juillet - décembre]
- ◆ lagunes : 1/mois [année]

Journées RePHY Nantes
7 mars 2006



15 AG

Conclusions et perspectives



- ◆ Indicateurs : chlorophylle *a* par imagerie satellite
- ◆ Grilles de lecture :
 - Chla : en discussion aux GIG
 - flores : écartées par les GIG, grilles à établir pour la France
- ◆ paramètres accompagnateurs : pas de nutriments en France

Journées RePHY Nantes
7 mars 2006





Pour le calcul des indicateurs phytoplancton...

... en vue de la classification des masses d'eau, il faut prévoir

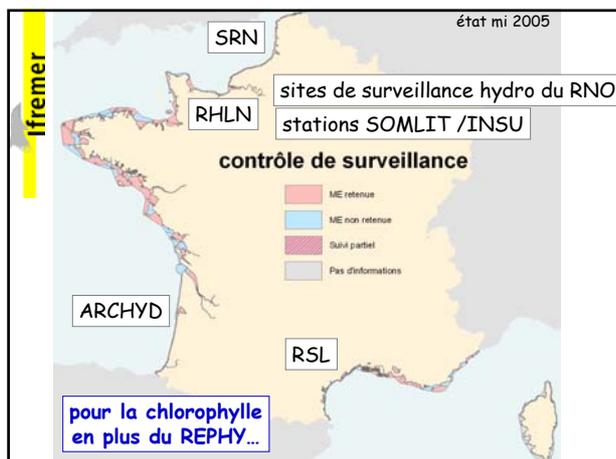
- des mesures de chlorophylle
- des observations de phytoplancton

sur les ME retenues pour le contrôle de surveillance

côtières en Manche Atlantique
côtières + lagunes en Méditerranée

→ 2007

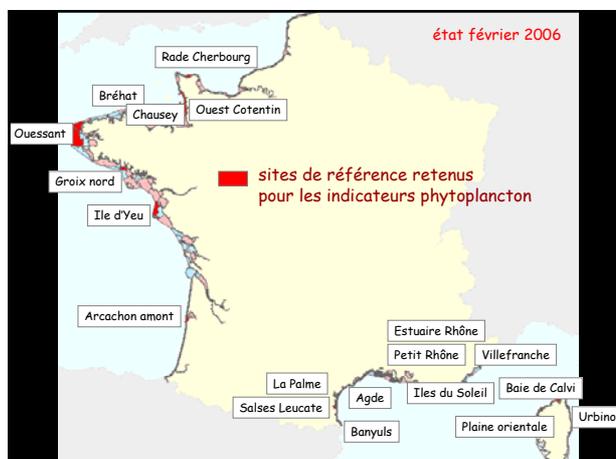
Catherine Belin, journées REPHY, mars 2006



En 2006, mise en place de la surveillance

- sur certaines masses d'eau
- pré-campagnes de mesures en Méditerranée
- sur les sites de référence

Catherine Belin, journées REPHY, mars 2006



Observations du phytoplancton

- **contrainte : ne pas augmenter les observations de phytoplancton de type Flores Totales**

↓

création de la **Flore Partielle Indicatrice**

Catherine Belin, journées REPHY, mars 2006

Flore Partielle Indicatrice

- **Rappel indicateurs pour le phytoplancton**
 - **abondance** : blooms toutes espèces > **100 000**
 - **composition** : blooms nuisibles (toxiques ou nuisibles pour faune marine + indicatrices d'eutrophisation) > **1 million**
- **Flore Partielle Indicatrice =**
 - toutes espèces > 100 000 cellules par litre**
 - + espèces toxiques consommateurs (∇ la concentration)

- avec un double intérêt
 - ✓ calcul d'indicateurs de type DCE
 - ✓ sanitaire

Catherine Belin, journées REPHY, mars 2006

Existant en 2005

- ~ **30 points phytoplancton Flore Totale**
 - Flore Totale + chlorophylle
 - toute l'année, une fois par quinzaine
 - REPHY : France entière
 - SRN : Artois Picardie
- ~ **60 autres points phytoplancton**
 - Flore Partielle Indicatrice
 - chlorophylle dans certaines régions
 - surtout en Normandie (RHLN), un peu en Bretagne
 - toute l'année, une fois par quinzaine
- autres réseaux : chlorophylle
 - RNO, SRN, ARCHYD, RSL, etc

Catherine Belin, journées REPHY, mars 2006

A prévoir pour 2006 - 2007

- **utilisation des points REPHY existants**
 - FT : phyto + chloro
 - FPI : phyto, ajouter chloro si non fait
- **ME sans points REPHY existants**
 - si chloro faite par autres réseaux : ajouter phyto
 - sinon, création de points REPHY supplémentaires
- **sur les nouveaux points**
 - période d'échantillonnage adaptée
 - phyto (FPI) + chloro
- **oxygène à mesurer en plus**

Catherine Belin, journées REPHY, mars 2006

Conclusion

- **année 2006 : année charnière pour la mise en œuvre de la DCE...**
... et donc pour l'évolution des stratégies REPHY phytoplancton et chlorophylle
- **la DCE a permis un vrai rapprochement entre les réseaux de type hydrologie - phytoplancton**
- **perspectives : nouveaux outils**
 - cartes satellitaires pour la chlorophylle
 - analyse d'image pour le phytoplancton

Catherine Belin, journées REPHY, mars 2006

Mise en place de la DCE dans le bassin Loire-Bretagne

Surveillance du phytoplancton

ifremer

Journées REPHY, 7 et 8 Mars 2006, Ifremer Nantes.
Mise en place de la DCE dans le Bassin Loire-Bretagne, HJ, LER-MPL

Classement des masses d'eau : risque de non respect des objectifs environnementaux (RNROE)

ifremer

Journées REPHY, 7 et 8 Mars 2006, Ifremer Nantes.
Mise en place de la DCE dans le Bassin Loire-Bretagne, HJ, LER-MPL

Critères de choix des sites de référence

- Masses d'eau en « respect des objectifs » à l'horizon 2015
- Existence de données historiques
- Type de masse d'eau (si pertinent)

ifremer

Journées REPHY, 7 et 8 Mars 2006, Ifremer Nantes.
Mise en place de la DCE dans le Bassin Loire-Bretagne, HJ, LER-MPL

Sites de référence pour le phytoplancton

Hypothèse basse : thèse d'I. Gailhard

ifremer

Journées REPHY, 7 et 8 Mars 2006, Ifremer Nantes.
Mise en place de la DCE dans le Bassin Loire-Bretagne, HJ, LER-MPL

Sites de référence pour le phytoplancton

Hypothèse haute : un site par type de masse d'eau

ifremer

Journées REPHY, 7 et 8 Mars 2006, Ifremer Nantes.
Mise en place de la DCE dans le Bassin Loire-Bretagne, HJ, LER-MPL

Sites de référence pour le phytoplancton (2006)

Hypothèse intermédiaire

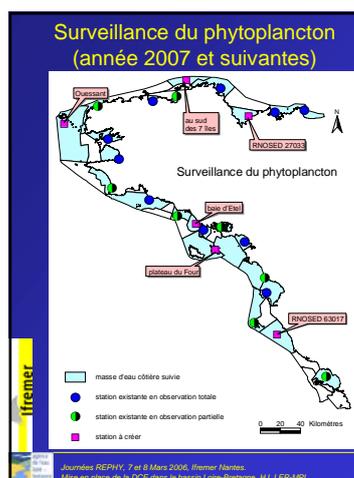
ifremer

Journées REPHY, 7 et 8 Mars 2006, Ifremer Nantes.
Mise en place de la DCE dans le Bassin Loire-Bretagne, HJ, LER-MPL

A créer : Ouessant

A passer en Flore Partielle Indicatrice

- Bréhat
- Groix
- Yeu



Première estimation des surcoûts DCE

- Sites de référence (2006) :
 ≃ 15 000 € HT
- Réseau de surveillance (année 2007 et suivantes) :
 ≃ 60 000 € HT en 2007
- Chiffres à affiner en 2006

Journées REPHY, 7 et 8 Mars 2006, Ifremer Nantes.
 Mise en place de la DCE dans le Bassin Loire-Bretagne, HJ, LER-MPL

Perspectives

- Optimisation de la surveillance et réduction des coûts

- Analyse de la cohérence entre données satellites et mesures in situ
- Validation du choix des points de surveillance DCE
- Meilleure représentativité des points

Journées REPHY, 7 et 8 Mars 2006, Ifremer Nantes.
 Mise en place de la DCE dans le Bassin Loire-Bretagne, HJ, LER-MPL

Ifremer

Mise en œuvre de la DCE

Phytoplancton

Cas des lagunes (masses d'eau de transition)

Thierry Laugier et Valérie Derolez

Journées REPHY, Nantes, mars 2006

Ifremer

- 42 masses d'eau de transition
 - 39 du type « lagune »
 - 1 du type « estuaire »
 - 2 du type « bras du Rhône »

Sites de REFERENCE

- sites en très bon état
- très peu impactés

Contrôle de SURVEILLANCE

- échantillon représentatif (14 masses d'eau lagunaires)
- suivi général et pérenne

Ifremer

Pour le calcul des indicateurs phytoplancton...

