

direction de l'environnement
et de l'aménagement littoral

mars 2004

lfremer



Journées REPHY 2004

Nantes, 22 & 23 mars 2004

Compilation des interventions

Fiche documentaire

Titre du rapport : Journées REPHY 2004 – Nantes, 22 et 23 mars 2004 – Compilation des interventions.	
Référence interne : R.Ifremmer/2004	Date de publication : mars 2004
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 2004 ont rassemblé les 22 et 23 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 surveillance des phycotoxines dans les coquillages, l'avancement des projets de recherche, les aspects patrimoniaux et la prise en compte des obligations de la Directive européenne Cadre sur l'Eau.	
Comment citer ce document : Ifremer (2004). Journées REPHY 2004 – Nantes, 22 et 23 mars 2004 – Compilation des interventions.	

Journées REPHY

22 et 23 mars 2004

Ifremer Nantes

Session sanitaire

- Réforme de la législation alimentaire communautaire. Evolution des règles communautaires de surveillance des phycotoxines dans les coquillages.
Yves Douzal, MAAPAR / DPMA
- Avancées des travaux pour les tests DSP au niveau européen. Point sur l'utilisation des kits ELISA pour la recherche des toxines PSP.
Sophie Trotereau, LNR biotoxines / AFSSA
- Interface recherche / surveillance : le Pôle Opérationnel Phycotoxines (POP). Résultats de l'étude sur les Azaspiracides.
Zouher Amzil, Ifremer / Nantes
- Actions supplémentaires surveillance REPHY 2003
 - Surveillance des toxines DSP dans les huîtres.
Catherine Belin, Ifremer / Nantes
 - Surveillance des toxines dans les pectinidés.
Liliane Fiant, Ifremer / Port en Bessin
 - Surveillance systématique des toxines PSP à Arcachon.
Nadine Neaud-Masson, Ifremer / Arcachon
 - Surveillance des coquillages autres que les huîtres et les moules.
Conclusion : bilan des actions 2003
Catherine Belin

Session recherche - aspects patrimoniaux - DCE

- Résultats de la thèse soutenue en 2003 sur les données phytoplancton du REPHY : variabilité spatio-temporelle des populations phytoplanctoniques sur le littoral français.
Isabelle Gailhard, Ifremer / Nantes
- Evolution des systèmes d'information pour l'environnement littoral. Mise à disposition des données de la surveillance aux échelles régionale, nationale et européenne, au travers d'internet
Alain Le Magueresse, Ifremer / Nantes
- La Directive Cadre sur l'Eau
Jacques Robert, MEDD / DE
- Prise en compte des obligations de la DCE dans les évolutions du REPHY et du RNO. Interactions avec les autres réseaux de surveillance, en particulier les réseaux régionaux. Etat des lieux.
Catherine Belin, Didier Claisse, Isabelle Gailhard, Ifremer / Nantes
- Intérêt des séries de données phytoplancton
Pour la définition d'indicateurs : Miliquetus / phytoplancton. Exemples de critères phytoplancton pour le futur suivi DCE
Alain Le Magueresse
Pour le suivi et la veille sur les espèces (potentiellement) toxiques et nuisibles
Catherine Belin
- Tendances saisonnières et à long terme des concentrations en éléments nutritifs en Manche orientale. Relations avec les blooms de la Prymnésiophycée *Phaeocystis* sp.
Alain Lefèbvre, Ifremer / Boulogne
- Les marqueurs moléculaires pour l'identification du phytoplancton toxique.
Elisabeth Antoine et Benjamin Bornet, Ifremer / Nantes
- Bilan global et évolution en 2002 et 2003 de la présence de toxines DSP, PSP et ASP en France.
Catherine Belin
- Toxines PSP cas de Thau : contexte, problématique et pistes envisagées
Eric Abadie, Ifremer / Sète
- Projet européen SHELLFISH et résultats préliminaires chantier lagune
Patrick Lassus, Ifremer / Nantes
- Etude sur l'efficacité des bassins filtrants : cas d'*Alexandrium*
Claire Marcaillou, Ifremer / Nantes
- Toxines DSP cas de Salses Leucate
Eric Abadie

Réforme de la législation alimentaire

Règlement H 3 « contrôles DAOA » surveillance des zones conchylicoles: Plancton toxigène et biotoxines

Dr Yves Douzal, Conseiller en
Santé publique vétérinaire
DPMA

Journées REPHY 2004

Réforme de la législation alimentaire

- Pourquoi la réforme ?
- Quelle réforme ?
- Quelles conséquences pour les MBV ?

1 - Pourquoi la réforme ?

- Origine :
 - crise de l'ESB
 - Demande de simplification de la législation alimentaire (Parlement et Conseil)

1997 :

- Décision de la Commission: réorganisation des services
- Communication de la Commission : « Santé des consommateurs et sûreté alimentaire »
- Livre vert : débat sur :
 - la redéfinition de la politique alimentaire
 - la refonte de la législation alimentaire

Réorganisation des services:

- Création groupe de commissaires « Santé humaine alimentaire »
- Rattachement 7 comités scientifiques à DG Sanco
- Comité scientifique multidisciplinaire → Comité directeur
- Rattachement OAV à DG Sanco
- Création d'une cellule d'évaluation des risques Santé Publique (DG Sanco)

Communication « Santé des consommateurs et sûreté alimentaire »:

- Avis scientifiques :
 - excellence, indépendance, transparence
 - Synergie : comité directeur
- Contrôle et inspection :
 - Évaluation des risques → priorités
 - Contrôle de l'ensemble de la chaîne alimentaire
 - Procédure d'audit des systèmes de contrôle nationaux

Livre vert : Bases de la réforme

- Simplification et rationalisation de la législation alimentaire
- Codécision
- Cadre juridique « du champ à l'assiette »
- Protection du consommateur
- Libre circulation des marchandises
- Compétitivité économique UE
- Clarification des responsabilités
- Séparation : évaluation / gestion du risque et services législatifs / services de contrôles
- Transparence des procédures et information des consommateurs

2000 - Livre Blanc :

- Politique de Sécurité Alimentaire (règles et contrôles): du champ à l'assiette, DOA - DOV, alimentation humaine et animale
- Responsabilité primaire de la sécurité alimentaire : Producteur, Transformateur
- Analyse des risques : évaluation / gestion / communication – principe de précaution
- Gestion des crises et système d'alerte rapide

2000 - Livre Blanc (suite)

- Traçabilité
- Information du consommateur : étiquetage
- Création d'une autorité alimentaire européenne
- Programme de 80 mesures législatives

2 - Quelle réforme en Hygiène alimentaire?

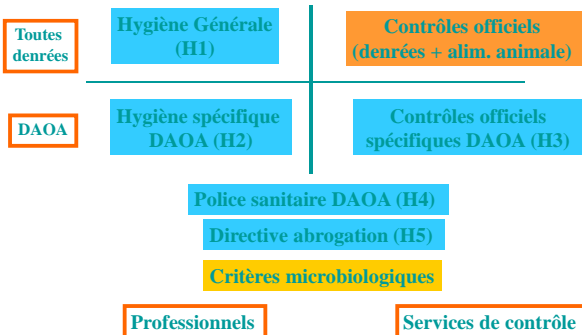
Directive 93/43/CEE relative à l'hygiène des aliments + 16 directives sectorielles



- Règlement 178/2002/CE du 28/01/02 (Food law)
- Paquet Hygiène:
 - Hygiène Générale Denrées (RH1)
 - Hygiène spécifique DAOA (RH2)
 - Contrôles spécifiques DAOA (RH3)
 - Police sanitaire DAOA (DH4)
 - Abrogation directives DAOA (DH5)
- Règlement Contrôle général denrées (OFFC)

Principes Généraux Législation Alimentaire : 178/2002

(denrées alimentaires, alimentation animale, AESA)



3 - Conséquences pour les MBV ?

- Règlement 178 / 2002:
 - Chapitre I : champ d'application et définitions
 - Inclut les productions traditionnelles (art 1)
 - Définit la production primaire (art 3)
 - Chapitre II : législation alimentaire générale
 - Responsabilités de l'exploitant du secteur alimentaire (art 17 et 19)
 - Traçabilité (art 18)

H1 - Règlement hygiène denrées alimentaires

- définition eau de mer propre (art 2)
- Règles d'hygiène générale spécifiques pour la production primaire (art 4, § 1 et annexe I, partie A)
- HACCP : procédures permanentes fondées sur les principes HACCP : exclusion des productions primaires (art 5)
- HACCP : GBP nationaux et communautaires
 - Prendre en compte l'annexe I, § B pour la production primaire (art 8 et 9)

Règlement 178 / 2002 (suite):

- Chapitre III : AESA
- Chapitre IV : SAR – gestion des crises – situations d'urgence
- Chapitre V : Procédures et dispositions finales
 - Art 14 à 20 : application 01/01/2005

H2 - Règlement « règles spécifiques d'hygiène DAOA » (suite)

- Rapport au PE et au CE (art 14)
- Application H2 : après le 01/01/2006
- Annexe I - §2 : définitions mollusques bivalves, biotoxines marines, finition, producteur, zone de production, zone de reparcage, centre d'expédition, centre de purification, reparcage

H1 - Règlement hygiène denrées alimentaires

- Abrogation, modification, exemptions annexe I (art 13)-procédure de comité (art 14)
- Rapport au PE et au Conseil : possibilité d'appliquer l'art 5 (HACCP) à la production primaire (art 16) – entrée en vigueur H1 + 5 ans
- Application H1 : après le 01/01/2006 (art 18)
- Annexe I : production primaire
 - Partie A : dispositions générales d'hygiène
 - Partie B : recommandations pour les GBPH

H2 - Règlement « règles spécifiques d'hygiène DAOA »

- Exclusion RD par producteur ⇒ règles nationales (art 1)
- Enregistrement établissements production primaire (art 4)
- Agrément : exclusion si production primaire exclusive
- Certificats ou documents d'accompagnement (art 7)
- Mesures d'application (art 9) : procédure de comité (art 12)

H2 - Règlement « règles spécifiques d'hygiène DAOA » (suite)

- Abrogation, modification, exemptions annexes II et III (art 10)-procédure de comité (art 12)
- Mesures nationales d'adaptation de l'annexe III ⇒ méthodes traditionnelles (art 10) -procédure de comité (art 12)
- Décisions spécifiques d'application ou modificatives annexe II et III (art 11)
 - Traitements MBV zones B ou C
 - Biotoxines, virus, autres : normes, méthodes analyses, plans d'échantillonnage, tolérances analytiques
 - Procédure de comité (art 12)

H2 - Règlement « règles spécifiques d'hygiène DAOA » (suite)

- Annexe III: mollusques bivalves vivants (suite)
 - Chapitre II : hygiène de la production et de la récolte
 - a – zones de production : classées, A : CHD, B : purification, C : reparcage, respect normes sanitaires, traçabilité
 - b – Récolte, manipulation: O contamination, dommages
 - c – Reparage : zones agréées, délimitées, 2 mois mini, traçabilité
 - Chapitres III et IV : CE et CP (structure, hygiène)
 - Chapitre V : normes sanitaires MBV
 - Critères microbiologiques → H3 → M
 - Critères organoleptiques
 - Critères biotoxines

H2 - Règlement « règles spécifiques d'hygiène DAOA » (suite)

- Annexe III (exigences spécifiques), section VII : mollusques bivalves vivants
 - Champ d'application :
 - MBV + échinodermes – tuniciers – gastéropodes marins
 - Production primaire / mise sur le marché en complément des annexes I et II de H1
 - Zones de production classées – pectinidés pêchés
 - Commerce de détail
 - Chapitre I : exigences générales pour la MSM : document d'enregistrement pour transfert – dérogation possible

H2 - Règlement « règles spécifiques d'hygiène DAOA » (suite)

- Annexe III: mollusques bivalves vivants (suite)
 - Chapitre VI : conditionnement – emballage
 - Chapitre VII: marquage d'identification - étiquetage
 - Chapitre VIII : autres dispositions
 - Chapitre IX : pectinidés pêchés

H3 - Règlement « règles spécifiques contrôles officiels DAOA » (suite)

- Rapport au PE et CE (art 21)
- Application H3 : après le 01/01/2006 (art 22)
- Annexe II – MBV
 - Chapitre I : champ d'application : MBV + échinodermes, tuniciers, gastéropodes marins
 - Chapitre II : Contrôles officiels MBV dans ZP classées
 - A – classement ZP et ZR
 - B – contrôles ZP et ZR
 - C – décisions consécutives au contrôle
 - D – prescriptions supplémentaires
 - E – enregistrement et échanges d'informations
 - F – autocontrôles
 - Chapitre III : contrôles officiels pectinidés pêchés

H3 - Règlement « règles spécifiques contrôles officiels DAOA »

- Contrôle de l'utilisation correcte des GBPH (art 4)
- Contrôle production primaire (art 6 → annexe II)
- Mesure d'application (art 16): procédure de comité (art 19)
- Modifications, dérogations, mesures nationales d'adaptation annexe II (art 17) : procédure de comité (art 19)
- Mesures d'application spécifiques annexe II (art 18) procédure de comité (art 19)
 - Critères de classement des zones (idem H2)
 - Critères des produits de la pêche

Surveillance des zones conchylicoles : plancton toxigène et biotoxines

- Rappel des règles actuelles
- Projets de textes

1 - Rappel des règles actuelles

- Directive 91/492 CEE, décision 2002/225/CE, rectificatif du JOCE du 20/02/2003, Décision 2002/226/CE
 - définition des biotoxines (art 2)
 - normes sanitaires : PSP, DSP, ASP et méthodes de détection (chapitre V annexe complété par la décision 2002/225/CE : DSP +AZA)
 - surveillance des ZP (chapitre VI annexe)
 - Plancton toxigène + biotoxines
 - Plans d'échantillonnage réguliers sauf pêche
 - Surveillance périodique / échantillonnage intensif
 - décision 2002/226/CE : contrôles sanitaires spéciaux / pectinidés / ASP

Normes sanitaires actuelles

- Quantité totale sur corps entier ou partie comestible séparée
 - PSP: 80 µg/100g méthode biologique ± méthode chimique STX
 - ASP: 20 µg AD/g – méthode CLHP
 - AO +DTX + PTX : 160 µg EqAO/kg
 - YTX: 1 mg Eq YTX/kg
 - AZA: 160 µg Eq AZA/kg
 - bio essai souris acétone: AO+DTX+PTX+YTX – 5 g HP ou 25 g corps entier (si + AZA → corps entier)
 - bio essai souris acétone/éther: AO+DTX+PTX+AZA – 5 g HP ou 25g corps entier
 - bio essai rat: AO+DTX+AZA
 - CLHP+fluorométrie, CL/SM, immunoessais: compl. ou alternatifs
- si/si détection: AO + DTX
PTX₁, PTX₂
YTX, 45 OH YTX, Homo YTX, 45 OH Homo YTX
AZA₁, AZA₂, AZA₃

2 - Projets de textes

- H2, H 3 :
 - définition biotoxines marines (H2, annexe I, § 2)
 - normes sanitaires DSP, PSP, ASP (H2, annexe III, chapitre V § 2)
- Quantité totale sur corps entier ou partie comestible séparée
- PSP : 800 µg/kg
 - ASP : 20 mg A.D./kg
 - AO + DTX + PTX : 160 µg AO/kg
 - YTX : 1 mg Eq YTX/kg
 - AZA : 160 µg Eq AZA/kg

2 - Projets de textes

- Contrôles des ZP et ZR classées vis à vis du risque « biotoxines » (H3, annexe II, Ch II, §B)
 - Intervalles réguliers
 - Recherche du plancton toxigène dans les eaux des biotoxines dans les MBV
 - Plans d'échantillonnage (tous):
 - intervalles réguliers ou cas par cas si récolte irrégulière
 - résultats représentatifs → répartition des points + fréquence des échantillons

2 - Projets de textes

- Plans échantillonnage plancton / toxines :
 - Prise en compte variations plancton
 - Echantillonnage périodique: détection changements composition et répartition du plancton
 - Si suspicion toxicité MBV → éch^{9e}. Intensif
 - Echantillonnage périodique: espèce la plus sensible
- Échantillonnage MBV :
 - Hebdomadaire pdt récolte
 - Réduction/augmentation fréquence : Ev.Risque
 - ER : réexamen périodique

2 - Projets de textes

- Choix espèce de référence dans une zone : si taux accumulation connu dans groupe d'espèces
 - Si espèce référence > limite → analyse autres espèces avant récolte
- Échantillonnage eau : représentatif colonne d'eau, espèces toxiques et évolution population
 - Si risque toxinique : augmentation fréquence analyses ou fermeture préventive jusqu'à analyse toxines
- Fermeture, réouverture des zones de production
 - Normes dépassées ou risque santé humaine :
 - ⇒ fermeture ZP

2 - Projets de textes

- Réouverture ZP:
 - normes conformes + 2 analyses OK \geq 48 h d'intervalle
+/- prise en compte évolution plancton
 - dérogation 1 seule analyse : historique sur dynamique toxicité zone et résultats récents
- Prise en compte autocontrôles dans réouverture, fermeture ZP :
 - laboratoire désigné
 - protocole échantillonnage et analyse convenu par autorité compétente

Laboratoire National de Référence pour les biotoxines marines



Les phycotoxines marines : vers des méthodes alternatives

Sophie Trotereau
AFSSA LERQAP Unité TOP-Toxines, polluants organiques et pesticides



Rephy, Nantes 22/03/04

LNRs/LCR
Analyses interlaboratoires PSP
Validation méthode ASP
Investigations nov 03 Vigo
Groupes de travail LNRs/LCR

DSP par LC-MS-MS
Démarche analytique
Avancées des travaux

Étude des tests ELISA
Kits prometteurs pour les autocontrôles
Caractérisation du test Ridascreeen
Fast Saxioxine à l'étude

Rephy, Nantes 22/03/04

Missions du LCR

- Organiser des analyses interlaboratoires, valider, normaliser les méthodes officielles
LNR participation à des essais d'aptitudes en PSP dec 2002, à la validation ASP 2003
- Développer des méthodes alternatives aux bioessais
Création de groupes de travail sur des sujets spécifiques, participation du LNR/POP à des études
- Développer des matériaux de référence
Indispensable pour valider des méthodes alternatives, pb financement états membres, participation ECVAM

Rephy, Nantes 22/03/04

Analyse interlaboratoire PSP dec02 LNRs

- Utiliser les méthodes appliquées lors d'autocontrôles (13 participants, 9 par bio essai, 2 par HPLC, 2 les deux)

PSP	02/P/M1 Extrait chair négatif µg STX eq /100g	02/P/M2 Extrait chair < seuil 80 µg STX eq /100g	02/P/S1 Solution > seuil 80 µg STX eq /100g	02/P/S2 Solution < seuil 80 µg STX eq /100g	METHODE
1	- 47	104	114,7	97,7	bio essai
2	32,0	42,3	74,1	52,3	bio essai
3	- Ld	72	85	71	bio essai
4	- 57,14	81,68	94,95	69,68	bio essai
5	Negatif	Tps mort = 4'	Tps m = 4'-5'	Tps m = 4'-5'	bio essai
6	N.D.	80	81,4	81,4	bio essai
7	N.D.	478 (US)	434 (US)	446 (US)	bio essai
8	N.D.	< 40	60	57	bio essai
9	-39	74	104	64	bio essai
10	N.D.	46	74	90	bio essai
11	N.D.	67	80	71	bio essai

- Résultats reproductibles par bio essai
AFSSA-LNR Résultats très proches des concentrations attendues

Rephy, Nantes 22/03/04

Analyse interlaboratoire PSP dec02 LNRs

PSP	02/P/M1 Extrait chair négatif µg STX eq /100g	02/P/M2 Extrait chair < seuil 80 µg STX eq /100g	02/P/S1 Solution > seuil 80 µg STX eq /100g	02/P/S2 Solution < seuil 80 µg STX eq /100g	METHODE	
7	mg STX eq GTX2/3	N.D.	221 Detected	227 Detected	93 Detected	HPLC post-colonne
8	mg STX eq autres	N.D.	63 Complex	128 (Only)	51 Complex	HPLC pré-colonne
12	STX	N.Q.	1,9	109,2	3,8	HPLC pré-colonne
	dc-STX	N.D.	11,7	N.D.	19,2	
	NEO	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
	* GTX1/4	N.D.	(1337,5)	N.D.	(1350,9)	
	GTX2/3	N.D.	26,9	N.D.	19,5	
	GTX5	N.D.	260,5	N.D.	250,9	
	Cl/2	N.D.	395,4	N.D.	244,1	
13	STX	1,9	0,4	135,2	2,3	HPLC pré-colonne
	dc-STX	24,5	0,3	3,4	32,1	
	GTX2/3	24,5	N.D. (<1)	N.D. (<1)	16,3	
	Somme	50,9	0,7	138,6	50,7	
	GTX5	High125(!)	Low13(!)	N.D.	High100(!)	