Les spécificités des lagunes

- très forte variabilité temporelle
- forte composante picophytoplanctonique
- nombreuses masses d'eau à surveiller

Journées REPHY, mars 2006

Ifremer

Pour le calcul des indicateurs phytoplancton...

Indicateur de biomasse

- des mesures de chlorophylle les 3 mois d'été

Journées REPHY, mars 2006

Ifremer

Pour le calcul des indicateurs phytoplancton...

Indicateur d'abondance et de composition

- Flore partielle indicatrice tous les mois et :
 - tous les ans pour les lagunes en état bon, moyen ou médiocre
 - tous les 3 ans pour les lagunes en très bon et mauvais état
- Cytométrie en flux
 - prise en compte de la composante picophytoplancton
 - 3 mois d'été

Journées REPHY, mars 2006

Ifremer

En 2006, démarrage...

- sur sites de référence
- sur certains sites soumis au contrôle de surveillance

	Masses d'eau	Fréquence chloro	Fréquence flore phytoplancton	Prélèvements
Référence	Salses-Leucate	1/mois de juin à août	1/mois	LER/LR
	La Palme	1/mois de juin à août	1/mois	LER/LR/Aqua Expert
	Bages-Sigean	1/mois de juin à août		LER/LR
	Grand Bagnas	1/mois de juin à août		LER/LR
	Thau	1/mois de juin à août	1/mois	LER/LR
	Or	1/mois de juin à août		LER/LR
	Palavasians Est	1/mois de juin à août		LER/LR
	Complexe Vaccarès	1/mois de juin à août		Réservé Camargue
	Berre - Grand Etang	1/mois de juin à août	1/mois	GIPREB
	Biguglia	1/mois de juin à août	1/mois	LER/PAC
	Orens	1/mois de juin à août	1/mois	LER/PAC
	Urbino	1/mois de juin à août	1/mois	LER/PAC
	Palo	1/mois de juin à août	1/mois	LER/PAC

 Références
 Points RSL

Journées REPHY, mars 2006

Evolution du suivi hydrologique dans le cadre de la mise en œuvre de la DCE

Anne Daniel - Ifremer Dyneco/Pelagos



Suivi hydrologique actuel

Nombre de réseaux	8 régionaux et nationaux
Temps agent	20 hommes/an
Recette (réseaux locaux)	400 000 €
Points de prélèvement	270 dont 40 sur estran ou digue
Données/ an	48400
physiques	24000
chlorophylle-a	5000
sels nutritifs	19400

- Journées REPHY 2006 -



Suivi hydrologique actuel



Réseau national REPHY

Paramètres hydrologiques = aide à l'interprétation des fluctuations phytoplanktoniques

- Journées REPHY 2006 -



Suivi hydrologique actuel



Réseau national REPHY

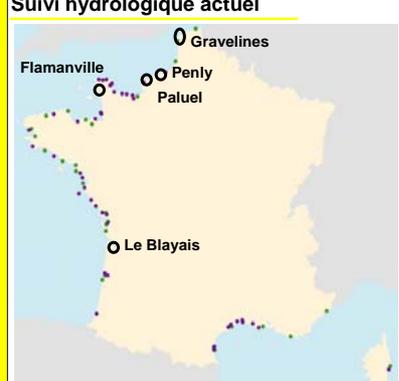
≈ 94 points
Tous les points :
- température,
- salinité
- turbidité
Points « flore totale » :
- chlorophylle-a

Fréquence min. : 2/mois
Prof : sub-surface

- Journées REPHY 2006 -



Suivi hydrologique actuel



Réseau national IGA hydrologie

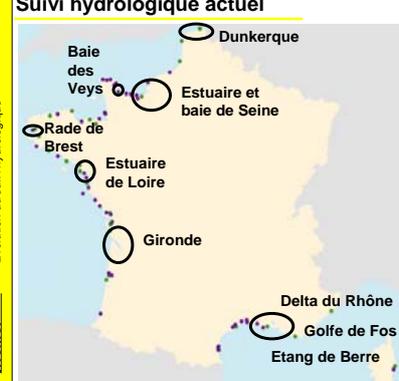
Impact sur le milieu des rejets d'eaux chaudes des centrales nucléaires

Sites : 5
Points : 3 à 4 points/site
Fréquence : 2 à 8 sorties/an
Paramètres : t°, salinité, MES, chlorophylle-a, COP/NOP, NO3, NO2, NH4, PO4, Si(OH)4
Profondeur : sub-surface, mi-profondeur, fond

- Journées REPHY 2006 -



Suivi hydrologique actuel



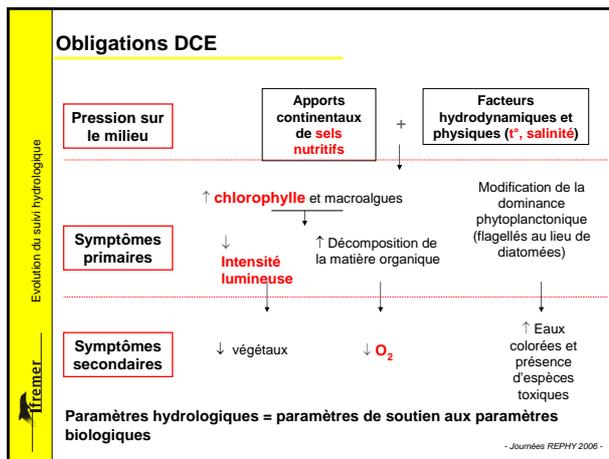
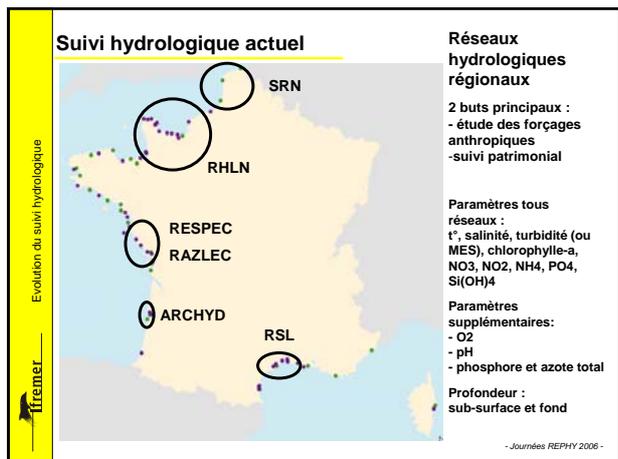
Réseau national RNO hydrologie
sous-traité aux CQEL

Evaluation des niveaux et des tendances de la qualité générale du milieu sur les principaux estuaires sensibles aux apports anthropiques

Sites : 7
Fréquence : 3 à 5 sorties/an en Manche-Atlantique
3 à 12 sorties/an Méditerranée
Paramètres : t°, salinité, MES, pH, chlorophylle-a, NO3, NO2, NH4, PO4, Si(OH)4
Profondeur : sub-surface et fond

- Journées REPHY 2006 -





Recommandation échantillonnage DCE

Mesures effectuées en sub-surface (et colonne d'eau), à PM +/- 2 h (ou midi), en dehors de la zone d'estran tous les ans