- Résultats HPLC très variables. Méthodes différentes : dérivation post-colonne Oshima 91, oxydation pré-colonne Lawrence 91 : adaptations.
- Bio essai Toxicité globale, HPLC réponse profil toxinique → **Facteur de toxicité**

Rephy, Nantes 22/03/04

Validation méthode ASP LNRs 2003

Points à l'étude

- Calcul de rendement avec 4g+16ml = 20ml ou 4g+16ml = 16ml
- Nécessité ou non de la purification sur cartouches SPE / performances moins bonnes avec SAX

material	Level (mg/g)	Sans cartouche SAX				Avec cartouches SAX					
		Mean (mg/g)	Sr	Repeatability RSDr %	SR	Reproducibility RSDR %	Mean (mg/g)	Sr	Repeatability RSDr %	SR	Reproducibility RSDR %
Spiked clam	4,2	3,4	0,2	8,3	0,5	15,1	2,5	0,2	9,6	0,5	19,1
clam	17,6	17,7	0,4	2,3	1,6	9,0	14,3	0,7	4,9	4,0	27,8
Spiked mussel	13,1	11,4	0,4	3,2	2,0	17,4	10,2	0,5	4,4	2,0	19,4
Spiked scallop	2,4	2,7	0,1	4,3	0,6	22,8	2,2	0,1	5,2	0,3	14,1
Whole body scallop	9,4	9,4	0,2	1,9	1,3	13,2	7,9	0,2	2,2	1,7	21,2
anchovy	83,4	85,1	1,1	1,3	6,6	7,7	76,9	2,7	3,6	10,8	14,1

- LNR Résultats satisfaisants à cette étude
Participation à EIL externe Quasimèren

Rephy, Nantes 22/03/04

Investigations LNRs/LCR 21-22/11/03 Vigo

- 2003 Pas de travaux communautaires
- 2004 Priorité sur les DSP

↓

Groupe de travail
DSP bio essais
Janvier 04

Groupe de travail
DSP LC-MS-MS
Avril 04

Rephy, Nantes 22/03/04

Groupe de travail 27/01/04 Bruxelles
Toxines lipophiles : bio-essais et méthodes alternatives

Phycotoxines	Phytoplankton	2002/225/CE
Acide okadaïque AO Dinophysistoxines DTXs	Dinophysis Prorocentrum lima	AO/DTXs/PTXs : 160 µg éq. AO/Kg chair
Pecténatoxines PTX et dérivés PTX-25A	Dinophysis fortii	Contrôle toxicité globale Bioessai souris 24H
Yessotoxines YTX et analogues homo-YTXs	Prorocentrum reticulatum Lingulodinium polyedrum	1000 µg éq. YTX/Kg chair 4 analogues, Bioessai souris 5H
Azaspiracides AZA	Phytoplankton Non identifié	160 µg éq. AZA/Kg chair Bioessai souris 24H, si possible chair totale

Stratégies d'analyse des phycotoxines ... un processus évolutif ...
Séparation en terme de risque, ouverture vers d'autres méthodes alternatives pour une couverture équivalente du risque

Rephy, Nantes 22/03/04

Groupe de travail 27/01/04 Bruxelles
Toxines lipophiles : bio-essais et méthodes alternatives

Dans l'attente de méthodes alternatives
→ bio-essai chair totale (pb AZAs et YTXs)

Méthode Yasamoto sur chair totale Y2001
décision 2002/225/CE
(2 protocoles AO/DTXs/PTXs/AZAs/YTXs test souris 24h et si symptômes neurologiques séparation PTXs/AZAs des YTXs test souris 5h)

Appliquée en contrôle officiel par l'Italie présence YTXs
Harmonisation nécessaire pour toute UE → participation à ce groupe de travail

Position LNR/Ifremer Bonne approche par famille de toxines mais pb quantité de solvant, évaporation, interférences PSP si présence YTXs, extrait inoculé equiv 25g

Rephy, Nantes 22/03/04

Méthode alternative DSP
Méthode HPLC-SM-SM en cours d'étude

✓ 2003-2004: Collaboration LNR-Ifremer POP
Validation du dosage de l'acide okadaïque par LC/MS-MS
Méthode multi toxines en cours d'étude AO, DTXs, PTX2, PTX2-sa, AZAs et GYM (YTXs)
Optimisation de l'extraction pour couvrir un grand nb de toxines

✓ 2004: Groupe de travail LNRs-LCR
Participation à un groupe de travail :
méthodes LC/MS-MS
LNR/Ifremer POP (avril 2004)



Rephy, Nantes 22/03/04

Méthode alternative DSP
Méthode HPLC-SM-SM en cours d'étude


Purification et concentration
Pas de partage Hexane (élimination acides gras et DTX3)
Addition H2O et partage 3 x 15 mL DCM
Evaporation et reprise MeOH/H2O 90/10

Extraction
3 x 8 mL MeOH/H2O 90/10
Plan d'expérience

Hydrolyse
Dosage des DTX3 et AO

Dosage
Sciex API 2000
ESI+ AZA1, AZA2, AZA3, PTX2, PTX2-sa, GYM
ESI- AO, DTX1, DTX2, DTX3

Préparation
Prélèvement / broyage des HP
4 g par extraction



Rephy, Nantes 22/03/04

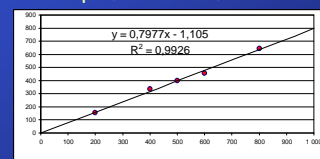
Méthode alternative DSP
Méthode HPLC-SM-SM en cours d'étude

Validation selon la norme V 03-110 et V 03-115

Plan A linéarité, sensibilité

Etalon	Domaine	LD	LQ
AO	0 à 1000 ng/ml	10 ng/g HP	30 ng/g HP
PTX2	0 à 1000 ng/ml	10 ng/g HP	30 ng/g HP
GYM	0 à 200 ng/ml	0,1 ng/g HP	1 ng/g HP

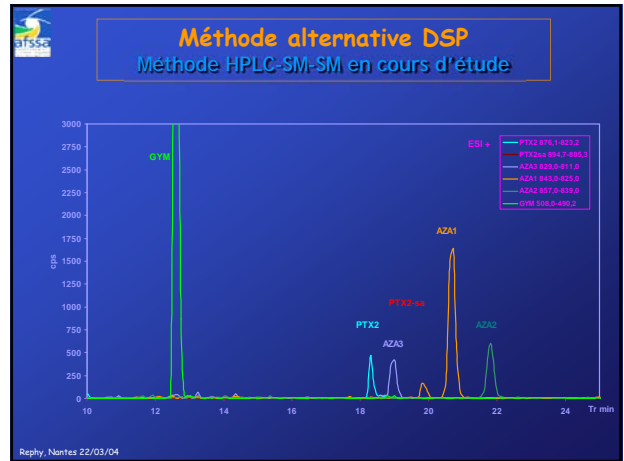
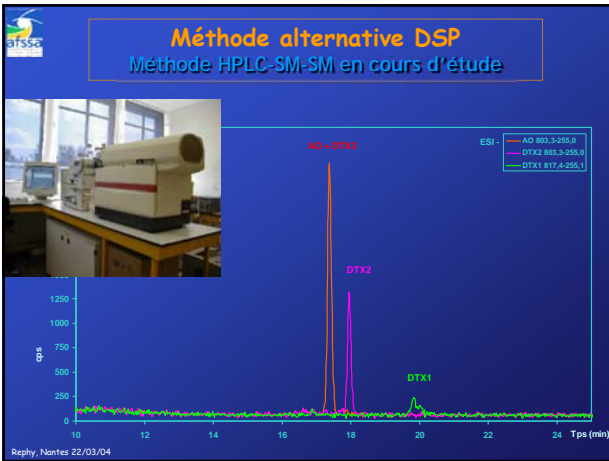
Plan B spécificité et interférences



Plan C fidélité et justesse
A partir d'échantillons naturellement contaminés MUS2 (en cours)

Plan D reproductibilité intra-laboratoire

Rephy, Nantes 22/03/04



Méthode alternative DSP

Etude d'échantillons positifs en bio essai

Nature	Origine	Autocontrôle	Contrôle officiel confirmation LNR	LC/MS-MS
Moules 02nat12	Danemark	Bio essai - Danemark	LVD Y78 + LNR Y84 +	Présence (chair totale) AO 12µg/Kg, DTX1 125µg/Kg, DTX3 6µg/Kg, AZA1, AZA2, AZA3
Moules 04nat06	Leucate	LVD Y84 +	LNR Y84 -	Présence (chair totale) DTX3 16 µg/Kg
Moules 99nat178	Irlande	Y78 +	Y78 +	Présence (chair totale) AZA1, AZA2, AZA3

litige réglé (pointing to Danemark row)
Gestion réseau (pointing to Leucate row)

Stage de 6 mois jan-juil 2004
Développement d'une méthode AO,DTXs,PTXs,AZAs (GYM) LC-MS-MS exploitation et compréhension résultats 2001 et 2002

Rephy, Nantes 22/03/04

Intérêt croissant pour les tests ELISA ?

Les tests ELISA répondent *visiblement* aux attentes
Méthode rapide, facile à mettre en œuvre et facile à interpréter

- Kit initialement destiné à la recherche
- Peu sur le marché, longtemps un seul commercialisé
- Grand intérêt pour les autocontrôles
- Etang de Thau Problèmes de cohérence de résultats

Nécessité d'une caractérisation -> Contact LNR

- s'assurer que le kit soit adapté au domaine d'application : contexte de salubrité
- connaître ses caractéristiques techniques
- limiter les risques de litige

⚠ Cadre d'autocontrôles

Rephy, Nantes 22/03/04

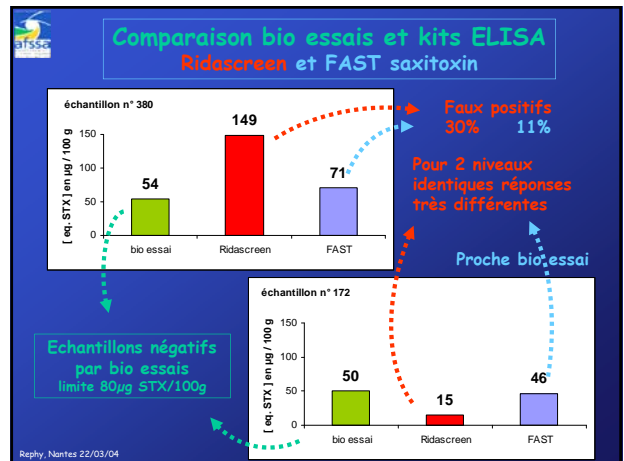
Critères de performances nécessaires pour une bonne méthode d'auto-contrôle

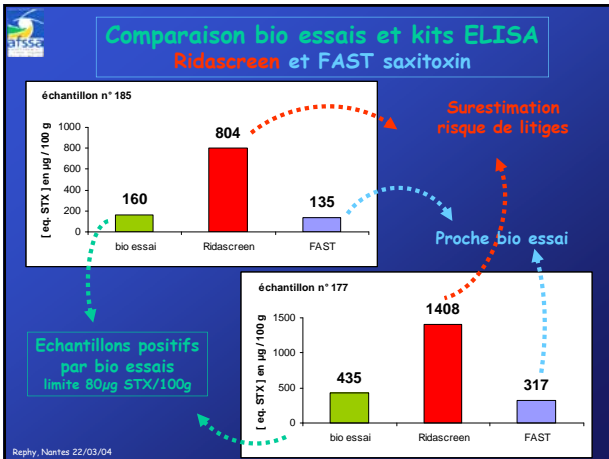
Prometteur **Ridascreen**

- rapidité 1 h 30
- facilité de mise en œuvre kit
- bonne sensibilité LD = 2 ng/L
- bonne spécificité Réactions croisées ?
- bonne justesse Taux de récupération 90 %
- facilité d'interprétation Calcul du % activité

Stage de 6 mois jan-juil 2003
« caractérisation de tests ELISA, étude comparative avec les bio-essais »

Rephy, Nantes 22/03/04





Caractérisations des tests ELISA Résultats étude Ridascreen

Effets de bord
(seuls 36 sur 48 puits des plaques peuvent être utilisés, augmentation du coût de l'analyse)

Domaine d'étalonnage inadapté 10-810ng/L
(nécessité d'ajouter des conc intermédiaires 400 et 600ng/L)

Spécificité insatisfaisante : résultats très inhomogènes, problème de coating des puits (saturation des anticorps)

Stabilité des solutions de STX à pH neutre

Prise de contact avec le fabricant (R-Biopharm, Allemagne)

Participation à l'amélioration d'un nouveau kit

Appliqué aux contrôles de salubrité et respectant les exigences réglementaires (retour d'expérience concluant)

Rephy, Nantes 22/03/04

Caractérisations des tests ELISA Premières conclusions

FAST saxitoxin (commercialisé fin 2003)

Premiers **essais prometteurs**
kit plus adapté au problème des contrôles de salubrité des fruits de mer
(domaine d'étalonnage plus adapté, facteur de dilution 20, meilleure spécificité)

PROMETTEUR

Le LNR donnera son avis qu'à l'issue de sa caractérisation (fin jul 2004)

Stage de 6 mois jan-juil 2004

Rephy, Nantes 22/03/04

CONCLUSION

Orientation vers des méthodes alternatives chimiques pour remplacer le bio essai à terme
mais avant leur application
harmonisation indispensable
(caractérisation, validation, études LNR/Ifremer)



Développement de méthodes fonctionnelles prometteuses basées sur le mode d'action des toxines (PP2A)

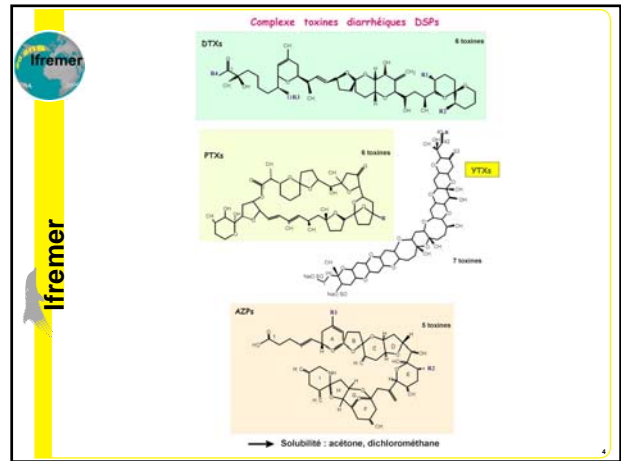
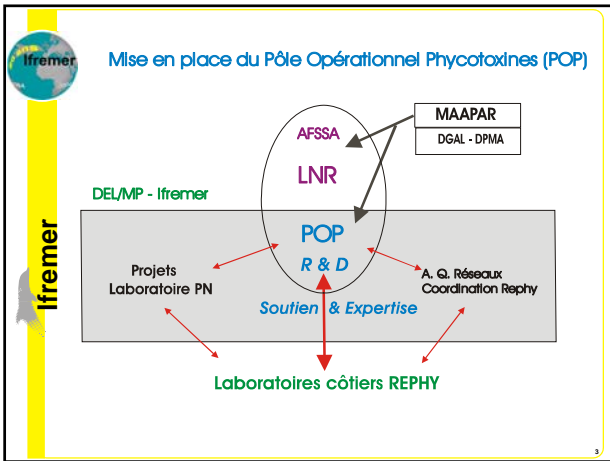
Rephy, Nantes 22/03/04

Pôle Opérationnel Phycotoxines (POP)
Partenariat DPMA / DGAL / LNR-AFSSA

- Mise en place du POP
- Faits marquants 2002 – 2003
- Perspectives 2004 – 2006
 - Recherche & Développement
 - Soutien technique / expertise Rephy
- Collaborations

Pourquoi un Pôle Opérationnel phycotoxines ?
Partenariat DPMA / DGAL / LNR-AFSSA

- Recommandations de l'Office Alimentaire et Vétérinaire (OAV/CE)
- Formaliser la collaboration scientifique et technique AFSSA / Ifremer
 - Convention LNR-AFSSA / POP-Ifremer



Complexe toxines diarrhéiques DSP

Toxines DSP	AO / DTxs	YTXs	PTXs	AZAs
Origine phytoplancton	espèces Dinophysis	<i>Lingulodinium polyedrum</i> <i>Protoceratium reticulatum</i>	<i>Dinophysis fortii</i> <i>Dinophysis acuta</i>	<i>Prorocentrum crassipes</i> ?
Accumulation coquillages	Glandes digestives	Glandes digestives	Glandes digestives	Chair totale
Symptômes test-souris DSP	Léthargie, diarrhée...	Neurologique à faible dose	Neurologique à forte dose	Neurologique à forte dose

Pourquoi un Pôle Opérationnel phycotoxines ?
Partenariat DPMA / DGAL / LNR-AFSSA

- Evolutions de la réglementation Européenne (2002/225/CE)
- Complexe toxines diarrhéiques DSP / 4 familles d'origines différentes
 - Utilisation de l'analyse chimique DSP
 - Validation analyse chimique
 - Acquisition de données terrain

Pôle Opérationnel Phycotoxines
Faits marquants 2002 – 2003
Partenariat DPMA/DGAL/LNR

- Validation de l'analyse chimique de l'AO et dérivés
- Acquisition des données / AO et dérivés / *Dinophysis*
- Bilan de l'étude Azaspiracides en France

Structure de l'acide okadaïque et dérivés

	R ₁	R ₂	R ₃
Okadaic acid (OA)	H	H	Me
Dinophysistoxin-1 (DTX-1)	H	Me	Me
Dinophysistoxin-2 (DTX-2)	H	Me	H
7-O-Acyl derivatives	acyl		

Typical Acyl groups

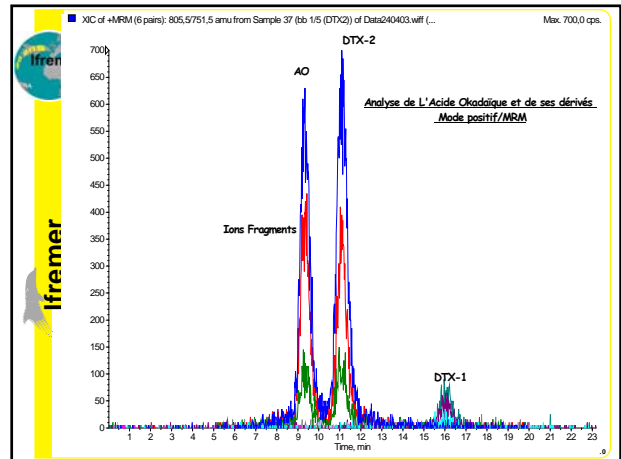
POP / Faits marquants 2002 – 2003
Analyse chimique AO / DTXs
Convention DPMA

Conjointement LNR / POP

Validation de la quantification de l'AO / DTXs par CL/SM/SM
Tests statistiques / norme AFNOR

↓

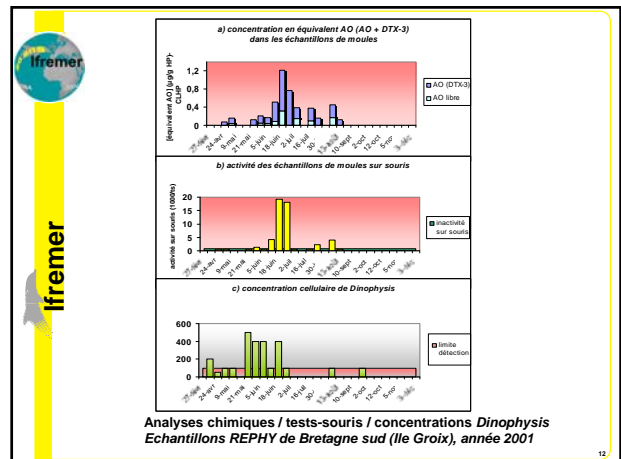
Analyse chimique validée en interne POP
AO, DTX-1, DTX-2, DTX-3



POP / Faits marquants 2002-2003
Acquisition de données DSP
Convention DPMA

Echantillons REPHY

Episode *Dinophysis* 2001



POP / Faits marquants 2002 – 2003
Étude Azaspiracides (AZAs)
Convention DGAL / Ifremer

Motivation

- Mise en évidence des AZAs en Irlande puis en Norvège
- Décision 2001 du Comité Vétérinaire Permanent
- Transferts entre zones de production des eaux communautaires

Objectif

- ☞ Etat des lieux sur la présence éventuelle des AZAs en France relation avec l'espèce suspecte : *Protoperdinium crassipes* ?

Déroulement
mars 2002 – février 2003

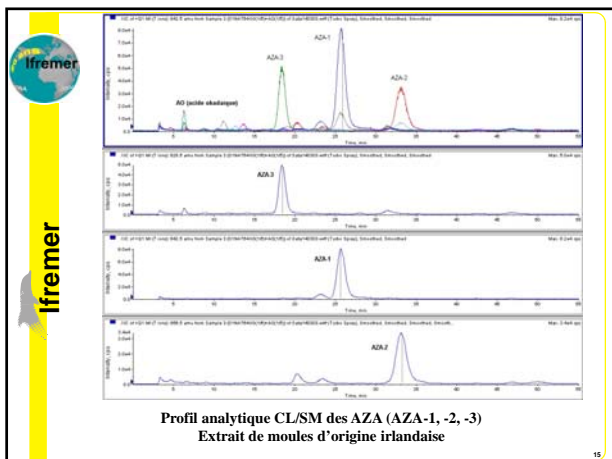
Etude AZAs

➤ Test-souris DSP

➤ Examen phytoplancton

➤ Coquillages + eau

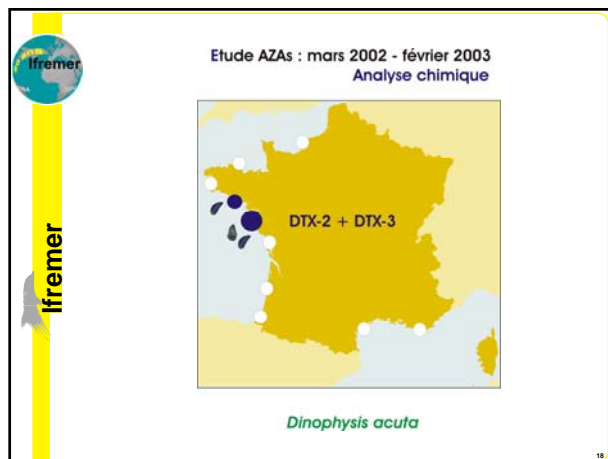
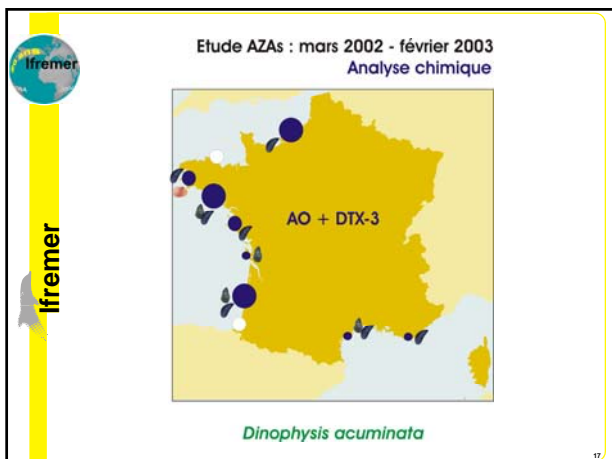
➤ Neuf labos côtiers + POP



POP / Faits marquants 2002 – 2003
Etude Azaspiracides (AZAs)
Conclusions

Tests-souris DSP

- 413 échantillons testés : 225 moules / 164 huîtres / 24 palourdes
- 68 échantillons actifs sur souris
 - ♦ 30 positifs 24H
 - ♦ 26 négatifs / douteux
 - ♦ 12 positifs 72H / douteux
- Echantillons actifs / épisode *Dinophysis*
- ☞ Analyse chimique toxines DSP : AO, DTXs / AZAs / PTXs



Ifremer

Etude AZAs : mars 2002 - février 2003
Analyse chimique DSP

DTX1 - PTXs - AZAs
Non détectées

Protoperidinium crassipes : rare

19

Ifremer

POP / Perspectives 2004 - 2006
Recherche & développement
Partenariat DPMA / DGAL / LNR-AFSSA

Toxines / espèces émergentes

Evaluer et suivre la présence potentielle des toxines émergentes en relation avec les espèces productrices

- Azaspiracides (AZA)
- Pectenotoxines (PTX)
- Yessotoxines (YTX)

20

Ifremer

POP / Perspectives 2004 - 2006
Recherche & développement
Partenariat DPMA / DGAL / LNR-AFSSA

Acquisition de données scientifiques / échantillons Rephy

- DSP / coquillages / *D. acuminata* et *D. acuta* / zones touchées
- PSP / coquillages / *Alexandrium tamarense-catenella* / Thau

- ☞ Cohérence : niveau de contamination / concentration phytoplancton
- ☞ Données : processus de contamination / décontamination : DSP, PSP

21

Ifremer

POP / Perspectives 2004 - 2006
Recherche & développement
Partenariat DPMA / DGAL / LNR-AFSSA

- Développement / validation de méthodes chimiques par CL/SM
- Quantification multitoxines DTXs, PTXs, AZAs, YTXs
- Quantification des cyanotoxines / microcystines

➢ Programme européen d'inter-calibration QUASIMEME

Toxines ASP en 2003 : 36 laboratoires / résultats du POP performants

22

Ifremer

POP / Perspectives 2004 - 2006
Missions de soutien / expertise
Partenariat DPMA / DGAL / LNR-AFSSA

Laboratoires côtiers Rephy

- Assistance scientifique et technique
- Expertises physico-chimiques de confirmation
- Transfert de méthodes de détection / Soutien technique

- Maintien des compétences
- Rédaction et mise à jour des manuels
- Formation continue / Essais d'aptitude

23

Ifremer

POP / Perspectives 2004 - 2006
Partenariat DPMA / DGAL / LNR-AFSSA

- Collaborations extérieures
- ✓ M. Laabir (CNR-UMR11, Univ. Montpellier)
- ✓ LCR-Vigo (via LNR-AFSSA)
- ✓ P. Hess (LNR-irlandais, Galway)
- ✓ M. Quilliam (CNRC, Halifax, Canada)
- ✓ Programme européen QUASIMEME

- Comité de suivi de programmes : DPMA / DGAL / AFSSA / Ifremer
- Soutien financier MAAPAR

24

Ifremer

Surveillance des toxines DSP dans les huîtres

Ifremer

toxines DSP / vecteurs

bivalves

gastéropodes
poissons
crustacés ?

pas de données connues

Ifremer

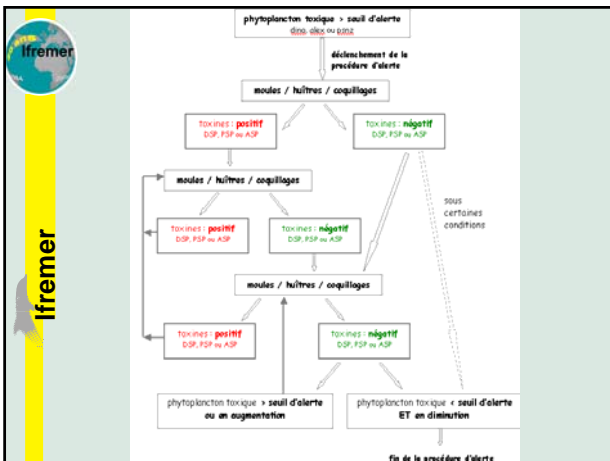
Recherche de toxines DSP dans les huîtres 2002 - 2003

Ifremer

Ifremer

Sites et bassins : Bretagne

Ifremer

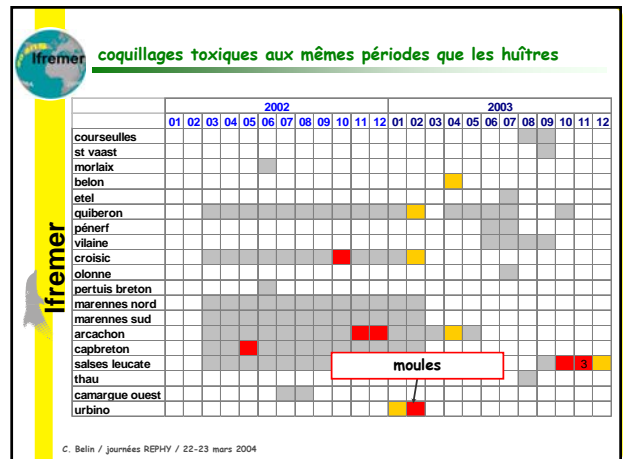
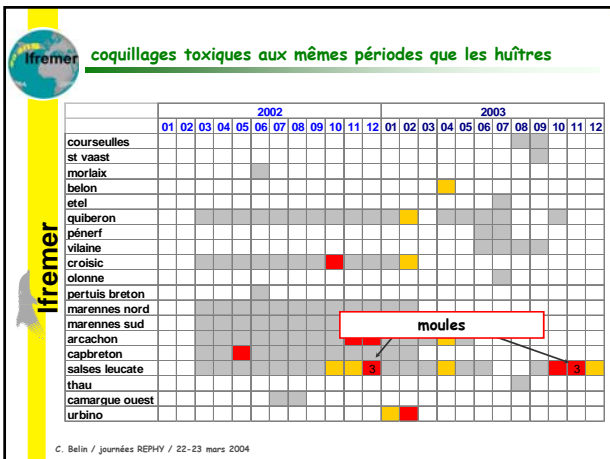
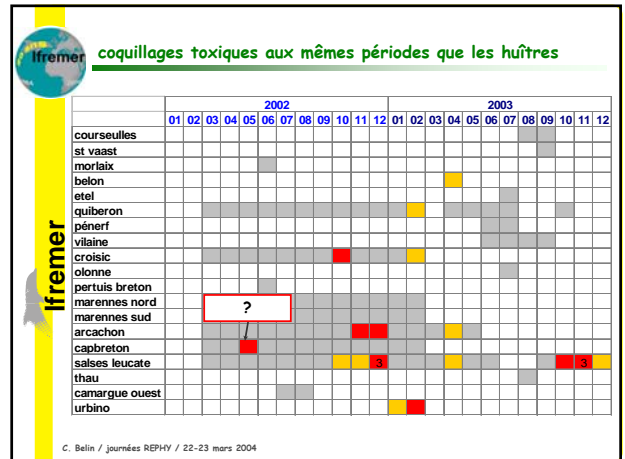
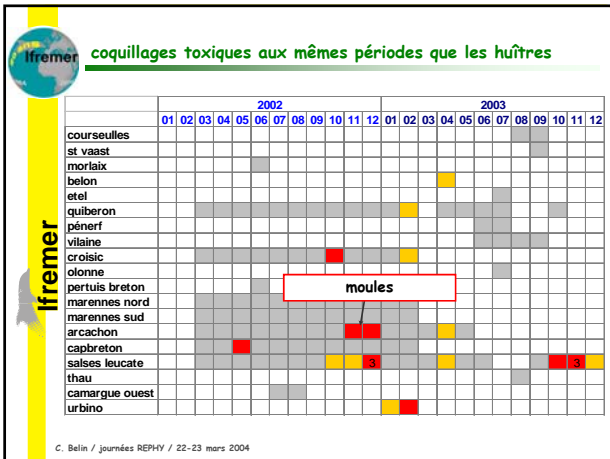
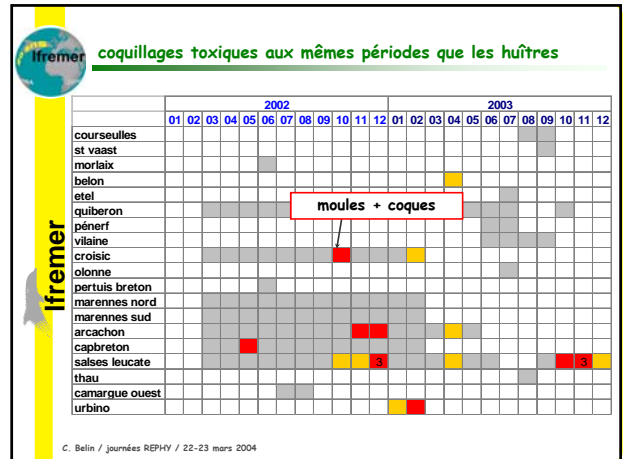
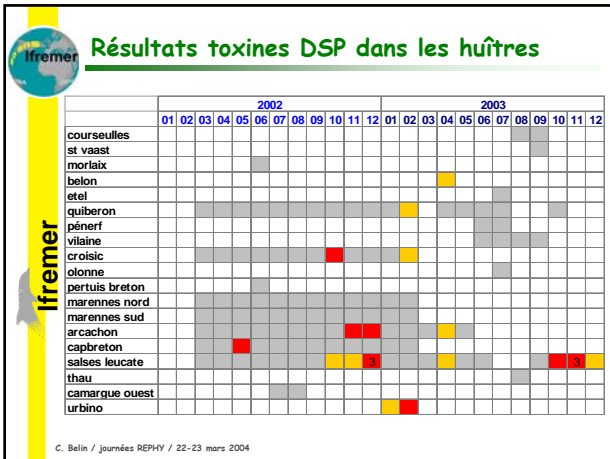



Ifremer

Recherche de toxines DSP dans les huîtres

	2002												2003											
	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
courseulles																								
st vaast																								
morlaix																								
belon																								
etel																								
quiberon																								
pénerf																								
vilaine																								
croisic																								
olonne																								
pertuis breton																								
marennes nord																								
marennes sud																								
arcachon																								
capbreton																								
salses leucate																								
thau																								
camarque ouest																								
urbino																								

C. Belin / journées REPHY / 22-23 mars 2004





Conclusion

- Poursuite de la surveillance des toxines DSP dans les huîtres en 2004
- Procédures similaires à celles de 2003

Ifremer

C. Belin / journées REPHY / 22-23 mars 2004

Ifremer

PECTINIDES

Ifremer

Journées REPHY

Ifremer

dispositions réglementaires

- Projet de modification de réglementation européenne prévoit d'inclure les gisements de pectinidés dans les zones de production devant faire l'objet d'une surveillance sanitaire.
- Directive 91/492 fixe les règles sanitaires régissant la production et la mise sur le marché des bivalves vivants. L'article 3 fixe les prescriptions sanitaires auxquelles les pectinidés doivent satisfaire.

Journées REPHY / 22-23 mars 2004

Ifremer

Mise en place de la surveillance

- A la suite d'une recherche de toxines diarrhéiques en 2001, 120 tonnes de pétoncles pêchés dans les anglo-normandes ont été bloqués à la frontière espagnole.
- En 2002, les services vétérinaires suivent les pectinidés par des prélèvements sous criée
- En 2003, à la demande de la DPMA mise en place d'un suivi des phycotoxines dans les coquilles Saint Jacques par l'Ifremer

Journées REPHY / 22-23 mars 2004

Ifremer

Zone de surveillance

- Les deux principales zones de production de coquilles St Jacques surveillées par Ifremer en 2003 sont :
La Baie de Seine et la Baie de Saint Brieuc
- Le plan de surveillance des DSV se focalise sur les coquilles et les pétoncles d'autres origines.
- En fin d'année des analyses ont été réalisées par l'Ifremer en baie de Quiberon et dans les Pertuis.

Journées REPHY / 22-23 mars 2004

Ifremer

Recherche de toxines DSP, PSP, ASP dans les pectinidés des zones de production en 2003

Journées REPHY / 22-23 mars 2004

Ifremer

Stratégie de la surveillance

La stratégie habituelle du RePHY repose sur le suivi de la flore phytoplanctonique. L'identification et le dénombrement, s'il s'agit d'espèces toxiques, peuvent conduire à des prélèvements de coquillages.

La surveillance des pectinidés est réalisée de façon systématique, tous les quinze jours, pendant la période de pêche, pour les trois toxines DSP, PSP, ASP.

Journées REPHY / 22-23 mars 2004

REPHY- Régime dérogatoire – Surveillance systématique des PSP dans les coquillages du bassin d’Arcachon
Partenariat DPMA

Problème posé depuis 1997

- Présence de toxines PSP dans les coquillages à Arcachon en hiver
- Absence dans l’eau de phytoplancton producteur de PSP
- 1997 - Identification chimique : gonyautoxines GTXs (GTX-1, -2, -3, -4)

Actions menées de 1998 à 2002 (DEL/AR, DEL/MP)

- augmentation des examens phytoplanctoniques dans l’eau
- suivi de la toxicité des coquillages

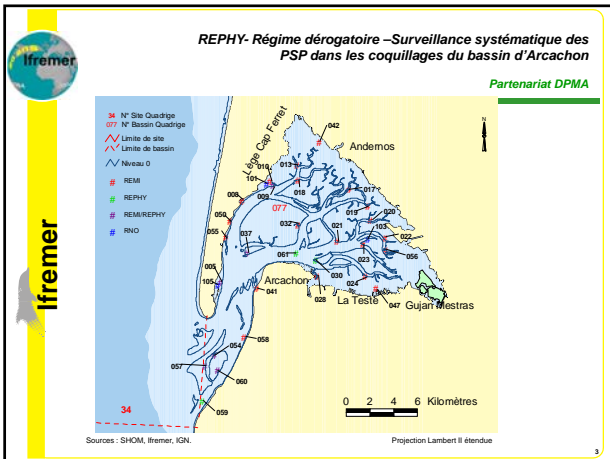
REPHY- Régime dérogatoire – Surveillance systématique des PSP dans les coquillages du bassin d’Arcachon
Acquisition de données PSP à Arcachon
Partenariat DPMA

2002

Révision du plan d’échantillonnage et de surveillance à Arcachon
suite au rapport de l’OAV pour la mission d’inspection du 15 octobre au 26 octobre 2001

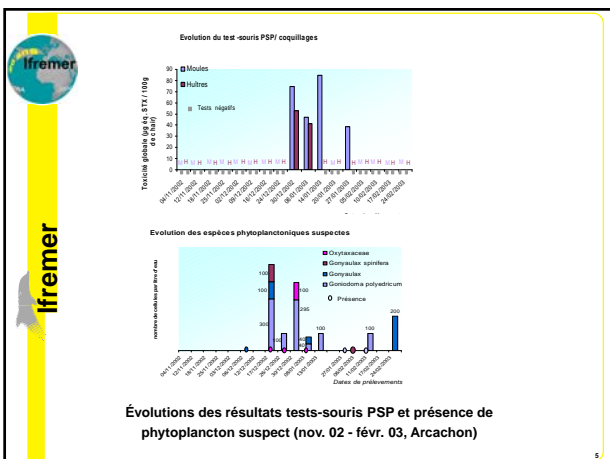
Surveillance systématique des PSP en automne-hiver, assurée par le laboratoire côtier d’Arcachon (régime dérogatoire)

- Si présence de PSP dans les coquillages
 - ✓ Expertise par analyses chimiques
 - ✓ Renforcement des observations dans l’eau



Espèces phyto observées durant l’épisode PSP à Arcachon en hiver

Photos : Nadine Neaud (DEL/AR)



REPHY- Régime dérogatoire – Surveillance systématique des PSP dans les coquillages du bassin d’Arcachon
Acquisition de données PSP à Arcachon
Partenariat DPMA