Site de surveillance	Paramètres	Période de suivi	Fréquence
Eaux côtières Manche Atlantique	Phytoplancton Chlorophylle-a Température, Salinité, Turbidité +O ₂	Mars - oct. Juin - sept.	1/quinzaine
Eaux côtières Manche Méditerranéennes	Phytoplancton Chlorophylle-a Température, Salinité, Turbidité +O ₂	année Juin - sept.	1/mois
Lagunes Méditerranéennes	Phytoplancton Température, Salinité, Turbidité + Chlorophylle-a et O ₂	année Juin - août	1/mois

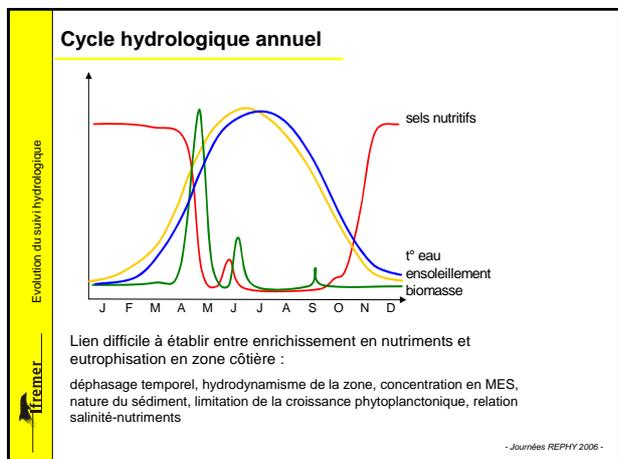
- Journées REPHY 2006 -

Nutriments

Site de contrôle opérationnel			
Paramètres	Période de suivi	Fréquence	Zone de prélèvement
ammonium, nitrate, nitrite, orthophosphate, orthosilicate	Nov - fév.	1/mois	Manche-Atl. : sub-surface, PM +/- 2h, en dehors zone estran
	Mars - octobre	1/quinzaine	Méditerranée : sub-surface et champs moyen Lagunes : sub-surface et au fond (>3m), avant midi et hors période de vent

Mesures effectuées simultanément aux mesures de phytoplancton, chlorophylle-a, t°, salinité, turbidité et O₂

- Journées REPHY 2006 -



Grilles DCE paramètres hydrologiques

Oxygène dissous		> 5,0 mg/L	3 – 5 mg/L	2 – 3 mg/L	1 – 2 mg/L	< 1 mg/L
Tous sites						
Chlorophylle-a		< 5 µg/L	5 – 10 µg/L	10 – 20 µg/L	20 – 40 µg/L	> 40 µg/L
Manche – Atl.						
Méd. Ouest Rhône		< 2 µg/L	2 – 4 µg/L	4 – 8 µg/L	8 – 16 µg/L	> 16 µg/L
Méd. Est Rhône		< 1 µg/L	1 – 2 µg/L	2 – 4 µg/L	4 – 8 µg/L	> 8 µg/L
Lagunes		< 5 µg/L	5 – 10 µg/L	10 – 20 µg/L	20 – 40 µg/L	> 40 µg/L

- Journées REPHY 2006 -

Techniques analytiques DCE

Mesures *in situ* : température, salinité, turbidité, oxygène dissous
-> métrologie suivant procédures nationales d'étalonnage et norme ISO 7027

Analyses de laboratoire : chlorophylle-a et nutriments
-> manuel hydrologie des écosystèmes marins
-> manuel analyse automatique des eaux marines (Aminot et Kérouel)

Tableau de limite de quantification et précision

Evolution du suivi hydrologique



- Journées REPHY 2006 -

Agrément / accréditation

Nouvel arrêté prévu courant 2006 pour les modalités d'agrément des organismes effectuant des prélèvements ou des analyses dans le domaine de l'eau

Procédure administrative = obtention de l'accréditation selon ISO 17025 puis agrément

Agrément prend autant en compte le prélèvement que l'analyse

Nombre de paramètres agréés de 1 à n

Au minimum 2 essais interlaboratoires par an

Rédaction par le COFRAC d'un programme spécifique en remplacement des programmes 100-1 et 100-2

Accréditation de l'ensemble des LER pour le prélèvement (prévision courant 2009)

Accréditation de l'ensemble des LER pour la chlorophylle-a et de 4 à 5 laboratoires pour les nutriments (prévision courant 2008)

Evolution du suivi hydrologique



- Journées REPHY 2006 -

Préleveur télécommandé



Etude menée par P. Bouquet et J-F Masset (TSI/DM)

en collaboration avec un partenaire allemand (projet Intermarec)

- étude de faisabilité (sept 05 -avril 06

- revue de projet avril 06

- construction 1er prototype mai-oct 06

- tests fin automne 06

= moyen de prélèvement complémentaire aux prélèvements bateaux

-> points estran ou digue

Evolution du suivi hydrologique



- Journées REPHY 2006 -

Utilisation de l'imagerie satellitaire pour la surveillance du phytoplancton et de son environnement
Francis Gohin, IFREMER DYNECO Brest

Journées REPHY 7-8 mars 2006, Nantes www.ifremer.fr

Les paramètres accessibles par la télédétection

- La Température de Surface
2 satellites NOAA avec des images jour et nuit
- Les quantités déduites de la Réflectance Spectrale Marine :
Chlorophylle de surface, Matières en suspension minérales, Substances jaunes et quantités dérivées (K_{par} , profondeur de Secchi, turbidité)
à partir de SeaWiFS, MODIS, MERIS : 1998 - aujourd'hui

Journées REPHY 7-8 mars 2006, Nantes www.ifremer.fr

Utilisation

- 1) Validation des modèles et forçage (lumière)
- 2) Suivi opérationnel de l'environnement du plateau continental
Le cadre GMES (Global Monitoring for Environment and Security)
→ programme MarCoast de l'Agence Spatiale Européenne
→ La DCE
→ Le RHLN et l'AESN
Le Golfe de Gascogne et l'AELB
La Méditerranée

Journées REPHY 7-8 mars 2006, Nantes www.ifremer.fr

La méthode

- Chlorophylle estimée à partir d'une table de correspondance :
Réflectance dans le bleu (412 nm), le vert (555 nm) et le rapport Bleu/Vert dit OC4 → Chl
(Int. Journ. of Remote Sensing, 2002)
- Matières en suspension minérales estimées à partir des réflectances à 555 et 670 nm
prenant en compte l'effet attendu du phytoplancton associé à la chlorophylle de surface précédemment estimée
(Remote Sensing of Environment, 2005)

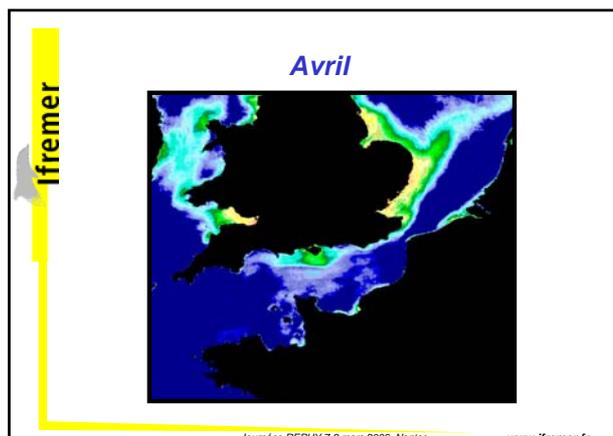
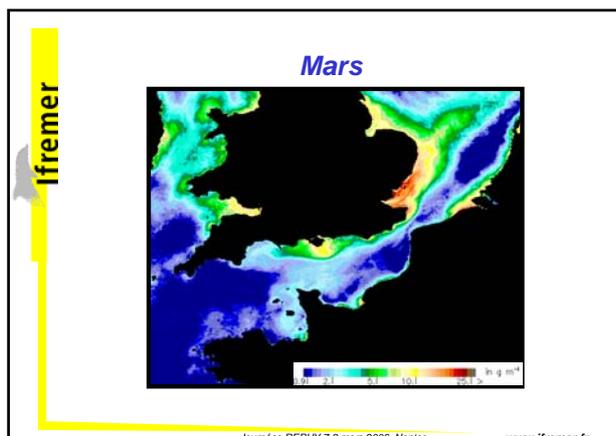
Journées REPHY 7-8 mars 2006, Nantes www.ifremer.fr