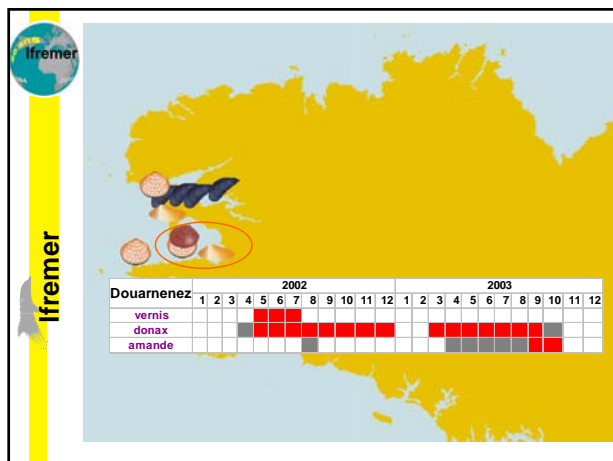
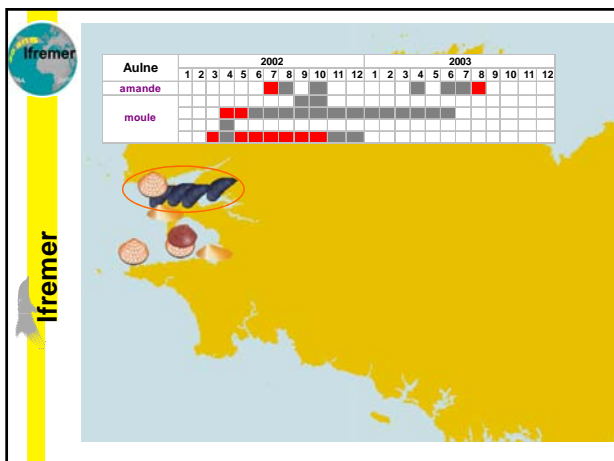
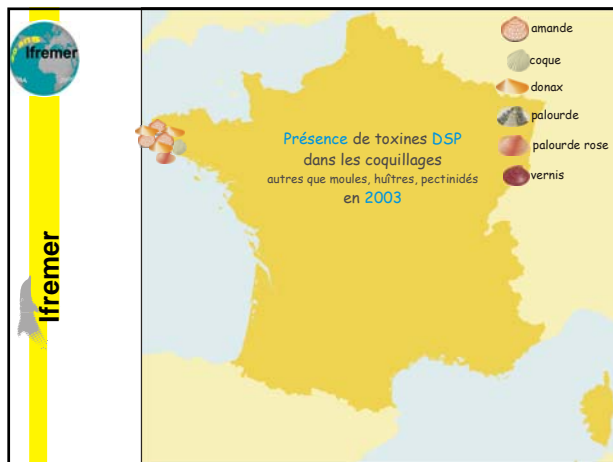
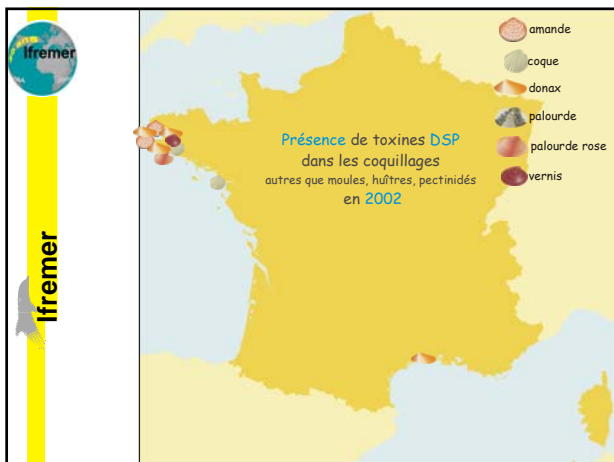
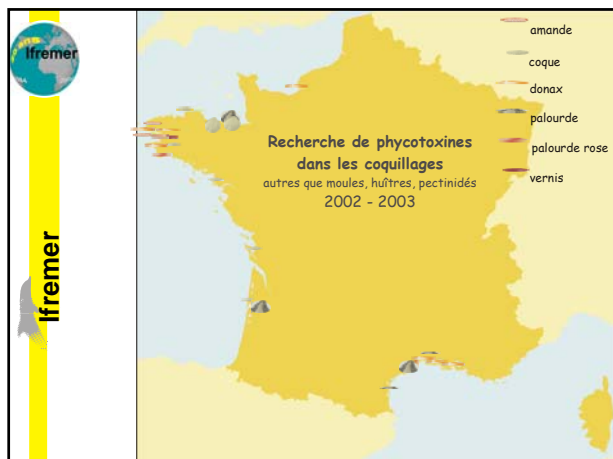
Bilan de la campagne de surveillance Octobre 2003 – Février 2004

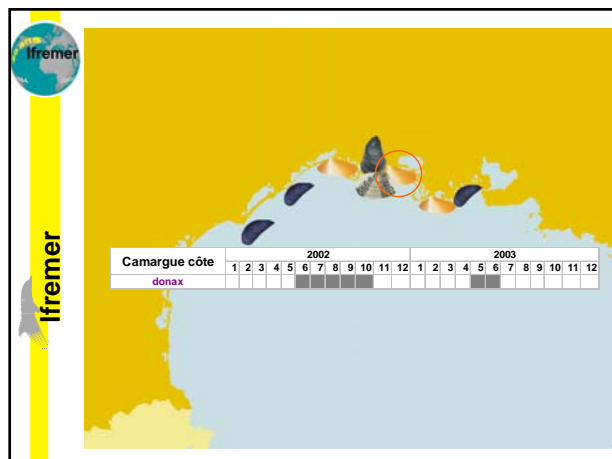
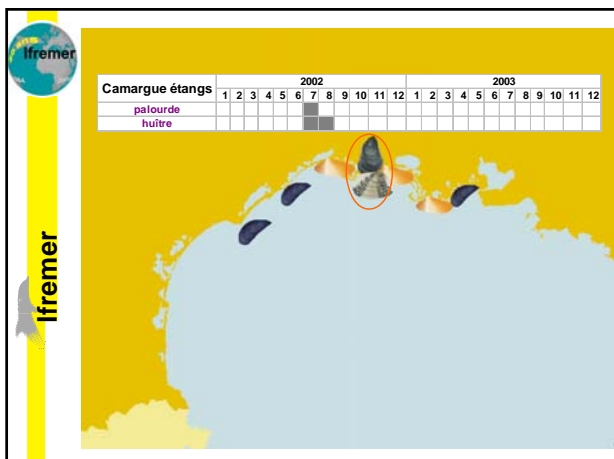
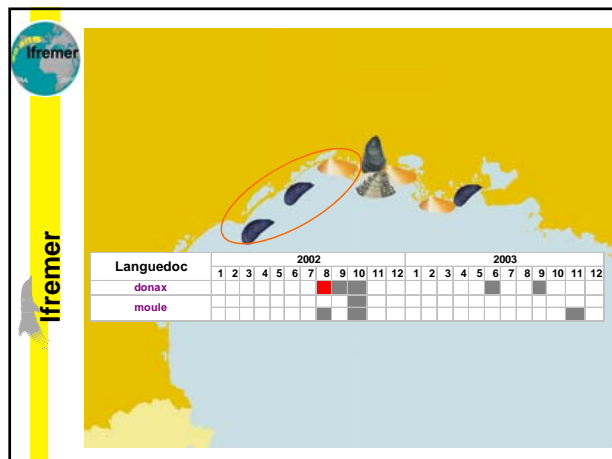
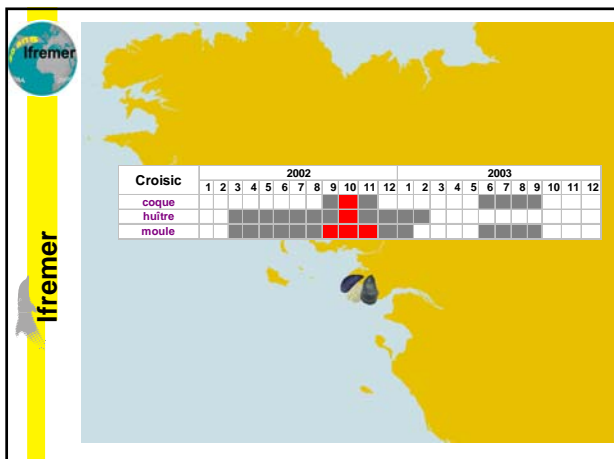
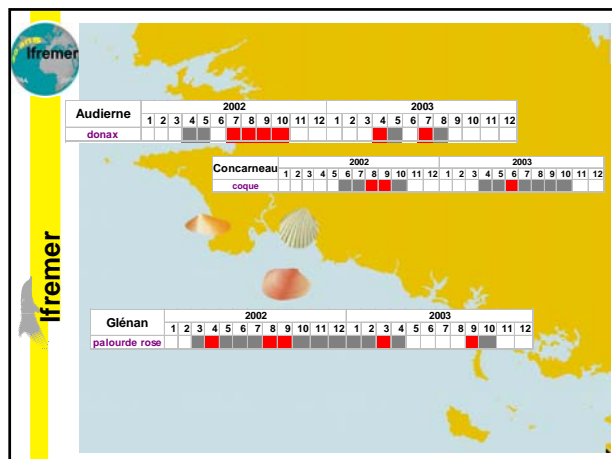
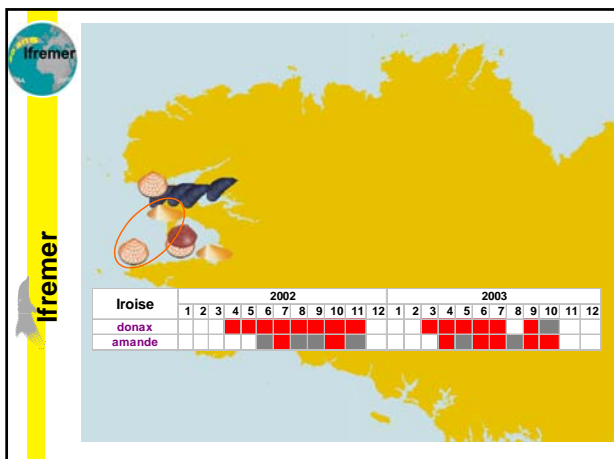
- 70 échantillons ont été analysés. Tous les résultats NEGATIFS
- Absence d’espèce suspectes dans l’eau

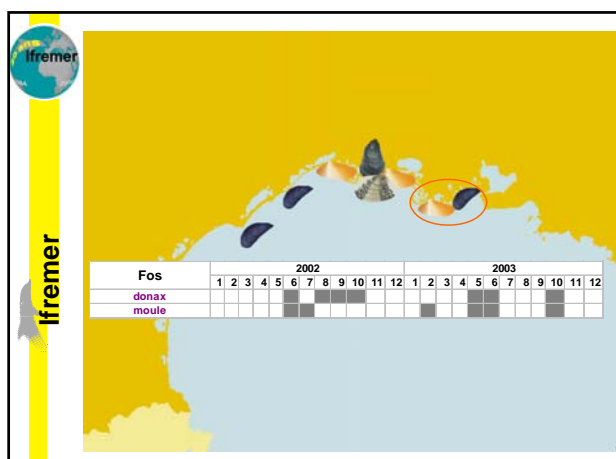
ACTION RECONDUITE EN 2004 - 2005

Surveillance des phycotoxines dans les coquillages
 autres que moules, huîtres, pectinidés

Bilan des actions 2003



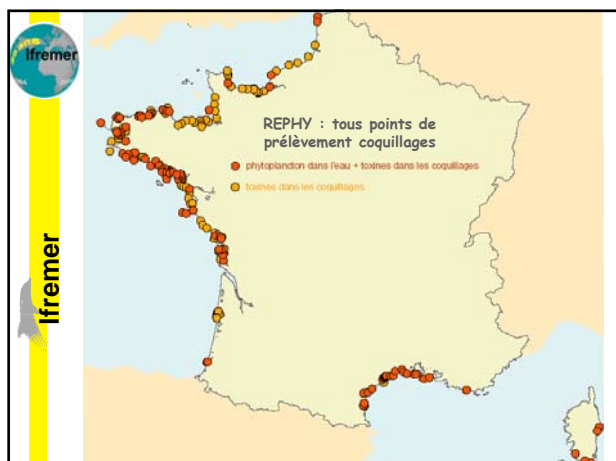




Nombre de tests / analyses toxines (tous coquillages sauf pectinidés)

DSP			PSP			ASP		
2001	2002	2003	2001	2002	2003	2001	2002	2003
500	1100	600	70	90	180	60	150	80
730 moyenne			110 moyenne			100 moyenne		
↑ DINO			↑ ALEX			↑ PSNZ		

C. Belin / journées REPHY / 22-23 mars 2004



Nombre de tests / analyses toxines (tous coquillages sauf pectinidés)

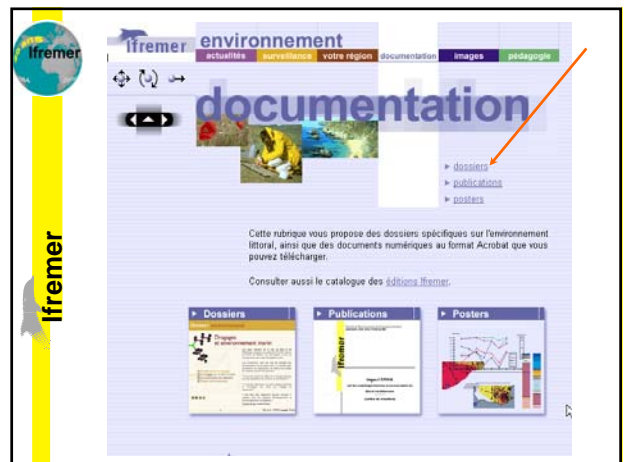
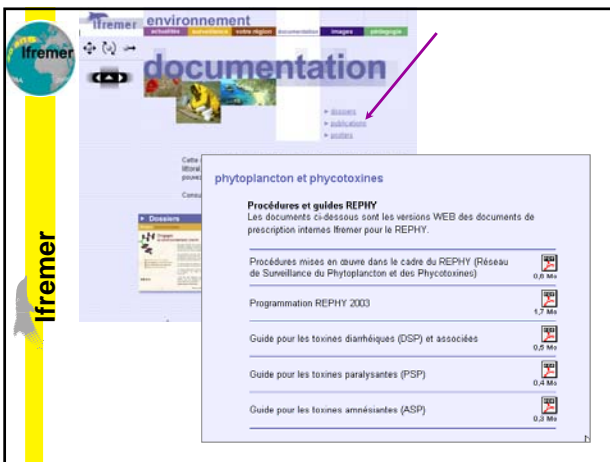
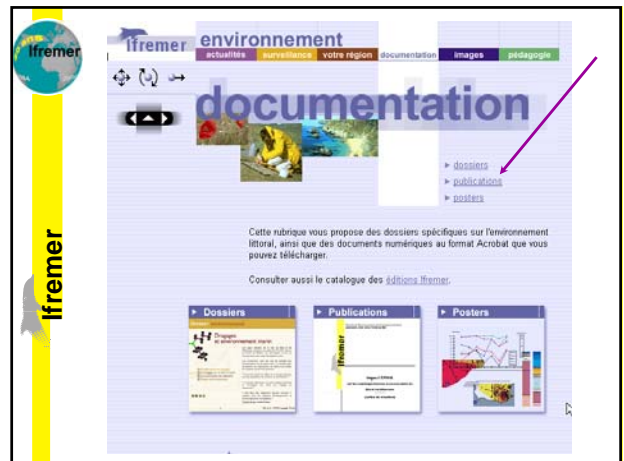
DSP			PSP			ASP		
2001	2002	2003	2001	2002	2003	2001	2002	2003
502	1091	591	67	84	177	59	152	83
728 moyenne			110 moyenne			98 moyenne		

Une surveillance systématique donnerait :
 190 points × 52 semaines × 3 toxines
 ~ 30 000 tests et analyses

C. Belin / journées REPHY / 22-23 mars 2004

- Bilan des actions 2003**
- Comparaison avec 2001 et 2002
 - Actions à continuer en 2004
 - DSP huîtres
 - pectinidés
- C. Belin / journées REPHY / 22-23 mars 2004

- Bilan des actions 2003**
- Comparaison avec 2001 et 2002
 - DSP huîtres - pectinidés
 - actions à continuer en 2004
 - Mise à disposition d'informations concernant REPHY sur :
<http://www.ifremer.fr/envlit/index.htm>
- C. Belin / journées REPHY / 22-23 mars 2004





Analyse de la variabilité spatio-temporelle des populations microalgales côtières observées par le «REseau de surveillance du PHYtoplancton et des phycotoxines» (REPHY)

Isabelle Gailhard

Directeur de thèse : Ph. Gros (Ifremer – Centre de Nantes)
Encadrement scientifique : J.P. Durbec (Centre d’Océanologie de Marseille)
B. Béliæff, C. Belin, P.Lazure, E. Nézan (Ifremer)

Analyse de la variabilité spatio-temporelle des populations microphytoplanctoniques côtières

Problématique

Description des données

- Le Réseau de Surveillance du Phytoplancton et des Phycotoxines

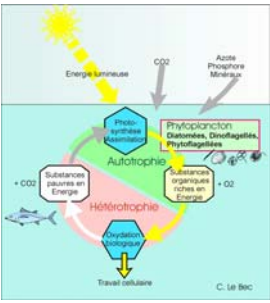
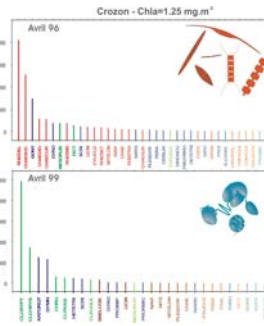
Analyse de la variabilité spatio-temporelle des populations microalgales observées sur le littoral français

- A grande échelle géographique
 - Comparaison inter-sites
 - Homogénéités géographiques
- A l'échelle locale
 - Facteurs hydroclimatiques influant sur la dynamique du genre *Dinophysis* dans le Mor-Bras

Conclusion - perspectives

Le phytoplancton dans les écosystèmes aquatiques


Flux de matière vs. Diversité floristique

C. Le Bec

1. Description des données : le Réseau de Surveillance du Phytoplancton et des Phycotoxines

- Deux objectifs
- Mise en oeuvre
 - Stratégie d'échantillonnage
 - Couverture géographique



REPHY : points de prélèvement eau et paramètres mesurés

- Phytoplancton : toutes les espèces Chlorophyllée
- Phytoplancton : espèces toxiques (toute l'année)
- Phytoplancton : espèces toxiques (éprouvément)
- température, salinité, turbidité sur tous les points

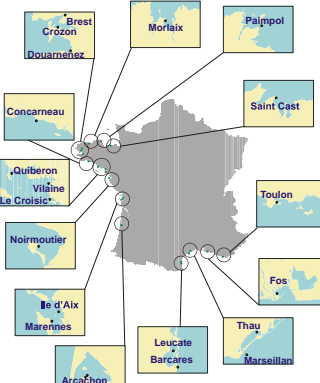
2. Analyse à grande échelle géographique : sélection des données

Objectif : comparer les modalités de variabilité temporelle des populations phytoplanctoniques entre sites d'échantillonnage

Qualité des données (difficulté d'identification taxinomique, confusions morphologiques ...)

1995/2000 – 20 sites d'échantillonnage et 69 unités taxinomiques

Des données inter-comparables d'un site d'échantillonnage à l'autre et dans le temps



2. Analyse à grande échelle géographique : identification des différences entre sites

$T = 64$ abondances mensuelles $t = 1, \dots, T$

$S = 20$ sites $s = 1, \dots, S$

Unités Taxinomiques $U = 69$ unités taxinomiques $u = 1, \dots, U$

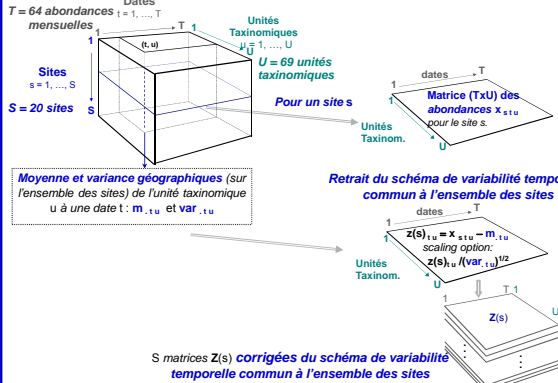
Pour un site s

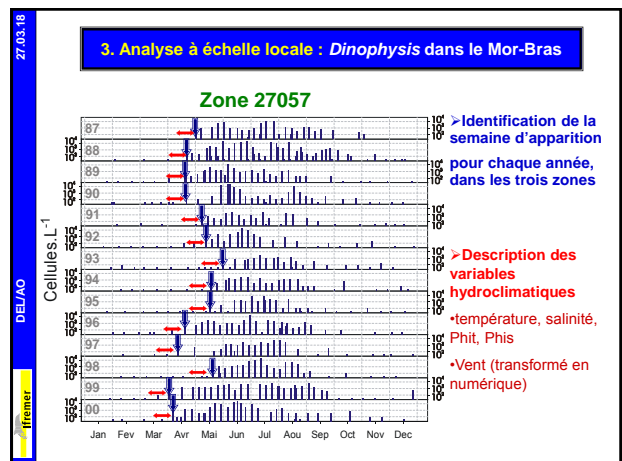
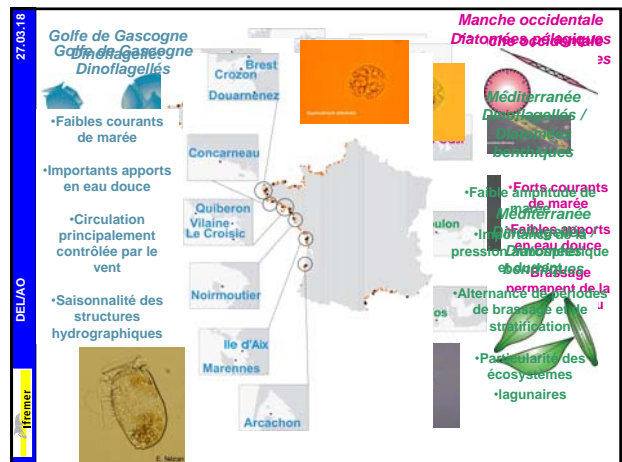
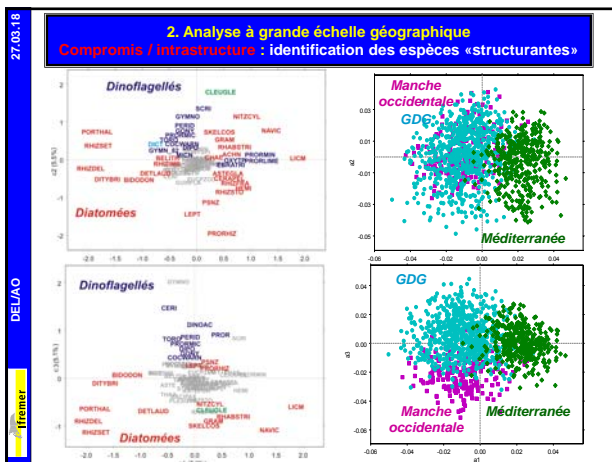
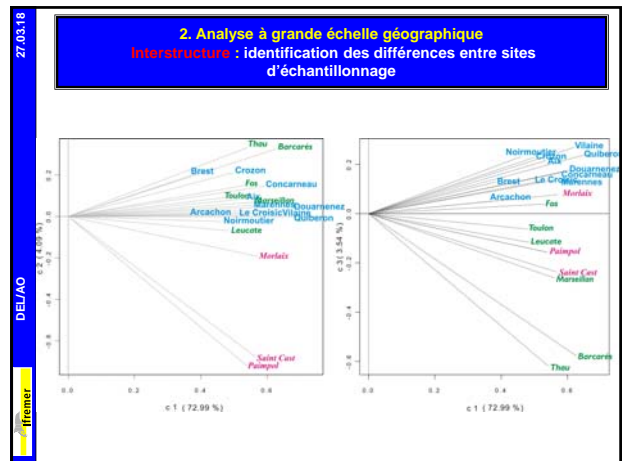
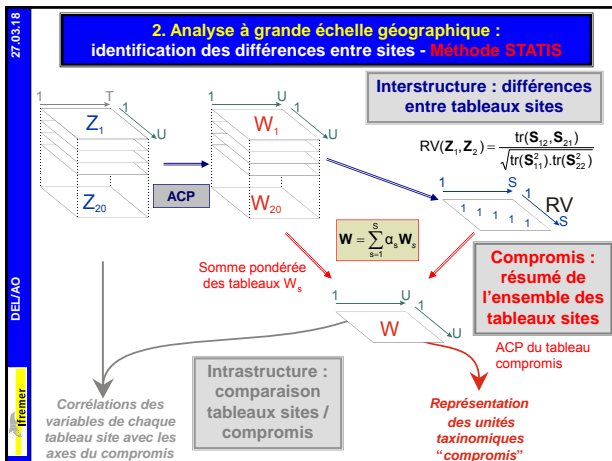
Moyenne et variance géographiques (sur l'ensemble des sites) de l'unité taxinomique u à une date t : $m_{t,u}$ et $var_{t,u}$

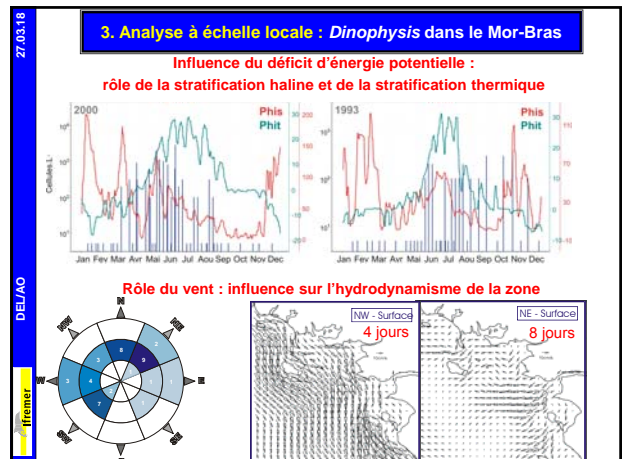
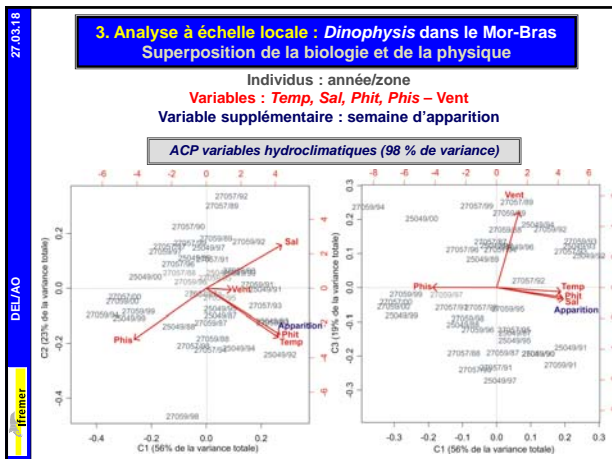
Retrait du schéma de variabilité temporelle commun à l'ensemble des sites

$Z(s)_{t,u} = x_{s,t,u} - m_{t,u}$
scaling option: $z(s)_{t,u} / (\text{var}_{t,u})^{1/2}$

S matrices $Z(s)$ corrigées du schéma de variabilité temporelle commun à l'ensemble des sites








- 27.03.18
- 3. Analyse à échelle locale : *Dinophysis* dans le Mor-Bras**
- Description des conditions favorables au développement du genre *Dinophysis* dans le Mor-Bras
- Stratification de la colonne d'eau
 - Stratification haline printanière : développement précoce
 - Pas de stratification haline printanière : développement tardif à la mise en place d'une stratification thermique
 - Température, salinité
 - Vent
 - Développement sous des régimes de vent favorisant le confinement des eaux : présence d'un inoculum en zones côtières
- DELIAO
- Ifremer

- 27.03.18
- Analyse de la variabilité spatio-temporelle des populations microphytoplanctoniques côtières**
Conclusions et perspectives
- Analyse à grande échelle géographique
 - Typologie des sites en « régions » et mise en évidence des espèces phytoplanctoniques structurantes - Importance de « l'influence océanique »
 - Analyse à l'échelle locale : mise en évidence des facteurs hydroclimatiques qui influent sur la dynamique du genre *Dinophysis* dans le Mor-Bras
 - Détermination de « situations hydroclimatiques » favorables au développement d'une population toxique – intérêt de l'utilisation de descripteurs synthétiques de l'environnement physique pour discriminer les différents forçages
- DELIAO
- Ifremer

- 27.03.18
- Analyse de la variabilité spatio-temporelle des populations microphytoplanctoniques côtières**
Conclusions et perspectives
- Une étude synoptique
 - Démarche peu fréquente
 - Nécessité de disposer de données à long terme et à grande échelle géographique pour progresser dans la connaissance et la compréhension de l'écologie du phytoplancton
 - Une analyse essentiellement descriptive
 - Des méthodes permettant de résumer l'information contenue dans un ensemble complexe de données
 - La première étape vers des études visant à identifier précisément le rôle de l'ensemble des facteurs environnementaux dans la dynamique des populations phytoplanctoniques (variables physico-chimiques, nutriments)
 - Une analyse applicable à d'autres populations phytoplanctoniques toxiques ou nuisibles et/ou dans d'autres zones géographiques ?
- DELIAO
- Ifremer

La directive cadre sur l'eau



*Journées RÉPHY
22 et 23 mars 2004*

DIRECTION DE L'EAU

27/03/2018 Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable

La directive cadre sur l'eau

- Généralités
- Le DCE en milieu marin
 - La délimitation des masses d'eau
 - la qualification de l'état des eaux

DIRECTION DE L'EAU

27/03/2018 Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable

Les objectifs de la DCE

- Bon état des eaux en 2015
- Non détérioration
- Substances prioritaires
- Zones protégées

DIRECTION DE L'EAU

27/03/2018 Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable

La notion de bon état (eaux de surface)

État écologique (biologie, physicochimie) **État chimique** (normes qualité environnementales)

Très bon	→	😊 et 😊	←	Bon
Bon	→		←	
Moyen	→		←	
Médiocre	→	😞	←	Médiocre
Mauvais	→		←	

Une situation appréciée par rapport aux conditions de référence (très bon état)...

DIRECTION DE L'EAU

27/03/2018 Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable

Les objectifs de la DCE

- Bon état des eaux en 2015
- Non détérioration
- Substances prioritaires
- Zones protégées

DIRECTION DE L'EAU

27/03/2018 Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable

Les objectifs de la DCE

- Bon état des eaux en 2015
- Non détérioration
- Substances prioritaires
- Zones protégées

DIRECTION DE L'EAU

27/03/2018 Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable

Les substances prioritaires

substances figurant sur une liste dressée par la commission européenne, réactualisée tous les 4 ans et pour lesquelles sont fixés des objectifs spécifiques:

- pour celles qualifiées de « dangereuses »
 - arrêter ou supprimer progressivement les rejets
- pour les autres
 - réduire progressivement les rejets, émissions et pertes.

33 substances (11 dangereuses)

27/03/2018 Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable

Les objectifs de la DCE

- Bon état des eaux en 2015
- Non détérioration
- Substances prioritaires
- Zones protégées

27/03/2018 Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable

Les zones protégées

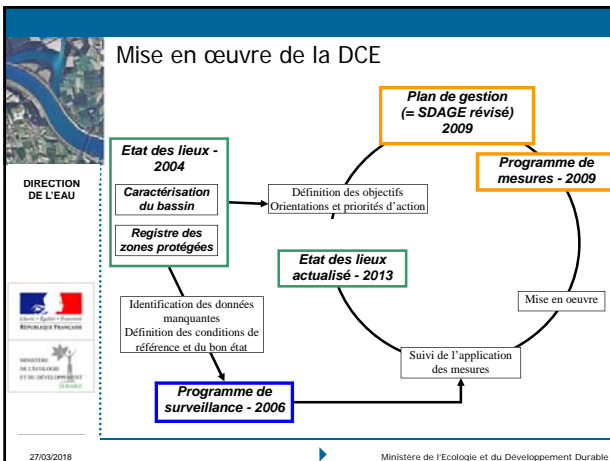
☐ toutes les zones bénéficiant d'une protection au titre de la législation européenne:

- captages AEP (> 10 m3/j ou 50 hab)
- zones de protection d'espèces importantes du point de vue économique (**zones conchylicoles**)
- zones de loisirs (y.c. eaux de baignade)
- zones sensibles et vulnérables
- protection des habitats et des espèces

27/03/2018 Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable

Une gestion par bassin hydrographique

27/03/2018 Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable



Le programme de surveillance

un réseau de sites de référence

↓

Définition du très bon état

27/03/2018 Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable

Le programme de surveillance

un réseau de sites de référence ▲

Une surveillance patrimoniale ▲

↓

Évolution des caractéristiques des milieux à long terme

DIRECTION DE L'EAU

MINISTÈRE DE L'ÉCOLOGIE ET DU DÉVELOPPEMENT DURABLE

27/03/2018

Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable

Le programme de surveillance

un réseau de sites de référence ▲

Une surveillance patrimoniale ▲

Une surveillance opérationnelle ◆

↓

Risque d'écart à l'objectif

DIRECTION DE L'EAU

MINISTÈRE DE L'ÉCOLOGIE ET DU DÉVELOPPEMENT DURABLE

27/03/2018

Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable

Le programme de surveillance

Des réseaux de référence ▲

Une surveillance patrimoniale ▲

Une surveillance opérationnelle ◆

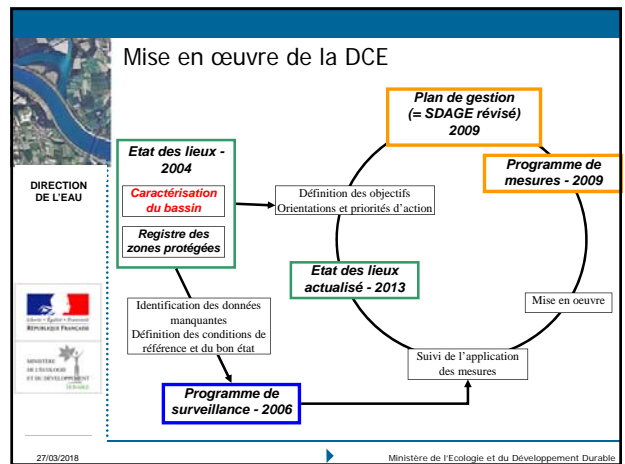
Des réseaux d'enquête ◆

DIRECTION DE L'EAU

MINISTÈRE DE L'ÉCOLOGIE ET DU DÉVELOPPEMENT DURABLE

27/03/2018

Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable



Caractérisation du bassin

- Délimiter et caractériser les masses d'eau
- Identifier les pressions dues aux activités
- Évaluer le risque de non réalisation des objectifs environnementaux
- Rendre compte de la tarification et de la récupération des coûts

Un premier état des lieux

- réalisé avec les données disponibles
- complété par un bilan de réalisation du SDAGE

DIRECTION DE L'EAU

MINISTÈRE DE L'ÉCOLOGIE ET DU DÉVELOPPEMENT DURABLE

27/03/2018

Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable

La délimitation des masses d'eau

DIRECTION DE L'EAU

MINISTÈRE DE L'ÉCOLOGIE ET DU DÉVELOPPEMENT DURABLE

27/03/2018

Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable

Délimiter et caractériser les masses d'eau

- Eaux de surface (rivières, lacs, **eaux de transition, eaux côtières**)
- Eaux souterraines
- Identification des masses d'eau artificielles
- Identification provisoire des masses d'eau fortement modifiées

27/03/2018 Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable

LA DCE EN MILIEU MARIN

27/03/2018 Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable

LA DCE EN MILIEU MARIN

Les masses d'eau

27/03/2018 Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable

Les eaux côtières

Eaux situées à moins de un mille marin de la ligne de base servant pour la mesure de la largeur des eaux territoriales

27/03/2018 Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable

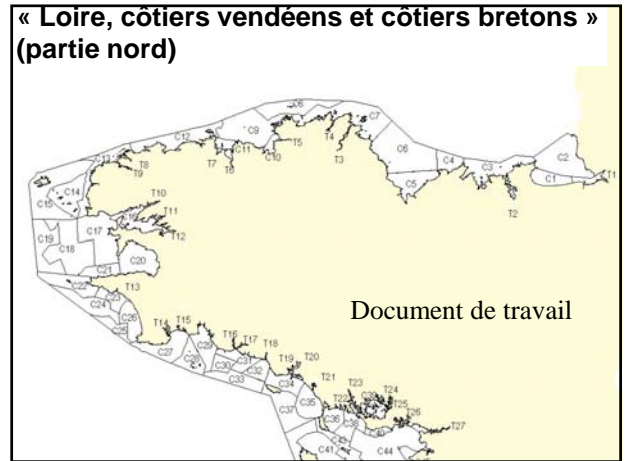
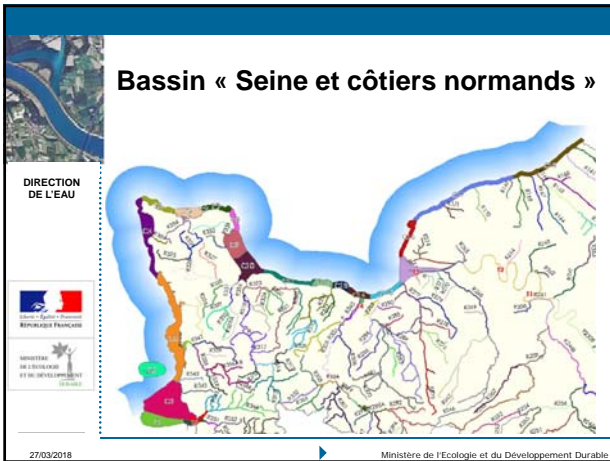
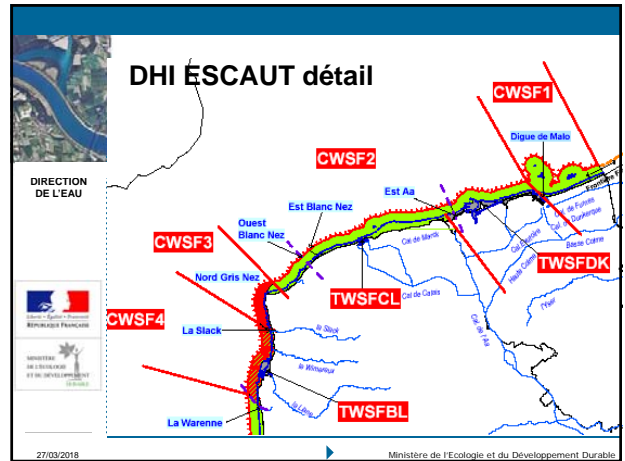
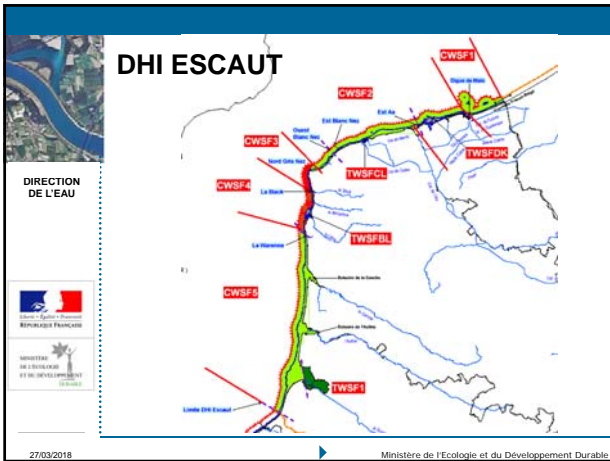
Les eaux de transition