Les Matières en Suspension Minérales en Manche
Moyennes Mensuelles

Journées REPHY 7-8 mars 2006, Nantes www.ifremer.fr

Février

Journées REPHY 7-8 mars 2006, Nantes www.ifremer.fr

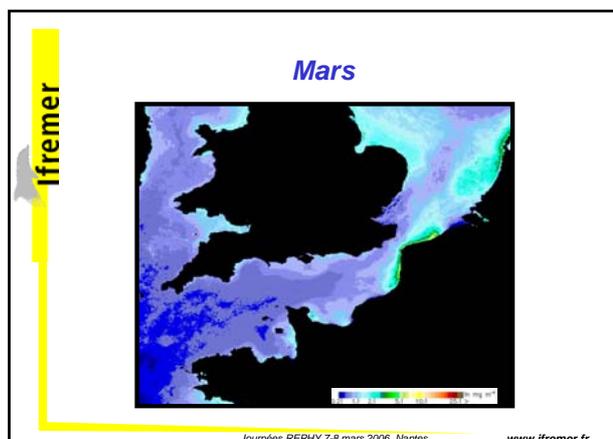
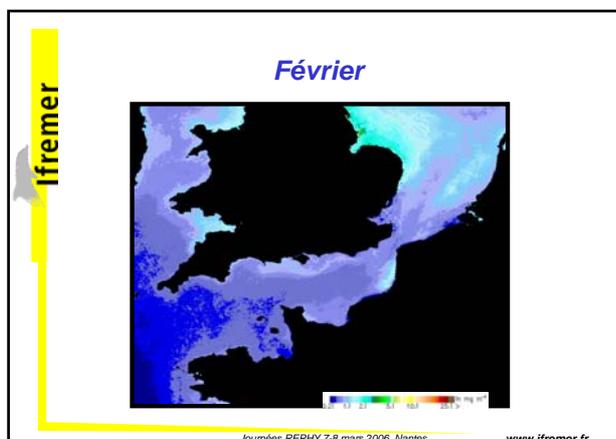
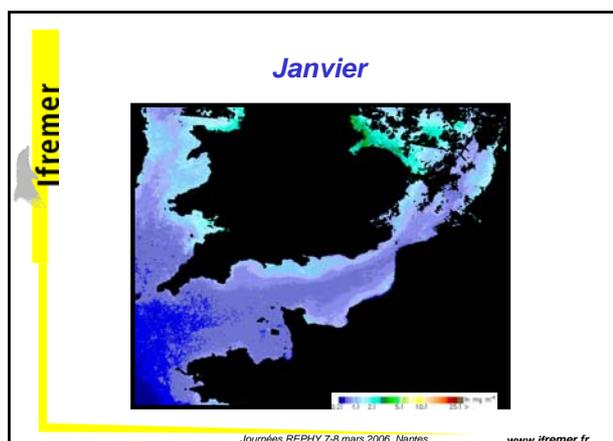


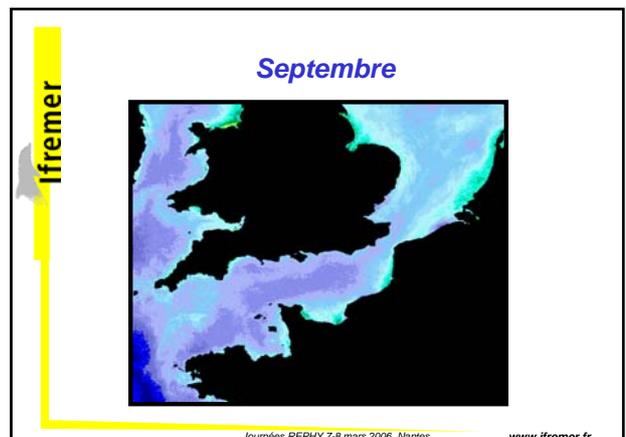
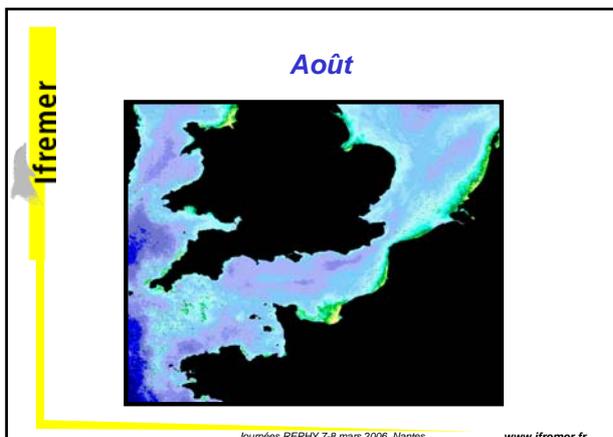
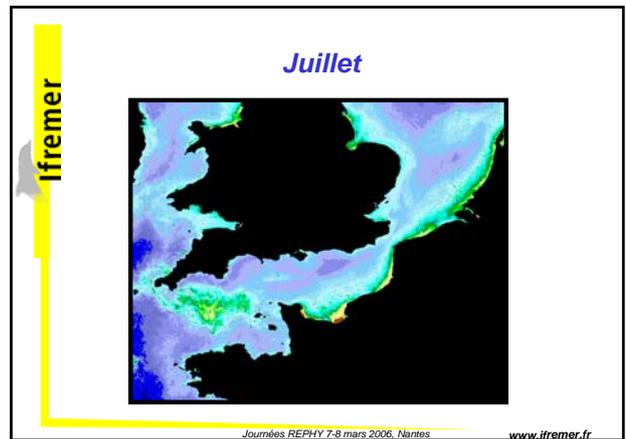
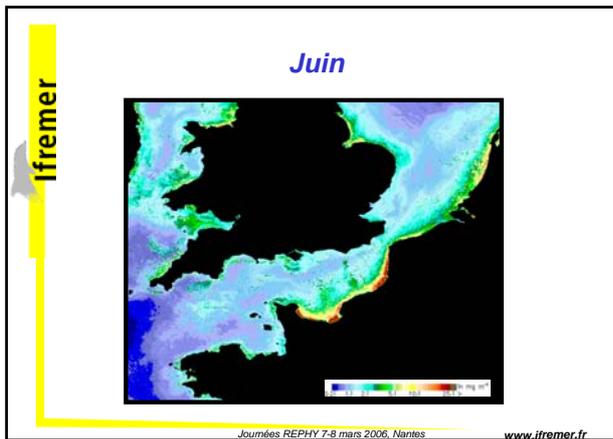
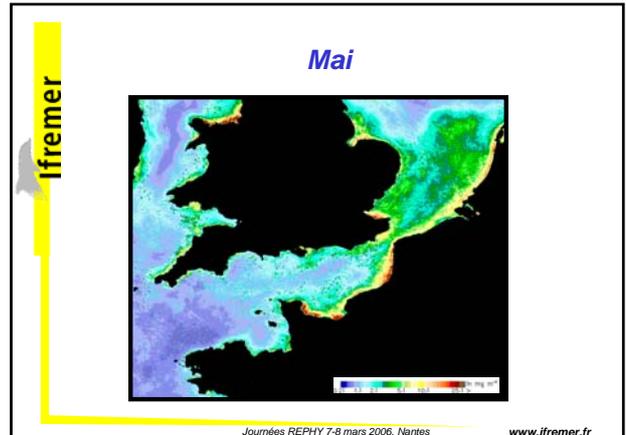
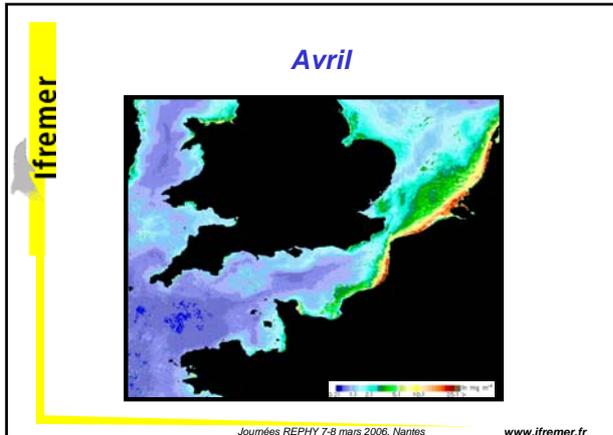
La chlorophylle en surface en Manche