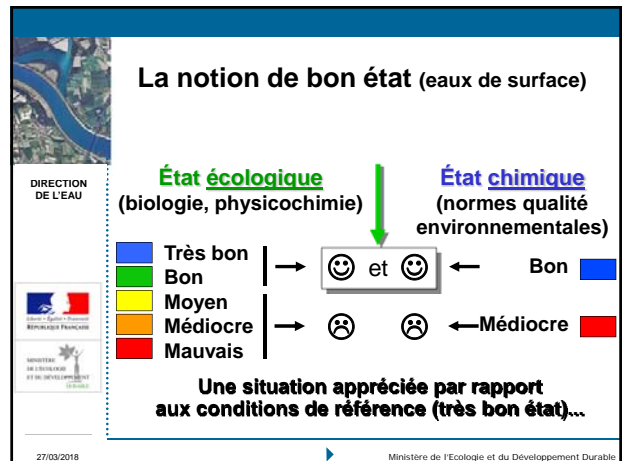
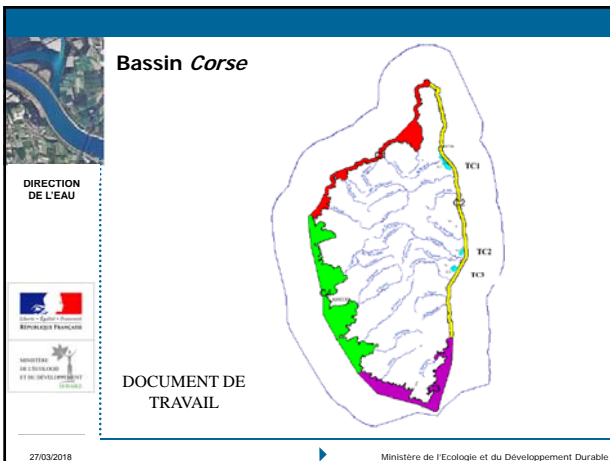
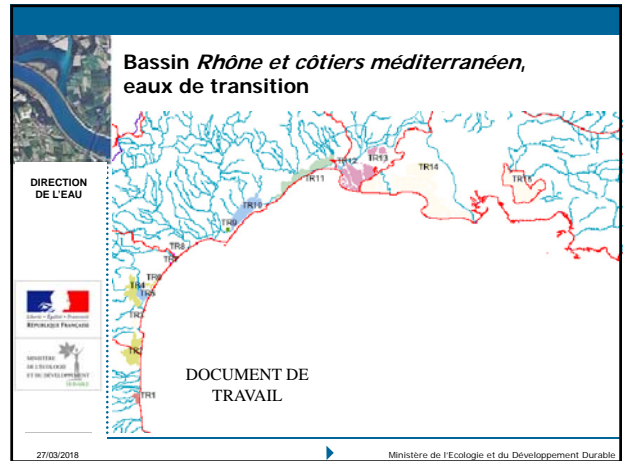
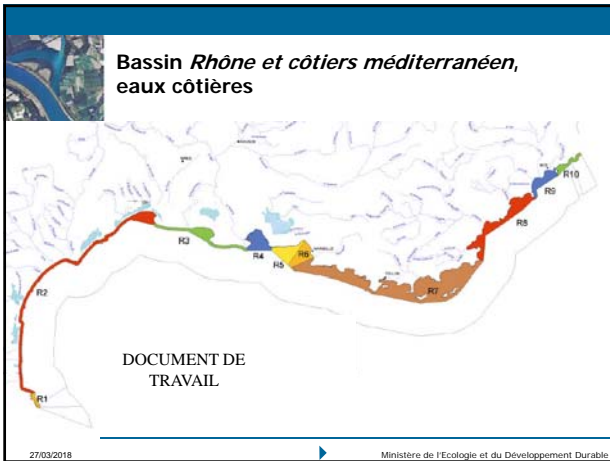
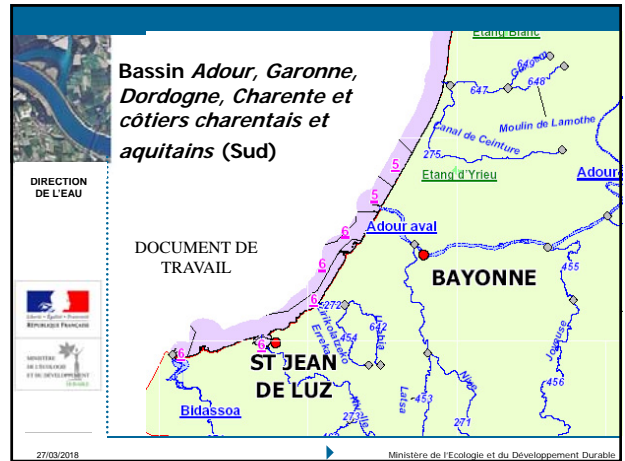
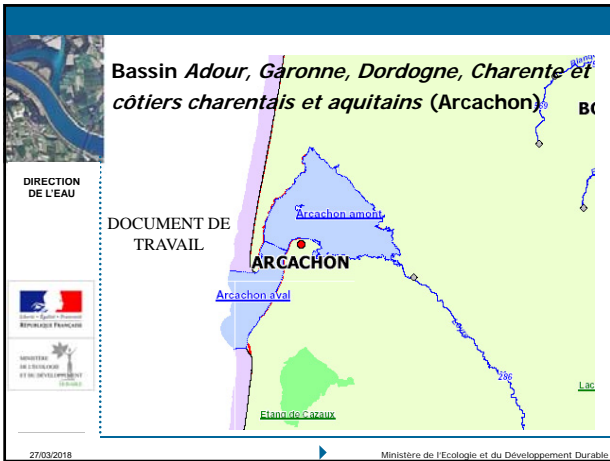
Eaux situées à proximité des embouchures de rivières, qui sont partiellement salines en raison de leur proximité aux eaux côtières mais qui restent fondamentalement influencées par des courants d'eau.


27/03/2018 Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable

La délimitation des masses d'eau (typologie)

27/03/2018 Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable








Éléments de qualité biologique pour les eaux côtières et les eaux de transition

DIRECTION DE L'EAU

- Phytoplancton
- Algues macroscopiques et angiospermes
- Faune benthique invertébrée
- Ichtyofaune (pour les eaux de transition seulement)

27/03/2018 Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable



Le bon état écologique (eaux de surface)

Conditions de référence par type → **Très bon état**

Bon état


Moyen

Médiocre

Mauvais

Définitions normatives des classifications de l'état écologique (Ann. V-1.2.)

27/03/2018 Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable




Exemple de définitions normatives phytoplancton

TRÈS BON ÉTAT

- La composition et l'abondance des taxa correspondent totalement ou presque totalement aux conditions non perturbées.
- La biomasse moyenne de phytoplancton correspond aux conditions physico-chimiques caractéristiques et n'est pas de nature à détériorer sensiblement les conditions de transparence caractéristiques.
- L'efflorescence planctonique est d'une fréquence et d'une intensité qui correspondent aux conditions physico-chimiques caractéristiques.

27/03/2018 Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable




Exemple de définitions normatives phytoplancton

BON ÉTAT

- La composition et l'abondance des taxa montrent de légers signes de perturbation.
- Légères modifications dans la biomasse par rapport aux conditions caractéristiques. Ces changements n'indiquent pas de croissance accélérée des algues entraînant des perturbations indésirables de l'équilibre des organismes présents dans la masse d'eau ou de la qualité de l'eau.
- La fréquence et l'intensité de l'efflorescence planctonique peuvent augmenter légèrement.

27/03/2018 Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable




Exemples de définitions normatives phytoplancton

ÉTAT MOYEN

- La composition et l'abondance des taxa planctoniques diffèrent modérément de celles des communautés caractéristiques.
- La biomasse des algues dépasse sensiblement la fourchette associée aux conditions caractéristiques et est de nature à se répercuter sur d'autres éléments de qualité biologique.
- La fréquence et l'intensité de l'efflorescence planctonique peuvent augmenter modérément. Une efflorescence persistante peut se produire durant les mois d'été.

27/03/2018 Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable



CONCLUSIONS

- des outils de classification à construire et à intercalibrer.
- des réseaux de collecte de données à adapter.

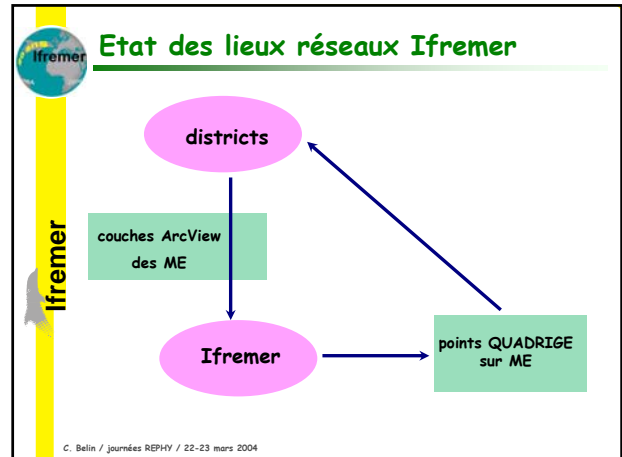
27/03/2018 Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable

- Prise en compte des obligations de la DCE dans les évolutions du REPHY et du RNO. Interactions avec les autres réseaux de surveillance, en particulier les réseaux régionaux. Etat des lieux.

Catherine Belin, Didier Claisse, Isabelle Gailhard, Ifremer / Nantes

Prise en compte de la DCE dans les évolutions du REPHY, du RNO et des autres réseaux de surveillance

Didier Claisse, Isabelle Gailhard et Catherine Belin



Etat des lieux réseaux Ifremer

- Positionnement des points des réseaux Ifremer sur les cartes des masses d'eaux
 - points QUADRIGE seulement
 - pour les réseaux concernés par les paramètres DCE

C. Belin / journées REPHY / 22-23 mars 2004

Etat des lieux réseaux Ifremer

- réseaux cartographiés
 - RNO
 - REPHY
 - SRN
 - RHLN
 - ARCHYD
- réseaux non cartographiés, mais concernés par la DCE
 - REBENT
 - RINBIO
 - RSL
 - etc

C. Belin / journées REPHY / 22-23 mars 2004

couches carto	paramètres	programmes concernés	nombre de points	total points
physico-chimie	TEMP	RNOHYD	129	253
	SALI	REPHY	93	
	TURB	REPHY+SRN	3	
	TURB-FNU	REPHY+RHLN	11	
	SECCHI	REPHY+ARCHYD	3	
	OXYGENE	SRN	8	
nutriments	NO3	ARCHYD	6	160
	NO2	RNOHYD	129	
	NO3+NO2	REPHY+RHLN	9	
	PO4	REPHY+Morbihan	2	
	NH4	SRN	11	

couches carto	paramètres	programmes concernés	nombre de points	total points
polluants / matière vivante	liste	RNOMV	81	81
polluants / sédiment	liste	RNOSED	x.100	x.100
chlorophylle	CHLOROA PHEO	RNOHYD	117	181
		REPHY	46	
		REPHY+SRN	1	
		REPHY+ARCHYD	1	
		SRN	8	
phytoplankton	FLORTOT FLORPAR	REPHY flore totale	34	113
		REPHY flore partielle	71	
		SRN flore totale	8	

- Prise en compte des obligations de la DCE dans les évolutions du REPHY et du RNO. Interactions avec les autres réseaux de surveillance, en particulier les réseaux régionaux. Etat des lieux.

Catherine Belin, Didier Claisse, Isabelle Gailhard, Ifremer / Nantes

Description détaillée d'une Masse d'Eau (points de surveillance Ifremer et paramètres mesurés)
District Adour Garonne - Masse d'eau côtière n°6 : Arcachon Amont

Identifiant	Libellé	Physico-chimie		Nutriments		Polluants / MV		Polluants / Sédiments	
		10 ans	5 ans	10 ans	5 ans	10 ans	5 ans	10 ans	5 ans
34077004	Teychan		REPHY						
34077024	Larros							RNOSED	RNOSED
34077066	Courbey		ARCHYD		ARCHYD				
34077067	Jacquets		REPHY		ARCHYD				
34077068	Arès		ARCHYD		ARCHYD				
34077069	Girouasse		ARCHYD		ARCHYD				
34077070	Tès		ARCHYD		ARCHYD				
34077071	Comprian (e)		REPHY		ARCHYD				
34077072	Les Argiles							RNOSED	RNOSED
34077073	Balise E4							RNOSED	RNOSED
34077074	Gahignon							RNOSED	RNOSED
34077075	Comprian							RNOSED	RNOSED
34077101	Les Jacquets					RNOMV	RNOMV		
34077103	Comprian					RNOMV	RNOMV		

C. Belin / journées REPHY / 22-23 mars 2004

Description détaillée d'une Masse d'Eau (points de surveillance Ifremer et paramètres mesurés)
District Adour Garonne - Masse d'eau côtière n°6 : Arcachon Amont

Identifiant	Libellé	Chlorophylle		Phytoplankton		A venir	Autres
		10 ans	5 ans	10 ans	5 ans		
34077004	Teychan		REPHY		REPHY TOT		
34077024	Larros						
34077066	Courbey		ARCHYD				
34077067	Jacquets		ARCHYD				
34077068	Arès		ARCHYD				
34077069	Girouasse		ARCHYD				
34077070	Tès		ARCHYD				
34077071	Comprian (e)		ARCHYD				
34077072	Les Argiles						
34077073	Balise E4						
34077074	Gahignon						
34077075	Comprian						
34077101	Les Jacquets						
34077103	Comprian						

11 points
DRAG

20 points
REMI
2 points
REPHY
toxines

C. Belin / journées REPHY / 22-23 mars 2004

Intérêt des séries de données phytoplancton

pour la définition d'indicateurs SEQ → DCE

pour le suivi et la veille sur les espèces (potentiellement) toxiques et nuisibles

SEQ : quelques définitions

- usages
 - conchyliculture
 - état écologique
- descripteurs / paramètres
 - eutrophisation
 - micro-algues (toutes)
 - micro-algues toxiques ou nuisibles
 - DSP
 - PSP
 - ASP
 - micro-algues nuisibles

SEQ : système de classification

eutrophisation / micro-algues

critère : somme des fréquences de blooms (> 100000 cell/l) sur période glissante de 5 ans

État écologique	< 5 blooms	< 10 blooms	Conchyliculture
	> 5 & < 10	> 10 & < 20	
	> 10 & < 20	> 20	
	> 20 & < 40		
	> 40		

SEQ : système de classification

micro-algues toxiques et nuisibles / DSP, PSP, ASP

critère : nombre de semaines de résultats positifs sur période glissante de 5 ans

État écologique	0 semaine	Conchyliculture
	1 à 5	
	6 à 25	
	25 à 50	
	> 50	

SEQ : système de classification

micro-algues toxiques et nuisibles / micro-algues nuisibles

critère : somme des fréquences de blooms (> 1 000 000 cell/l) sur période glissante de 5 ans

État écologique	0 bloom	Conchyliculture
	1 à 2	
	3 à 5	
	5 à 10	
	> 10	

SEQ : système de classification

micro-algues toxiques et nuisibles / micro-algues nuisibles

définition : espèces produisant des exotoxines dangereuses pour les organismes marins, ou formant des blooms nuisibles (anoxie, mucus, etc)

espèces	toxines	commentaires
<i>Alexandrium pseudogonyaulax</i> (= <i>Goniodoma pseudogonyaulax</i> = <i>A. hiranoi</i> ?)	ichthyotoxines	
<i>Chattonella</i> sp.	ichthyotoxines	
<i>Chrysochromulina</i> spp.	ichthyotoxines	
<i>Dictyocha</i> sp.	ichthyotoxines	
<i>Fibrocapsa japonica</i>	fibrocapsines	
<i>Karenia mikimotoi</i> (= <i>Gymnodinium mikimotoi</i> = <i>G. nagasakiense</i>)	ichthyotoxines	
<i>Gymnodinium breve</i> (= <i>Pyrodiscus brevis</i>)	ichthyotoxines	rare et à faible concentration
<i>Gymnodinium splendens</i> (= <i>G. sanguineum</i>)	ichthyotoxines	
autres espèces de <i>Gymnodinium</i> (<i>G.sp.</i>) et de <i>Gyrodinium</i> (<i>G. corsicum</i> , <i>G. spirale</i> ?)	ichthyotoxines	
<i>Heterosigma akashiwo</i> (= <i>H. carterae</i>)	ichthyotoxines	
<i>Noctiluca scintillans</i>	?	
<i>Phaeocystis</i> sp.	(mucus)	
<i>Prorocentrum minimum</i> + <i>P. balticum</i> + <i>P. cordatum</i>	?	
<i>Peridinium trochoideum</i> (= <i>Scrpsiella trochoidea</i>)	ichthyotoxines	
<i>Asterionella</i> sp. <i>A. glacialis</i>	non toxique	blooms > 10 ⁶

eutrophisation / micro-algues
 critère : somme des fréquences de blooms
 (> 100000 cell/l) sur période glissante de 5 ans

État écologique

< 5 blooms	< 10 blooms
> 5 & < 10	> 10 & < 20
> 10 & < 20	> 10 & < 20
> 20 & < 40	> 20
> 40	

Conchyliculture

C. Belin / journées REPHY / 22-23 mars 2004

DCE
eutrophisation / micro-algues
 critère : somme des fréquences de blooms
 (> 100000 cell/l) sur période glissante de 5 ans

indicateur d'eutrophisation

< 5 blooms
> 5 & < 10
> 10 & < 20
> 20 & < 40
> 40

C. Belin / journées REPHY / 22-23 mars 2004

micro-algues toxiques et nuisibles / DSP, PSP, ASP
 critère : nombre de semaines de résultats positifs
 sur période glissante de 5 ans

~~État écologique~~

0 semaine
1 à 5
6 à 25
25 à 50
> 50

Conchyliculture

C. Belin / journées REPHY / 22-23 mars 2004

DCE
micro-algues toxiques et nuisibles / DSP, PSP, ASP
 critère : nombre de semaines de résultats positifs
 sur période glissante de 5 ans

intégrateurs de la présence d'espèces toxiques

0 semaine
1 à 5
6 à 25
25 à 50
> 50

C. Belin / journées REPHY / 22-23 mars 2004

micro-algues toxiques et nuisibles / micro-algues nuisibles
 critère : somme des fréquences de blooms
 (> 1 000 000 cell/l) sur période glissante de 5 ans

État écologique

0 bloom
1 à 2
3 à 5
5 à 10
> 10

Conchyliculture

C. Belin / journées REPHY / 22-23 mars 2004

DCE

micro-algues toxiques et nuisibles / **micro-algues nuisibles**

critère : somme des fréquences de blooms
 (> 1 000 000 cell/l) sur période glissante de 5 ans

qualité biologique

0 bloom
1 à 2
3 à 5
5 à 10
> 10

C. Belin / journées REPHY / 22-23 mars 2004

DCE

micro-algues toxiques et nuisibles / **micro-algues nuisibles**

définition : espèces produisant des exotoxines dangereuses pour les organismes marins, ou formant des blooms nuisibles (anoxie, mucus, etc)

ajouter un critère observation de mortalités ?

C. Belin / journées REPHY / 22-23 mars 2004

Intérêt des séries de données phytoplancton

pour la définition d'indicateurs
 SEQ → DCE

pour le suivi et la veille sur les espèces (potentiellement) toxiques et nuisibles

C. Belin / journées REPHY / 22-23 mars 2004

Espèces toxiques

- *Dinophysis acuta*
 - DTX2, PTX2
- *Dinophysis fortii*
 - DTX1, PTX2
- *Lingulodinium polyedrum* (= *Gonyaulax polyedra*)
- *Gonyaulax grindleyii* (= *Protoceratium reticulatum*)
 - YTXs
- *Prorocentrum crassipes*
 - AZAs
- *Alexandrium ostenfeldii*
 - spiroïdes

C. Belin / journées REPHY / 22-23 mars 2004

Quelques exemples


- *Dinophysis acuta*
 - Baie de Vilaine ~ 5000 en 2002
 - Vendée nord ~ 2000 en 2002

C. Belin / journées REPHY / 22-23 mars 2004

Quelques exemples

- *Dinophysis acuta*
 - Baie de Vilaine ~ 5000 en 2002
 - Vendée nord ~ 2000 en 2002
- *Dinophysis fortii*
 - très rare, concentrations très faibles

C. Belin / journées REPHY / 22-23 mars 2004




Quelques exemples

- *Dinophysis acuta*
 - Baie de Vilaine ~ 5000 en 2002
 - Vendée nord ~ 2000 en 2002
- *Dinophysis fortii*
 - très rare, concentrations très faibles
- *Lingulodinium polyedrum* (= *Gonyaulax polyedra*)
 - Baie de Vilaine 38000 en 2003
 - Marennes sud 13000 en 1997
 - Arcachon 12000 en 1995
 - Diana-Urbino 14000 en 1994

Ifremer

C. Belin / journées REPHY / 22-23 mars 2004




Espèces toxiques

- *Dinophysis acuta*
 - Baie de Vilaine ~ 5000 en 2002
 - Vendée nord ~ 2000 en 2002
- *Dinophysis fortii*
 - très rare, concentrations très faibles
- *Lingulodinium polyedrum* (= *Gonyaulax polyedra*)
 - Baie de Vilaine 38000 en 2003
 - Marennes sud 13000 en 1997
 - Arcachon 12000 en 1995
 - Diana-Urbino 14000 en 1994
- *Gonyaulax grindleyii* (= *Protoceratium reticulatum*)
 - Côte languedocienne 520000 en 1991
 - Côte camarguaise 870000 en 1991

Ifremer

C. Belin / journées REPHY / 22-23 mars 2004



Espèces toxiques

- *Dinophysis acuta*
 - Baie de Vilaine ~ 5000 en 2002
 - Vendée nord ~ 2000 en 2002
- *Dinophysis fortii*
 - très rare, concentrations très faibles
- *Lingulodinium polyedrum* (= *Gonyaulax polyedra*)
 - Baie de Vilaine 38000 en 2003
 - Marennes sud 13000 en 1997
 - Arcachon 12000 en 1995
 - Diana-Urbino 14000 en 1994
- *Gonyaulax grindleyii* (= *Protoceratium reticulatum*)
 - Côte languedocienne 520000 en 1991
 - Côte camarguaise 870000 en 1991
- *Protoperidinium crassipes*
 - ???

Ifremer

C. Belin / journées REPHY / 22-23 mars 2004

Contexte Général

- Situation géographique
 Seine / Détroit du Pas-de-Calais / Mer du Nord
- Flux de nutriments Montés vers Mer du Nord
 Azote inorganique dissous $250 \cdot 10^3 \text{ t.an}^{-1}$
 Phosphate $41 \cdot 10^3 \text{ t.an}^{-1}$
 Silicate $270 \cdot 10^3 \text{ t.an}^{-1}$
- Conditions marégraphiques
 Structure hydrologique : le « Fleuve Côtier »
 « Contrôle » des échanges côte / large
- Bloom récurrent de *Phaeocystis* sp.