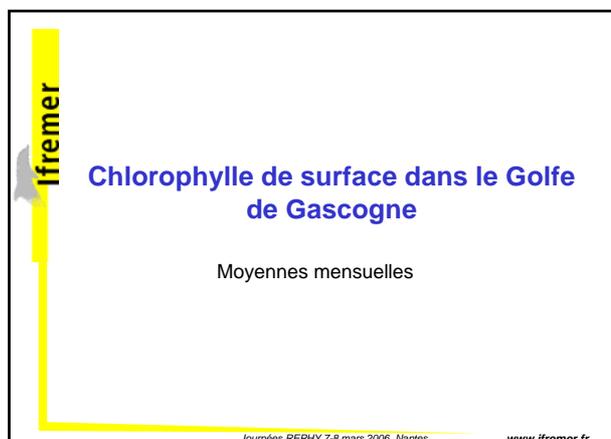
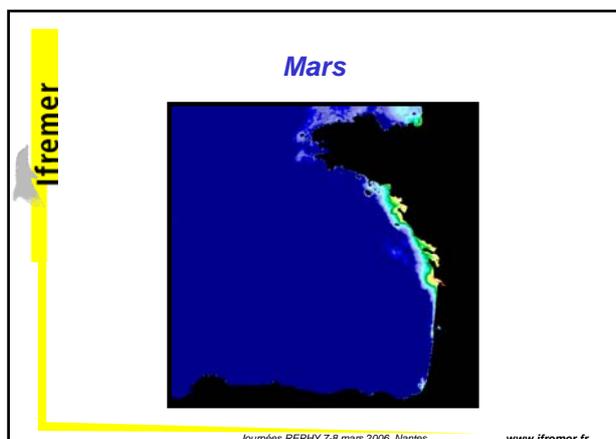
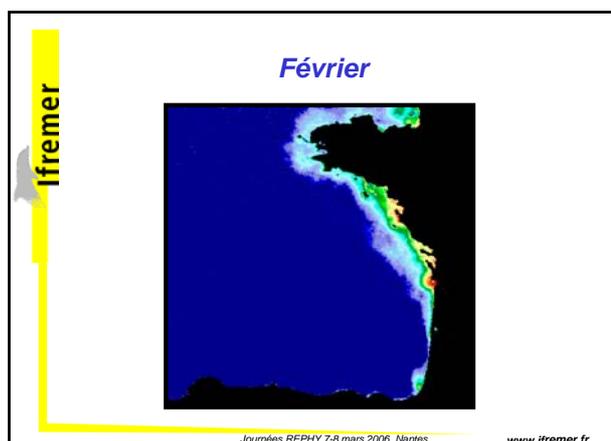
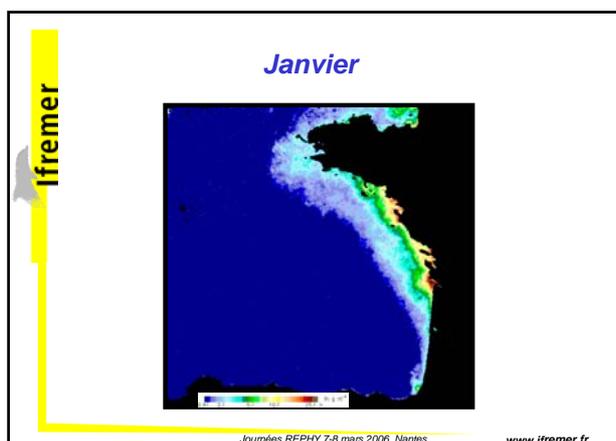
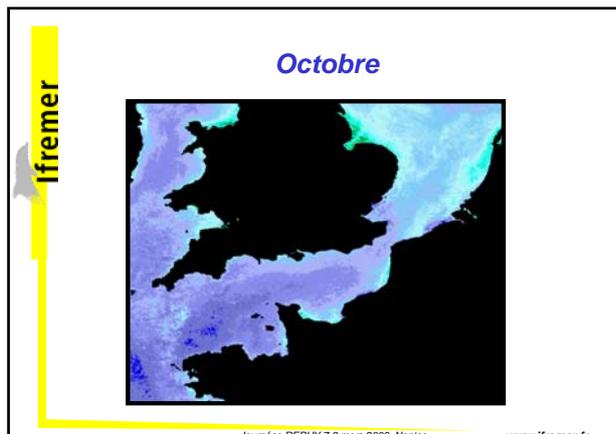
Moyennes mensuelles

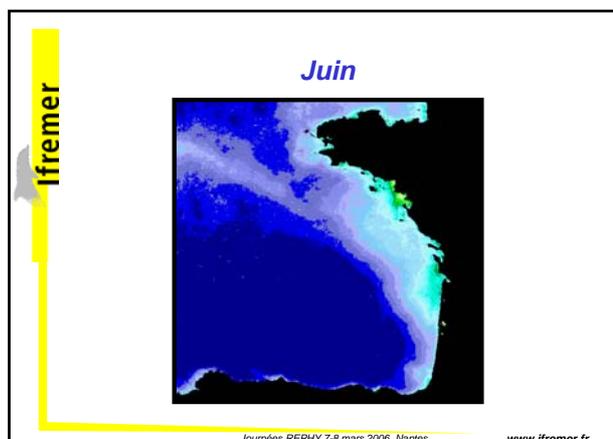
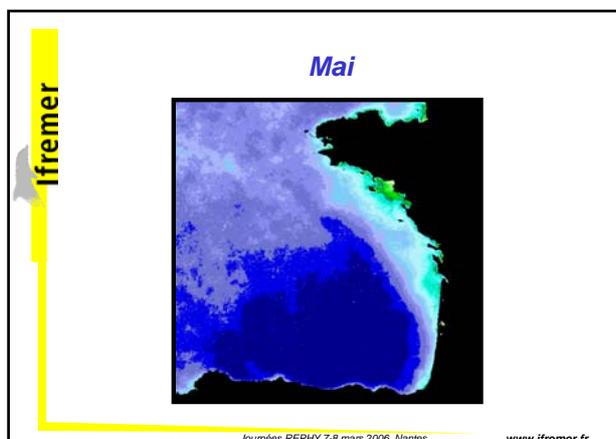
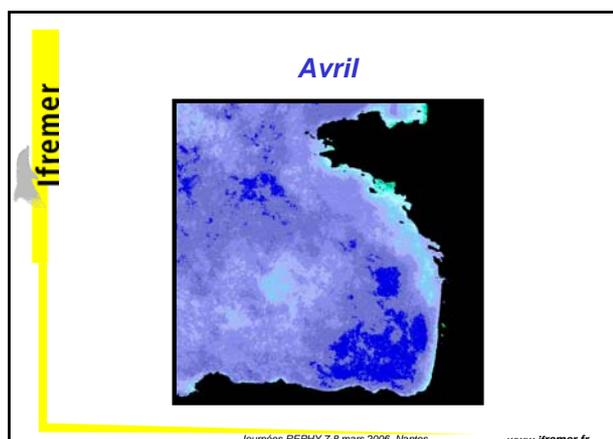
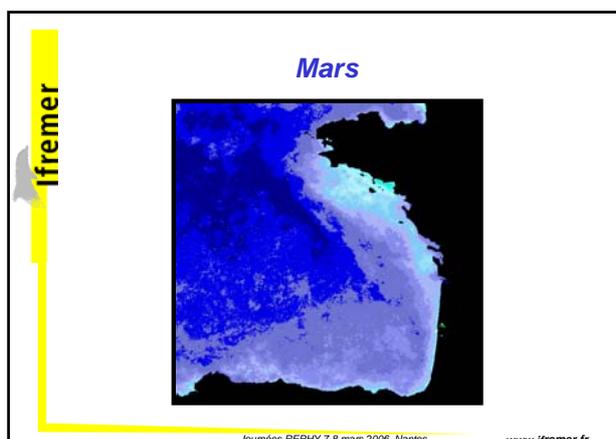
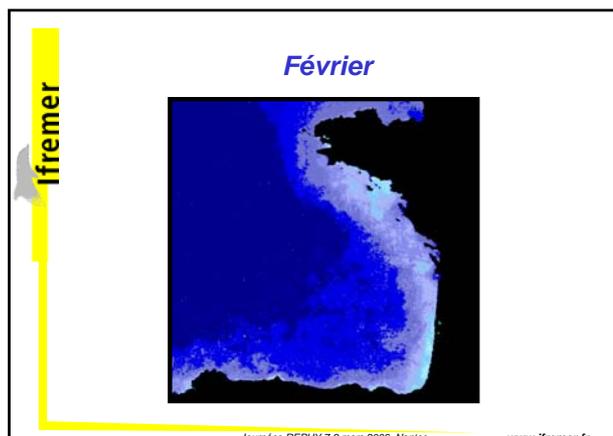
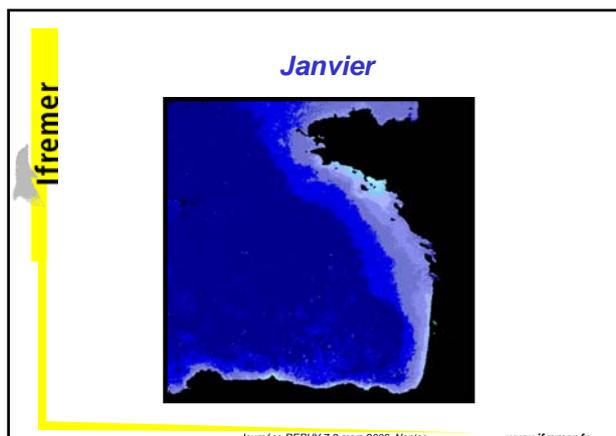
ifremer

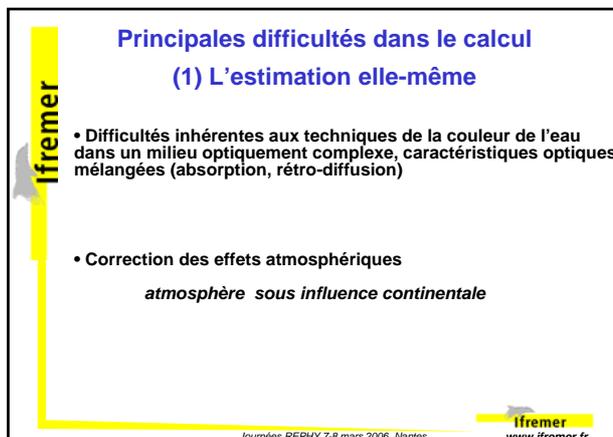
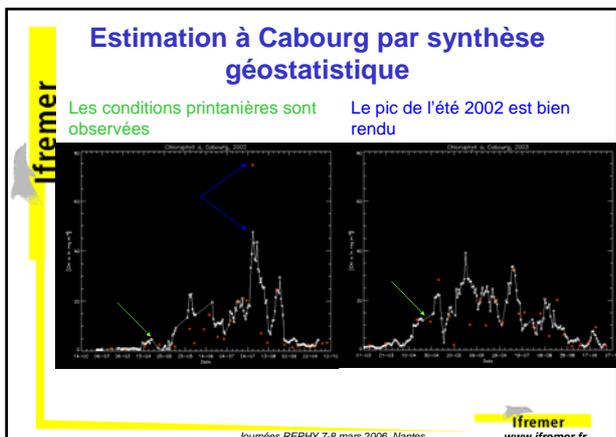
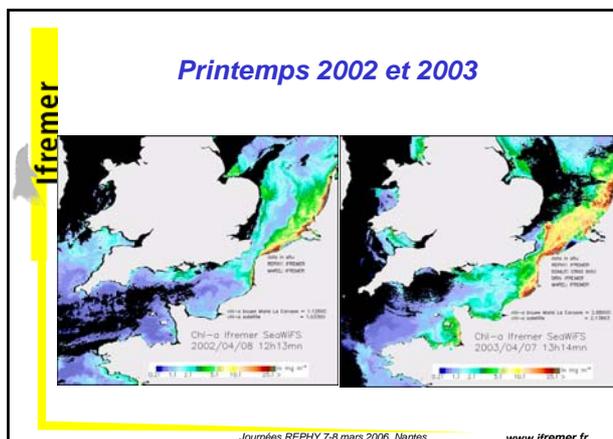
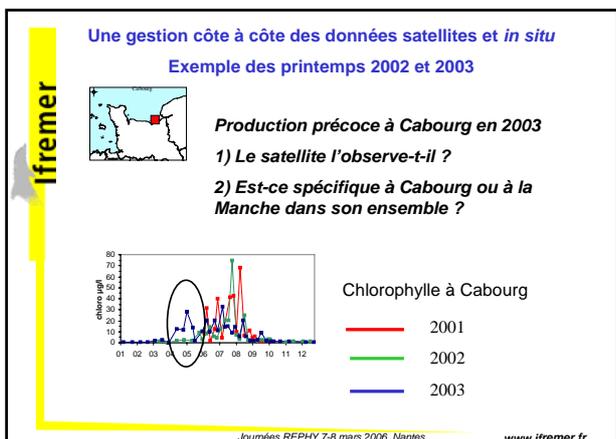
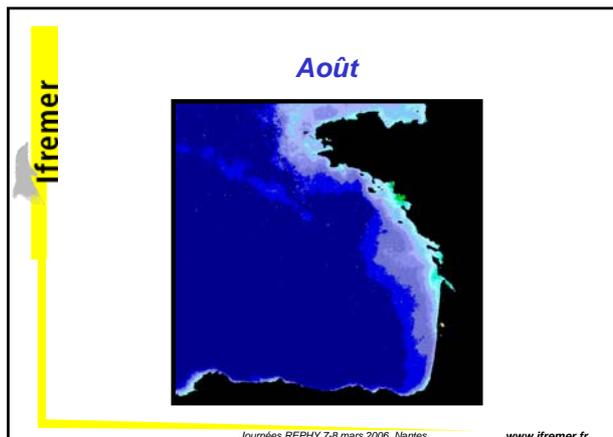
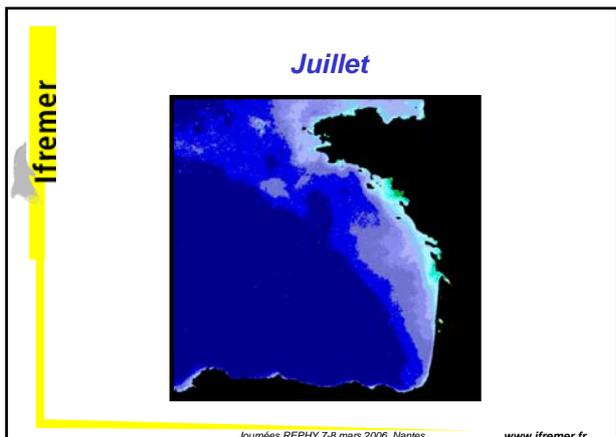
Journées REPHY 7-8 mars 2006, Nantes www.ifremer.fr





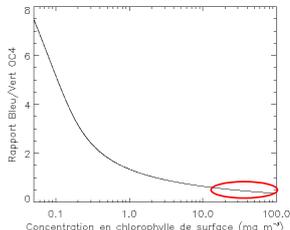






Principales difficultés dans le calcul : (2) Des valeurs extrêmes fréquentes

- **CHL :**
Effet des fortes valeurs dans le calcul de la concentration en chlorophylle moyenne au printemps et dans les zones les plus riches
Distribution très dissymétrique



- **MES**
Matières en suspension minérales sous-estimées en cas de production chlorophyllienne importante

Ifremer

Ifremer
www.ifremer.fr

Journées REPHY 7-8 mars 2006, Nantes

Développements techniques 2006

- Une chaîne MERIS + MODIS
- Toujours des tests à plus haute résolution (250 mètres)
- De nouveaux serveurs d'images plus interactifs

Ifremer

Ifremer
www.ifremer.fr

Journées REPHY 7-8 mars 2006, Nantes

Pespectives 1.

- Entrée dans les SIGs et positionnement des points *in situ* :
RHLN, Loire-Bretagne

Utilisation des atlas hebdomadaires SeaWiFS :

- Chlorophylle
- Matières en suspension minérales

Températures de surface NODC

Ifremer

Ifremer
www.ifremer.fr

Journées REPHY 7-8 mars 2006, Nantes

Pespectives 2.

- Réalisation de cartes d'anomalies hebdomadaires

Analyse historique des données *in situ* et satellite sur des positions REPHY

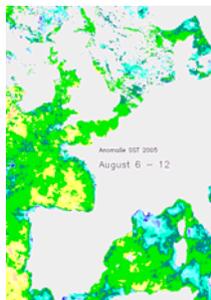
Ifremer

Ifremer
www.ifremer.fr

Journées REPHY 7-8 mars 2006, Nantes

Pespectives 3.