Le Suivi Régional des Nutriments sur le Littoral Nord, Pas-de-Calais, Picardie

Conventions Agence de l'Eau Artois Picardie / Ifremer initié en 1992 puis intégration dans la convention Ministère / Ifremer en 2002

Participants laboratoire IFREMER DEL/Boulogne-sur-Mer
 Sous-traitance pour les moyens nautiques (SMBC, CNRS/INSU, privé)

Objectifs définis en 1992
 Estimation de l'impact des apports continentaux et marins (azote, phosphore, ...) sur les écosystèmes côtiers et leurs conséquences sur de potentiels problèmes d'eutrophisation dans le contexte des efflorescences récurrentes de la Prymnesiophycée *Phaeocystis* sp.
 Surveillance à long terme de la qualité des masses d'eaux côtières.

Le Suivi Régional des Nutriments sur le Littoral Nord, Pas-de-Calais, Picardie

13 paramètres
 Prélèvements mensuels ou bimensuels (mars à juin)

- Dunkerque**
 Régime mégatidal
 Ecosystème côtier de faible profondeur
- Boulogne-sur-Mer**
 Régime mégatidal
 Ecosystème côtier avec structure frontale
- Baie de Somme**
 Régime mégatidal
 Estuaire

Tendances saisonnières et à long terme (1992-2000) de la qualité des eaux littorales en Manche orientale Relations avec les blooms de la Prymnesiophycée *Phaeocystis* sp.

Echantillonnage irrégulier
 Valeurs manquantes
 Distribution des données (Loi Normale)
 Forte variabilité naturelle

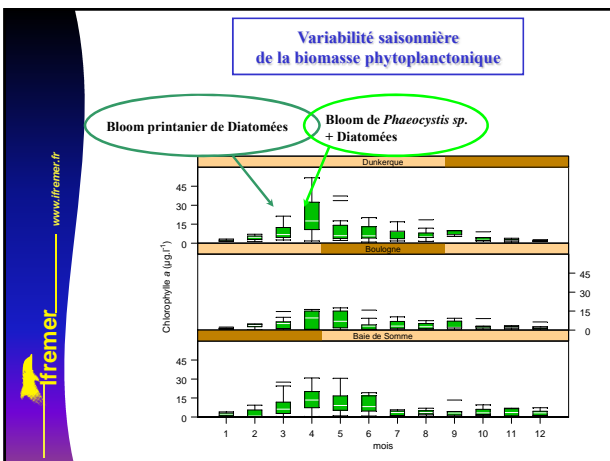
Variabilité saisonnière
 Box Plot

Régularisation
 Fonction Spline

Filtration des séries
 Résidus = séries - Σ composantes
 Méthode Lowess

Analyses de tendance
 Test de Kendall

Package for Analysis of Space Time Ecological Series



Occurrences de *Phaeocystis* sp.

Dunkerque

Stations \ Months	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
dk1					28,2							
dk3					11,5							
dk4					22,0							

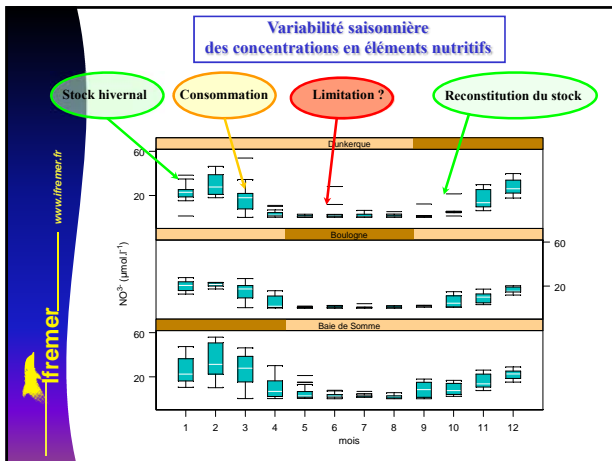
Boulogne

Stations \ Months	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
bl1					11,0							
bl2					6,7							
bl3					2,2							

Baie de Somme

Stations \ Months	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
bif					62,3							
atso					32,9							
mer1												
mer2					36,4							

x Observations ponctuelles
x Observations régulières
 X : Nombre maximum de cellules ($10^6 \text{ cells.L}^{-1}$)

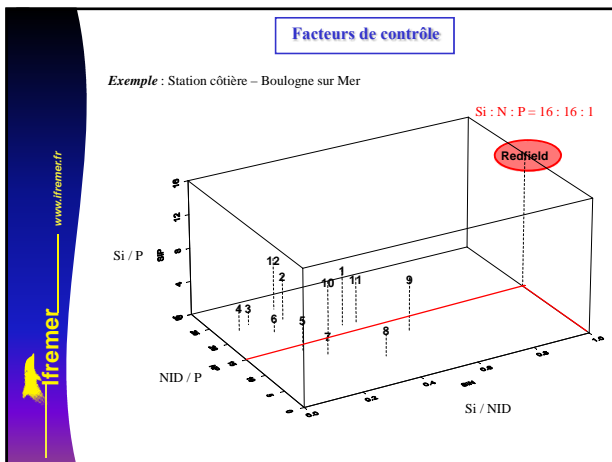


Analyses de tendance

N = NH₄ + NO₂ + NO₃ = DIN

	Temp	Chl. <i>a</i>	NH ₄	NO ₂	NO ₃	PO ₄	SiOH	Si/P	Si/N	N/P
Dunkerque	dk1	↗	→	↘	→	↘	↘	→	↗	↗
	dk3	↗	→	↘	→	↘	↘	→	↗	↗
	dk4	↗	→	↘	→	↘	↘	→	↗	↗
Boulogne	b11	↗	→	↘	→	↘	↘	→	↗	↗
	b12	↗	→	↘	→	↘	↘	→	↗	↗
	b13	↗	→	↘	→	↘	↘	→	↗	↗
Baie de Somme	bif	↗	→	↘	→	↘	↘	→	↗	↗
	atso	↗	→	↘	→	↘	↘	→	↗	↗
	mer1	↗	→	↘	→	↘	↘	→	↗	↗
	mer2	↗	→	↘	→	↘	↘	→	↗	↗

↗ Tendence monotone croissante significative (5%)
 ↘ Tendence monotone décroissante significative (5%)
 → Pas de tendance significative



Facteurs de contrôle

Rapports N / P sur la période 1992-2000

Legend: □ N / P < 16 ⇒ N limitant, ■ N / P > 16 ⇒ P limitant, □ Absence de données

Boulogne

Station côtière	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
11									
12									

Occurrence moyenne de *Phaeocystis* sp.

Forte variabilité inter-annuelle

Apparition / disparition de *Phaeocystis* sp. ⇔ Période de transition limitation par P puis N

www.ifremer.fr

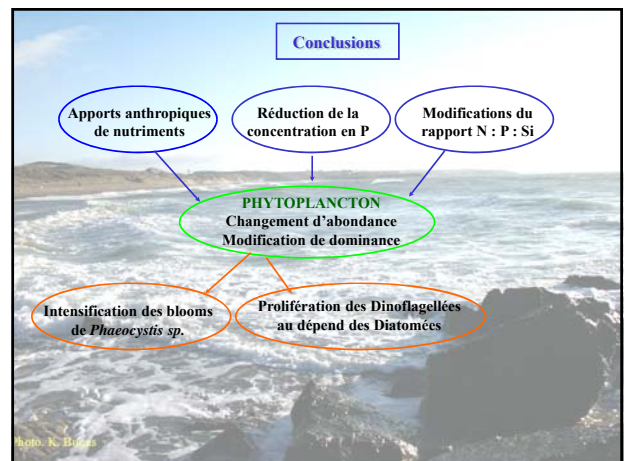
Facteurs de contrôle

Moyennes mensuelles des rapports N / P / Si sur la période 1992-2000

Station	Mois											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Boulogne	Si/NID	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	ND/P	P	P	P	P	P	N	N	N	P	P	P
	Si/P	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Baie de Somme	Si/NID	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	ND/P	P	P	P	P	P	N	N	N	P	P	P
	Si/P	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Dunkerque	Si/NID	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	ND/P	P	P	P	P	P	N	N	N	P	P	P
	Si/P	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

⇒ Principale limitation : Si, P

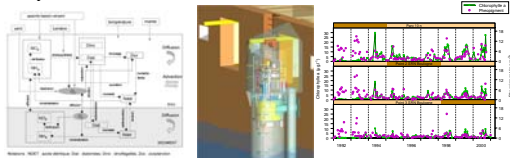
www.ifremer.fr



Ifremer

Evolution du S.R.N.

➤ Utilisation des potentialités qu'offre le **développement d'outils** (modélisation, station de mesures MAREL, traitement des séries à long-terme) pour l'interprétation des résultats



➤ Aide à la réflexion et réorientation envisageable dans le contexte de la Directive Cadre sur l'Eau (DCE) et de la Convention d'Oslo et de Paris (OSPAR)

➤ Support pour d'autres programmes de recherche (PNEC *Phaeocystis*, *Liteau II*, Interreg *CHARM*)

Ifremer www.ifremer.fr

Détection moléculaire du phytoplancton toxique

précision du diagnostic
 Dans un bloom multi-spécifique, les sondes nucléiques permettent une discrimination fine entre espèces morphologiquement proches.

sensibilité de la détection
 La sensibilité des sondes nucléiques permet d'abaisser le seuil de détection. (Diminution du risque de négliger une contamination)

traitement simultané d'un grand nombre d'échantillons
 Certaines de ces techniques sont automatisables

27/03/2018 Nantes- REPHY

MARQUEURS MOLECULAIRES

La molécule d'ADN

Sonde moléculaire

3' TAACCGCATCAT 5'

5' AATCGTGGCATGATTGGCGTAGTAACCGTAAACG 3'

TTAGC → ← ATGC

Amorce PCR

27/03/2018 Nantes- REPHY

TECHNIQUES d'UTILISATION DES MARQUEURS MOLECULAIRES

Hybridation moléculaire : utilisation d'une séquence spécifique (sonde moléculaire)

- sur les cellules entières
- sur les ADNs extraits

Amplification PCR : utilisation d'un couple de séquences spécifiques (amorces)

Marqueurs moléculaires, profils génétiques

27/03/2018 Nantes- REPHY

HYBRIDATIONS MOLECULAIRES

Une sonde spécifique reconnaîtra sa séquence complémentaire dans un mélange d'ADNs ou dans un mélange de cellules

ADNs

sonde

marquage

27/03/2018 Nantes- REPHY

Hybridation sur cellules entières

Hybridation FISH sur *Pseudo-nitzschia*

P. multiseriata (flèches blanches) + *P. pungens* (flèches noires)

- 1-contrôle en lumière visible
- 2-Hybridation sur cellules entières (FISH)

sonde spécifique *P. multiseriata/pseudodelicatissima* (muD2)

27/03/2018 Nantes- REPHY

AMPLIFICATIONS PCR

Men Du 30/03/00

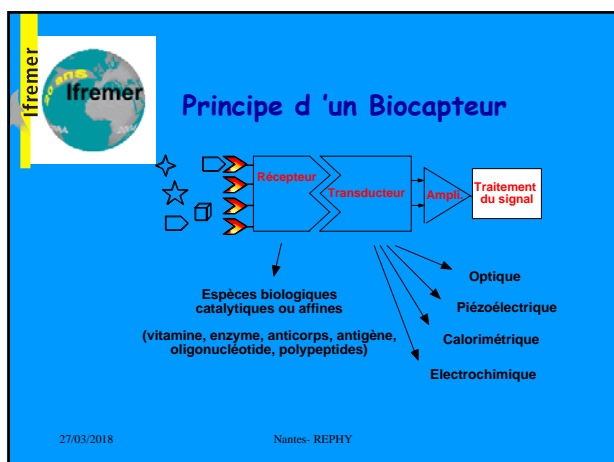
	1	4	0	0	17
Comptage					3 cuves 10 ml

700 bp

Alex1
 Amix2
 Kane1
 Kniki 1
 Dacu1

Semi-nested PCR sur prélèvements terrain (30 ml)

27/03/2018 Nantes- REPHY



Programme Biocapteur

Participants :

IFREMER : TMSI/RED, DEL/EC/PP, DEL/MP/PN
Ecole Nationale Supérieure de Chimie, Paris
Laboratoire de Physique des liquides et électrochimie (UPR 15), Paris
Laboratoire d'électrochimie organique et de photchimie REDOX Grenoble

27/03/2018 Nantes- REPHY

Contenu du Programme

Espèces ciblées
Pseudo-nitzschia (pseudodelicatissima, multiseriées)
Alexandrium catenella/tamarense
Dinophysis

Techniques développées
Profils ISSR et Marqueurs SCAR (B. Bornet)
Hybridations sur cellules entières-FISH (M. Barbier)
Séquençages des sous unités ribosomales
Diversification de la collection d'isolats étudiés

27/03/2018 Nantes- REPHY

Travaux réalisés aux labos côtiers qui ont collaboré à l'expédition de prélèvements à l'IEO de Vigo pour l'isolement de nouvelles souches de phytoplancton toxiques de nos côtes

Alexandrium minutum : 5 nouveaux isolats (Port ST Hubert- Rance)
Alexandrium catenella : 5 nouveaux isolats (Étang de Thau)
Lingulodinium polyedrum : 2 isolats (Kervoyal- Baie de Vilaine)
Gymnodinium sp. : 3 isolats (Kervoyal- Baie de Vilaine)
Karenia cf. brevis : 1 isolat (ST Cast)

27/03/2018 Nantes- REPHY

ifremer

Développement de marqueurs moléculaires de type PCR pour la détection du phytoplancton toxique

Benjamin BORNET
Post-doctorat
Laboratoire DEL/MP/PN, Nantes

Journées REPHY 2004, 23 et 24 Mars

ifremer

Objectif :

Développer des marqueurs moléculaires spécifiques pour une détection rapide et à faible coût d'espèces toxiques dans des échantillons d'eau de mer

ifremer

Etat des lieux de l'analyse moléculaire :

Analyse de l'ARN ribosomique :

- comparaison des séquences du gène
- étude du profil de restriction des produits d'amplification de la région rDNA
- hybridation par sondes moléculaires rDNA (*dot-blot, FISH*)

ifremer

Espèces toxiques ciblées et problèmes pour leur identification :

- ✓ **Alexandrium** : espèces du complexe "tamarense"
 - A. catenella*  *A. tamarense* 
 - Toxines paralysantes (PSP)
- ✓ **Pseudo-nitzschia** : *P. pseudodelicatissima* et *P. multiseries*
 - P. pseudodelicatissima*  *P. multiseries* 
 - Toxines amnésiantes (ASP)

ifremer

Développement de marqueurs spécifiques de type SCAR

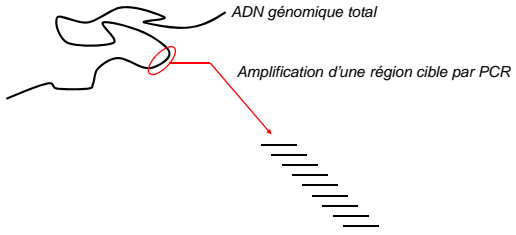
(SCAR = Sequence Characterized Amplified Region)

ifremer

Amplification d'ADN par PCR :

(PCR = Polymerase Chain Reaction)

= Synthèse *in-vitro* d'une région ciblée de l'ADN



ADN génomique total

Amplification d'une région cible par PCR

Avantages des marqueurs SCAR :

- rapidité et faible coût des analyses
- besoin de très peu d'ADN
- très reproductibles et spécifiques
- pas d'influence de l'état physiologique, environnemental ni du stade de développement
- pas d'effet du manipulateur sur l'analyse des résultats
- nombre illimité

Inconvénient de ces marqueurs :

- développement plus ou moins long

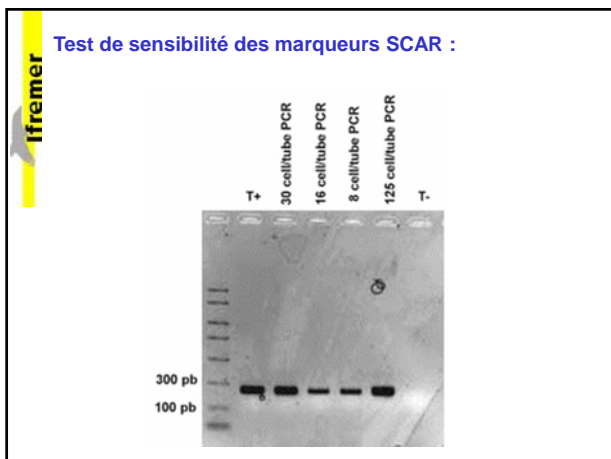
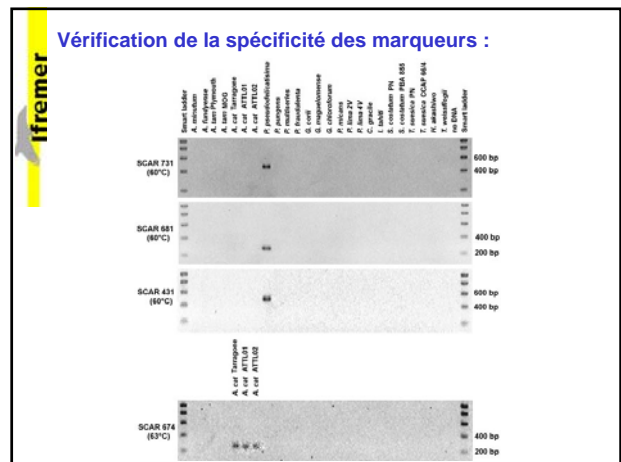
Premiers résultats de la détection d'espèces toxiques de phytoplancton dans des prélèvements d'eau de mer

Sélection de régions cibles :

- 16 fragments d'ADN purifiés, clonés et séquencés
- 1° test =
 - . espèces ciblées :
 - Pseudonitzschia pseudodelicatissima*
 - Alexandrium catenella* (souche de Thau)
 - . 6 marqueurs testés

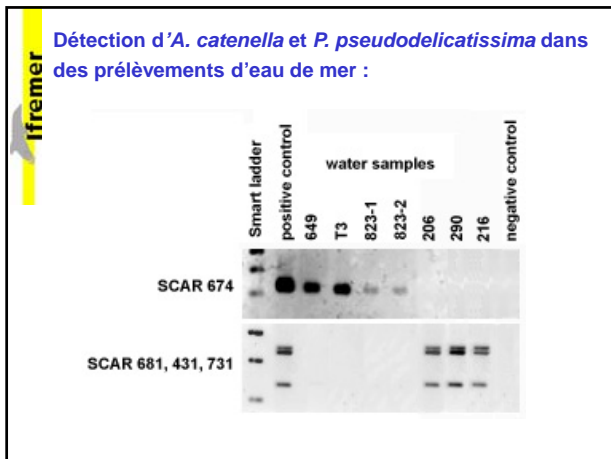
Test de spécificité :

- 59 souches testées soit 26 espèces et 12 genres
- Identité de séquence entre les marqueurs amplifiés et les régions ciblées



Détection d'*A. catenella* et *P. pseudodelicatissima* dans des prélèvements d'eau de mer :

- 27 échantillons lugolés
- 12 origines géographiques :
 - * Etang de Thau (39)
 - * Pornichet (44)
 - * Le Croisic (44)
 - * Aber Benoit (29)
 - * Penzé (29)
 - * Kervel (29)
 - * Camaret (29)
 - * Lanvéoc (29)
 - * Tronoën (29)
 - * Les Glénans (29)
 - * Men Du (29)
 - * Kermoal (29)
- extraction d'ADN après filtration de 250 ml d'eau de mer



ifremer

Conclusions :

- *Efficacité, rapidité et simplicité d'utilisation des marqueurs SCAR pour la détection du phytoplancton dans l'eau de mer*