- Extension de la zone couverte
Lien avec CEFAS et partenaires MarCoast



Exemple de serveur d'image,
Le serveur MarCoast
Manche/Sud Mer du Nord :

<http://www.ifremer.fr/cersat/facilities/browse/del/roses/browse.htm>

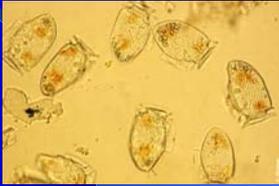
Ifremer

Ifremer
www.ifremer.fr

Journées REPHY 7-8 mars 2006, Nantes

Identification automatique du phytoplancton

Perspectives d'utilisation par le REPHY



Dinophysis cf. acuminata - Photo : E. Nézan

Contexte

- Déjà fonctionnel pour le phytoplancton → ZoolImage
 - Université de Mons-Hainaut en Belgique
 - Reconnaissance à ~ 80 % sur des Crustacés copépodes
 - 80000 objets traités / minute

Comment ?

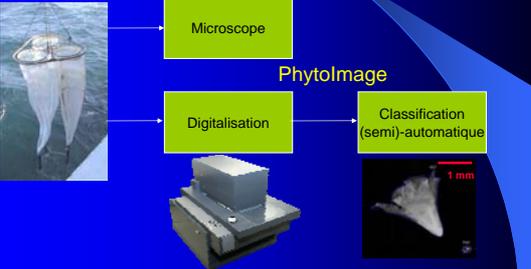
Observation classique

Prélèvement → Identification et dénombrement manuels

Microscope

PhytolImage

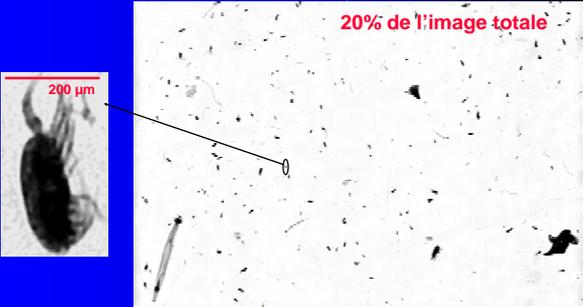
Digitalisation → Classification (semi)-automatique



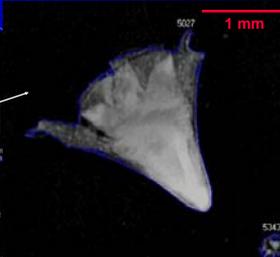
Quoi ?

20% de l'image totale

200 µm



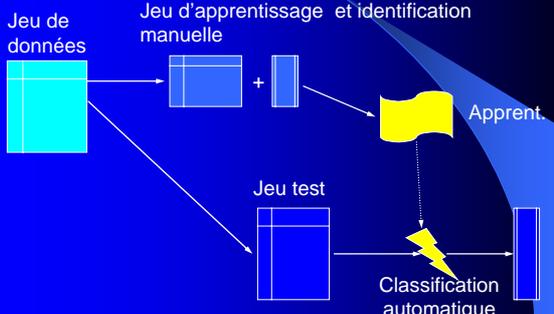
Analyse d'images



Sample	Ident1	Label	Area	Length	Width	DiamMean	Perimeter
B970326D2	4094	Cladocera	132604.10	617.1141	214.73581	453.3099	166
B970326D2	4200	Copepoda	214327.02	241.8407	269.30927	299.4204	244.8
B970326D2	4627	Thaeromata	143928.99	1079.4999	133.24416	619.2183	242.8
B970326D2	5547	Copepoda	168570.41	969.4332	173.88415	569.4891	2287.0
B970326D2	5648	Cladocera	184475.39	576.7916	319.8283	521.8641	1792.0
B970326D2	5685	Cladocera	422154.08	2791.883	151.23582	940.2232	6895.0
B970326D2	5894	Copepoda	220841.62	1160.9915	189.97081	856.3783	2701.0
B970326D2	6976	Copepoda	188283.63	1449.3915	130.70415	692.2658	3142.0

Apprentissage et Identification

Jeu de données → Jeu d'apprentissage et identification manuelle → Apprent. → Jeu test → Classification automatique



Avantages

- Observation au microscope très lourde → coût personnel important
- Evolution du métier d'observateur
- Augmentation du nombre d'échantillons : meilleure précision
- Identification homogène sur l'ensemble du littoral

Inconvénients

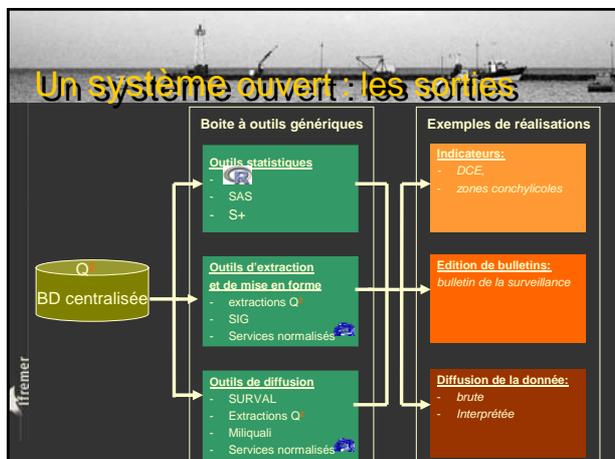
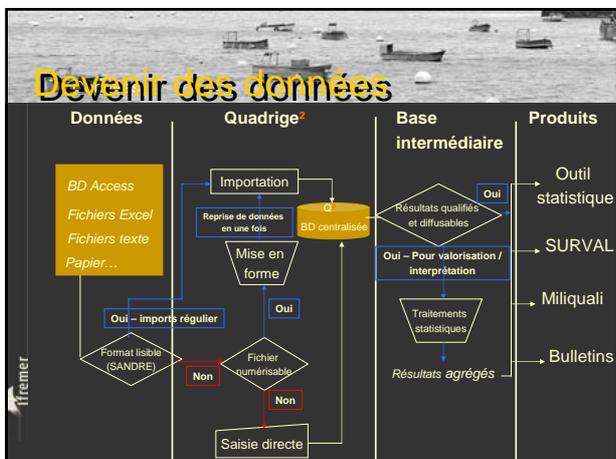
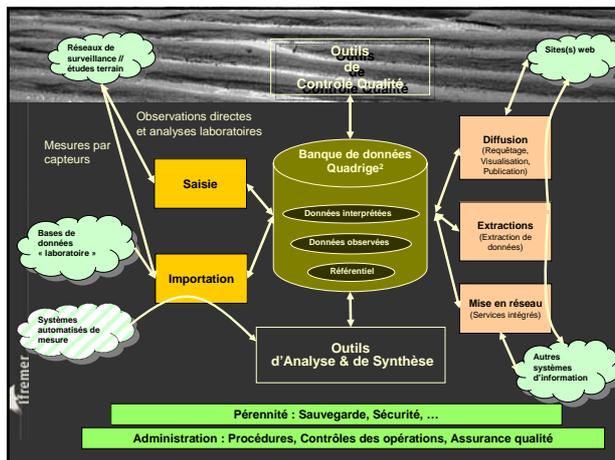
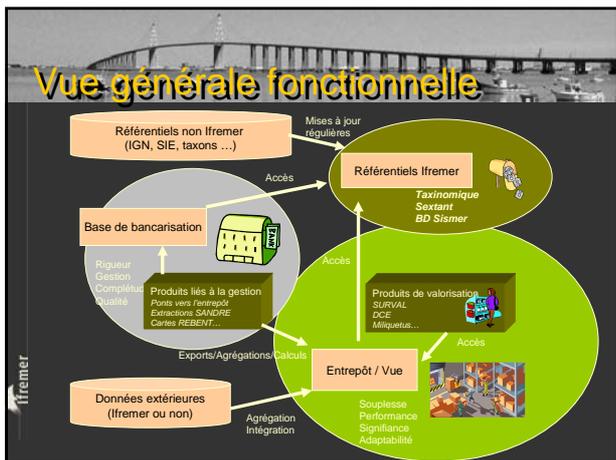
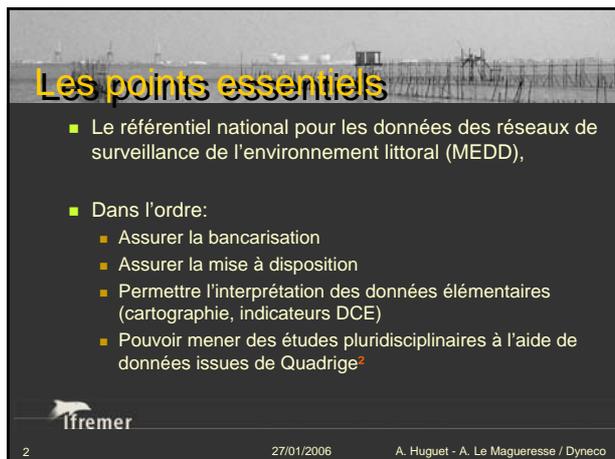
- Opération lourde dans sa phase initiale : acquisition d'un jeu d'apprentissage (plusieurs milliers d'images)
- Investissement équipement
- Risque de perte de résolution taxonomique

Oui, mais ...

- L'expert peut continuer d'intervenir : affectation d'un seuil de probabilité
- Archivage des images
- Evolution logicielle : rejeu automatique des images
- Logiciel gratuit, mais équipement numérisation 50-100 k€

Planning

- 2005 on tente le coup !
- 2006 : étude de faisabilité :
 1. Création d'un jeu d'apprentissage
 2. Première classification
 3. Validation Ifremer
 4. Conclusion sur la faisabilité/pertinence
- 2007
 - acquisition matériel & images
 - Re-apprentissage et test *in situ* (labo. pilote)
- 2008 : passage à l'opérationnel ?





Miliquali

Ifremer

Milieu littoral - qualité



Miliquali

- Une maquette :
 - Représentation des indicateurs DCE
 - Accès aux données de base
- Pour étudier :
 - La visualisation
 - Les liens avec le système d'informations
- Pour préparer un produit opérationnel

Ifremer

8 27/01/2006 A. Huguet - A. Le Magueresse / Dyneco

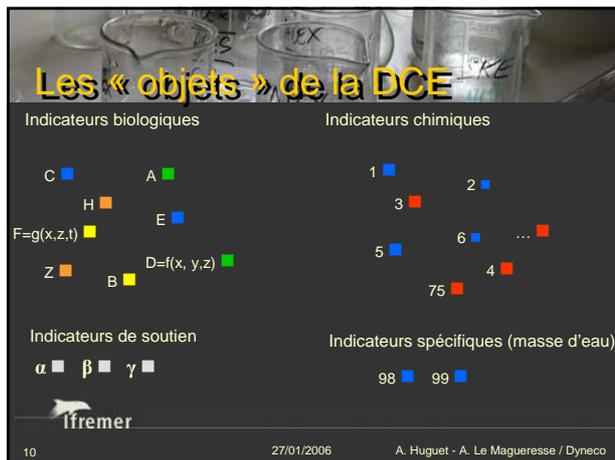


Représenter les indicateurs DCE

- Des indicateurs
 - Pour classer et synthétiser
 - Pour comparer
 - Pour communiquer (rendre visible et lisible)
- Des indicateurs pour l'environnement littoral
 - Nouvelle culture
 - Adaptation de la surveillance
 - Nouvelle communication

Ifremer

9 27/01/2006 A. Huguet - A. Le Magueresse / Dyneco



Les « objets » de la DCE

Indicateurs biologiques

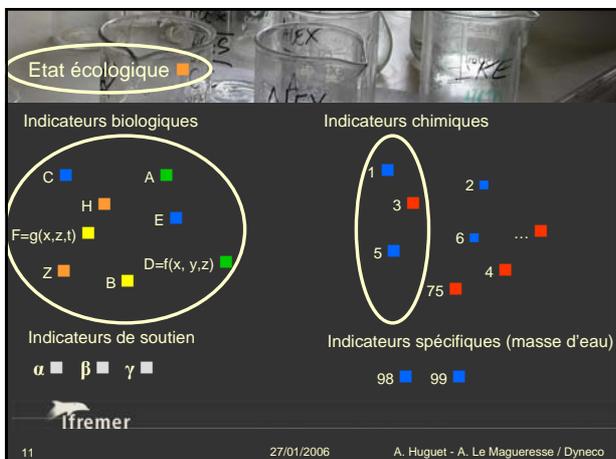
Indicateurs chimiques

Indicateurs de soutien

Indicateurs spécifiques (masse d'eau)

Ifremer

10 27/01/2006 A. Huguet - A. Le Magueresse / Dyneco



Etat écologique

Indicateurs biologiques

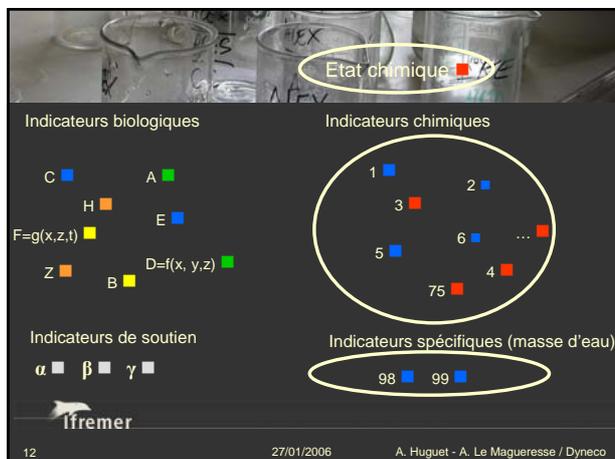
Indicateurs chimiques

Indicateurs de soutien

Indicateurs spécifiques (masse d'eau)

Ifremer

11 27/01/2006 A. Huguet - A. Le Magueresse / Dyneco



Etat chimique

Indicateurs biologiques

Indicateurs chimiques

Indicateurs de soutien

Indicateurs spécifiques (masse d'eau)

Ifremer

12 27/01/2006 A. Huguet - A. Le Magueresse / Dyneco

Etat général de la masse d'eau

Etat écologique Etat chimique

Indicateurs biologiques Indicateurs chimiques

C A
H E
F=g(x,z,t)
Z B D=f(x,y,z)

Indicateurs de soutien Indicateurs spécifiques (masse d'eau)

α β γ 98 99

Ifremer

13 27/01/2006 A. Huguet - A. Le Magueresse / Dyneco

Miliquali et le « plan »

- Plan précédent
 - Etats
 - Indicateurs
 - Détail
- Plan en cours
 - Avancement du programme de surveillance
 - Indicateurs
 - Détail

Ifremer

14 27/01/2006 A. Huguet - A. Le Magueresse / Dyneco

Filiation Miliquetus → Miliquali

- Miliquetus**
 - Prototype
 - Données réelles
 - Sites Quadrige > Masses d'eau
 - Qualité x Usages
 - Indicateurs par année
 - Résultats de synthèse
- Miliquali**
 - Maquette graphique
 - Pas de données réelles
 - Masses d'eau
 - Qualité du milieu
 - Indicateurs par plan gestion
 - Amène aux données utilisées
 - Points
 - Paramètres
 - Résultats
 - Téléchargement des données

<http://www.ifremer.fr/env/surveillance/diagnostics.htm>

Ifremer

15 27/01/2006 A. Huguet - A. Le Magueresse / Dyneco

Démonstration

Ifremer

16 27/01/2006 A. Huguet - A. Le Magueresse / Dyneco

Miliquali et Quadrige²

- Hors périmètre Quadrige²
- Ressources proches de celles de SURVAL

Ifremer

17 27/01/2006 A. Huguet - A. Le Magueresse / Dyneco

Requêtes au système d'information

- Cartes générales
- Etats et indicateurs
- Etat d'avancement des échantillonnages
- Cartes de détail, points
- Résultats (Q² et externes)
 - Point * Paramètre * Date
- Algorithmes de calcul des indicateurs

Ifremer

18 27/01/2006 A. Huguet - A. Le Magueresse / Dyneco



Miliquali : suites

- 2006
 - Présentation de la maquette
 - Recueil et évaluation des remarques
 - Cahier des charges pour une version opérationnelle
- 2007
 - Réalisation

 Ifremer

19 27/01/2006 A. Huguet - A. Le Magueresse / Dyneco