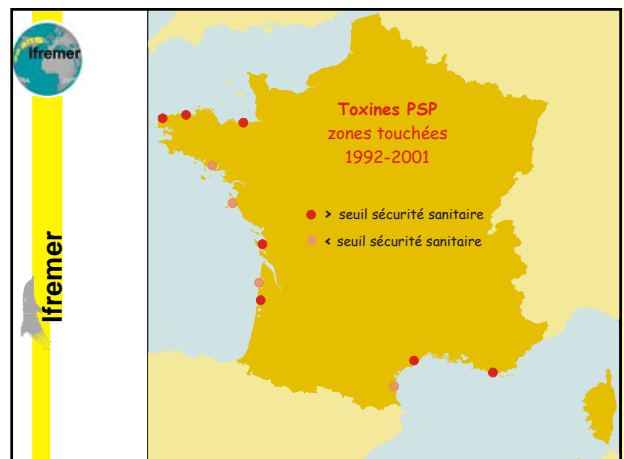
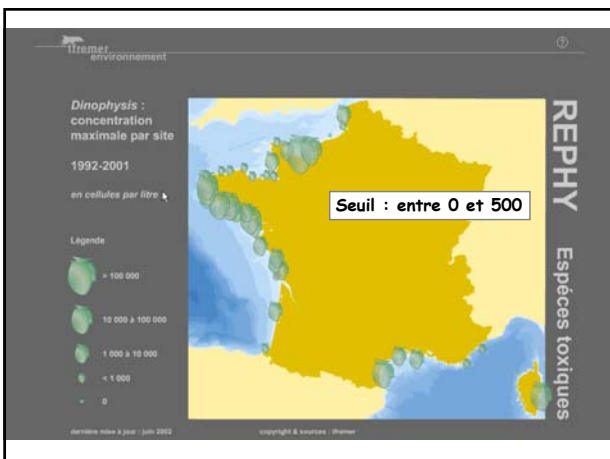
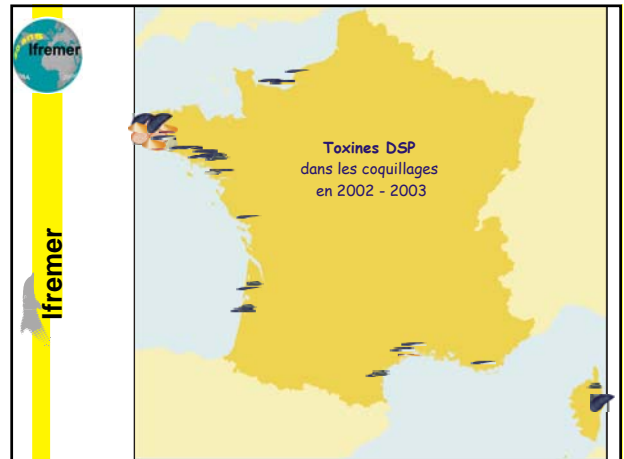
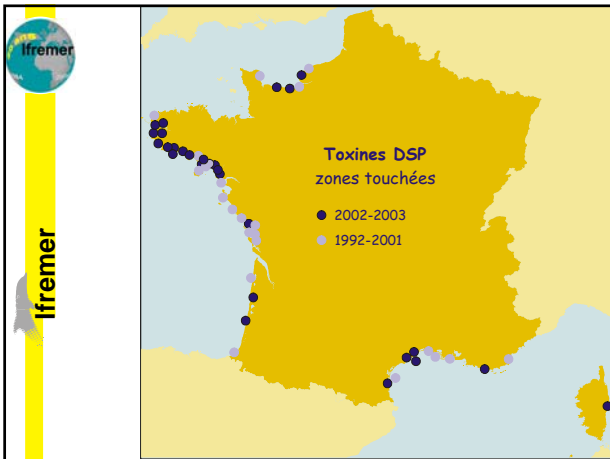
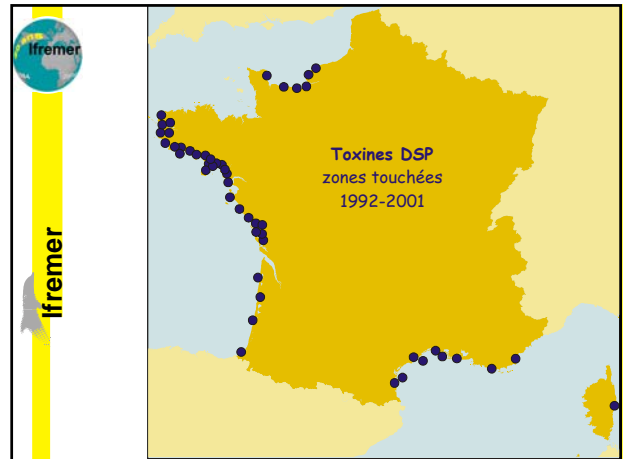
Perspectives :

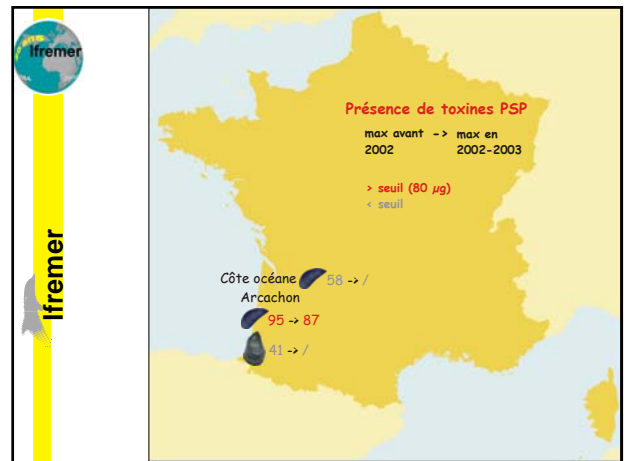
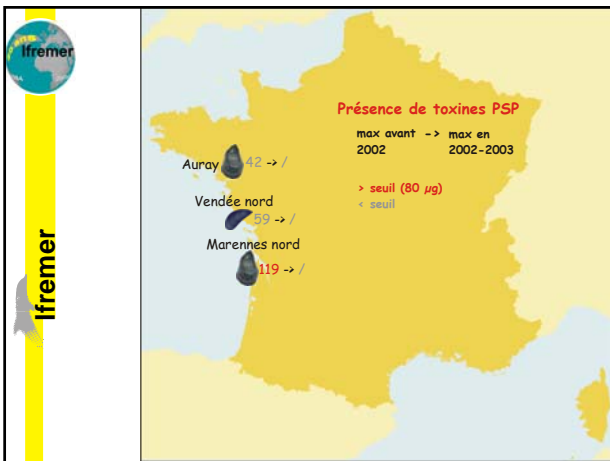
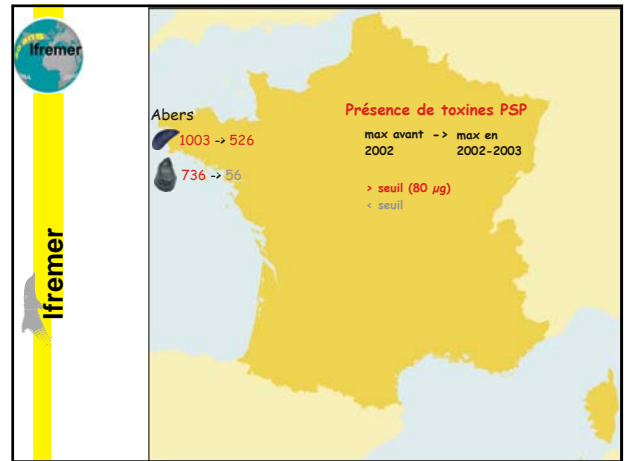
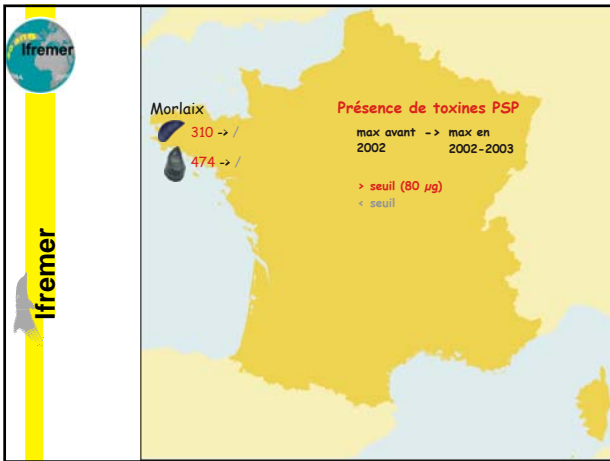
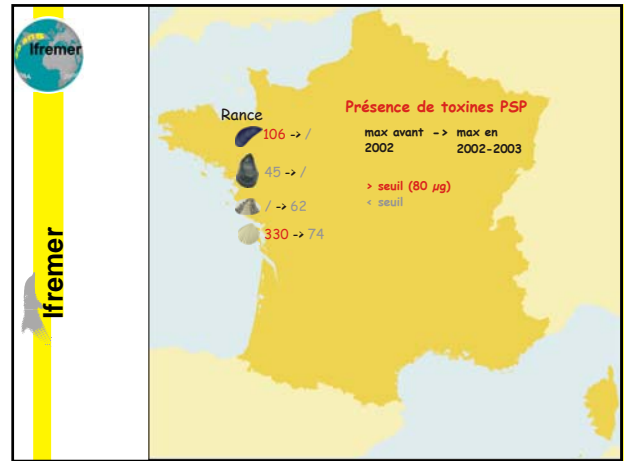
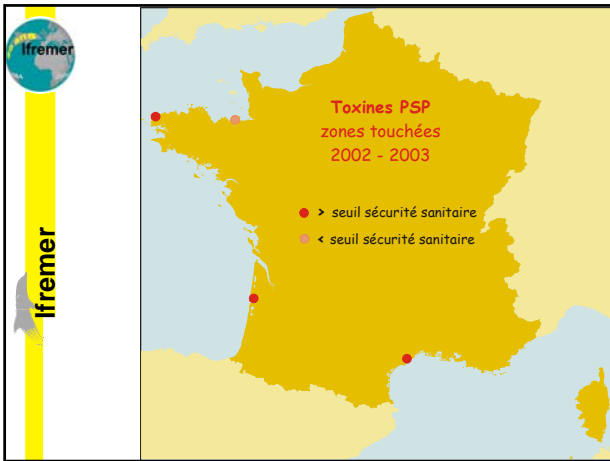
- *Utilisation des marqueurs SCAR pour la détection en routine d'*A. catenella* et *P. pseudodelicatissima**
- *Développement de nouveaux marqueurs SCAR spécifiques d'autres espèces toxiques des côtes françaises*
- *Utilisation de ces marqueurs SCAR en PCR quantitative*

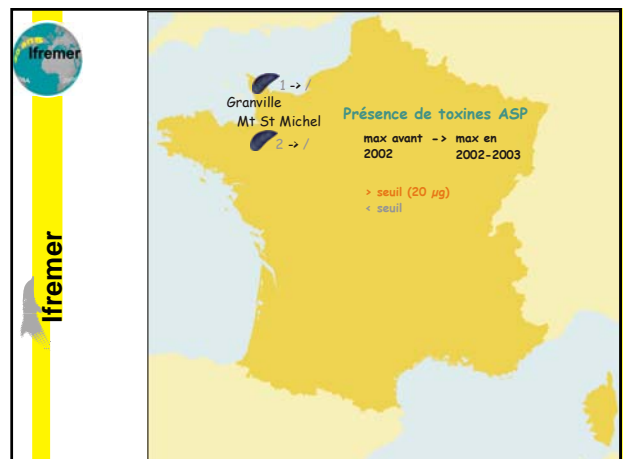
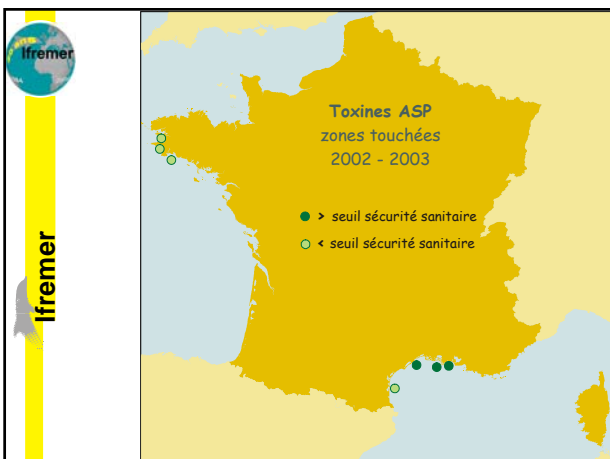
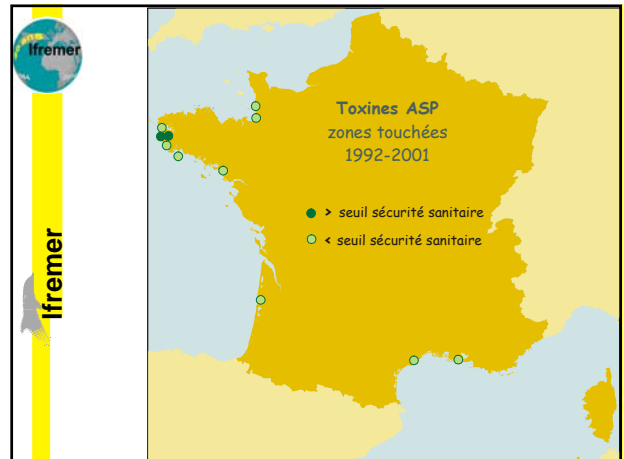
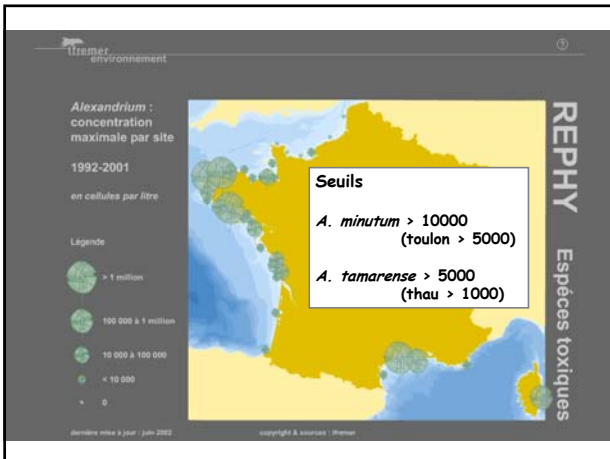
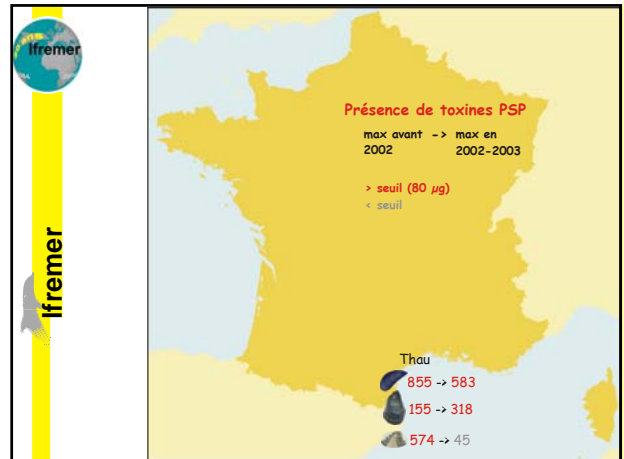
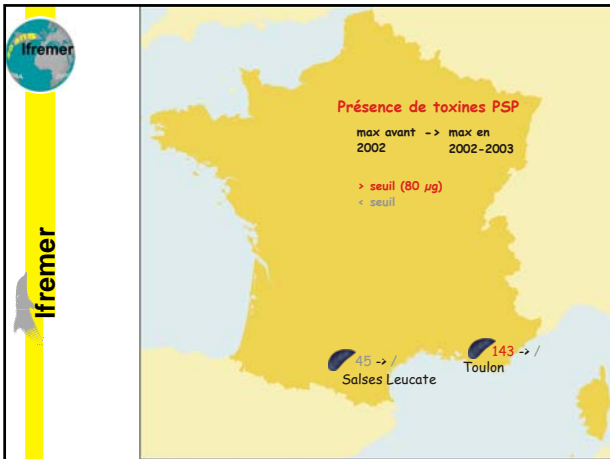
Ifremer

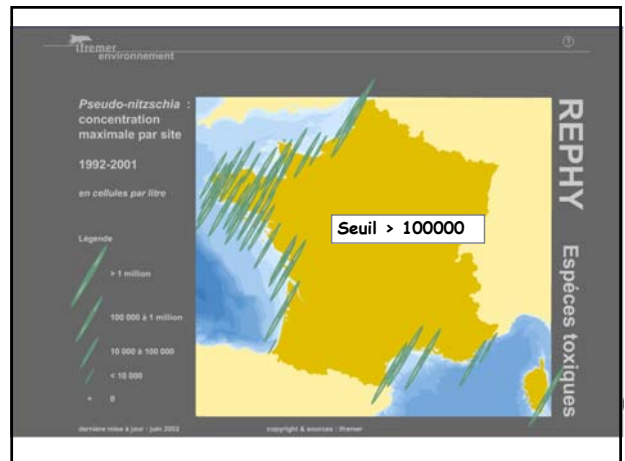
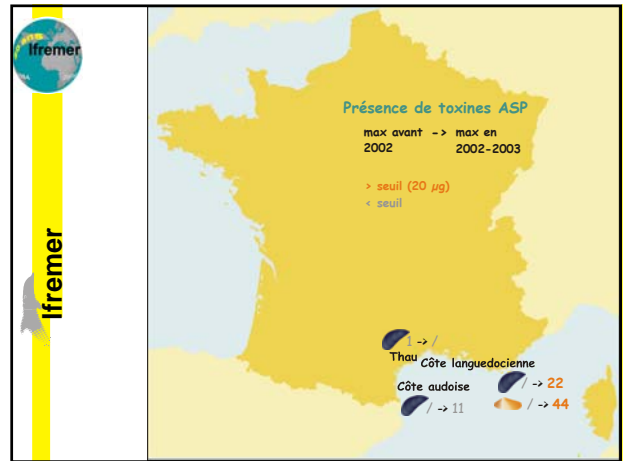
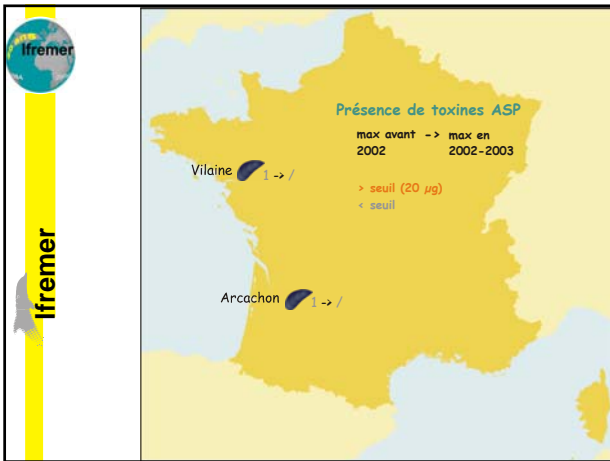
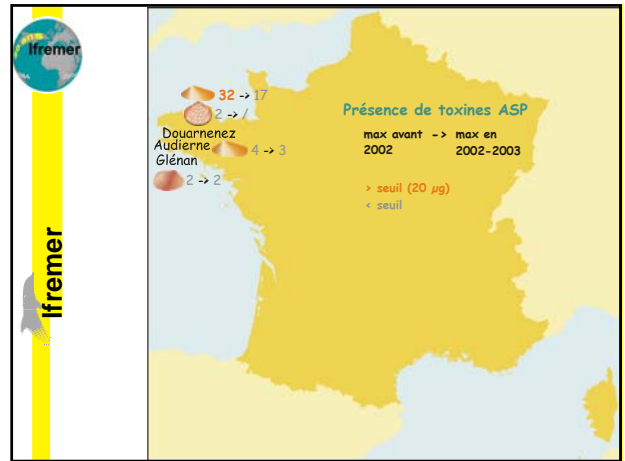
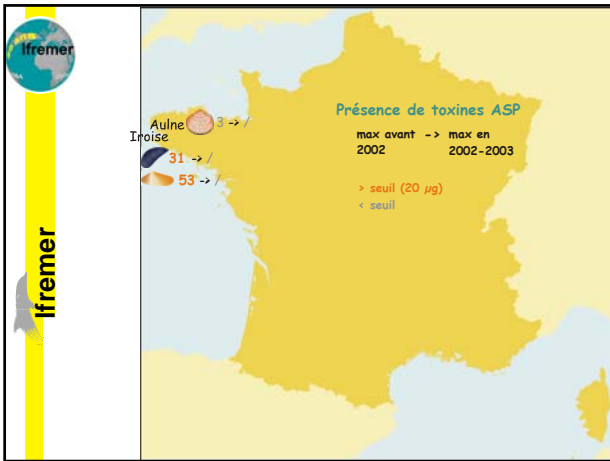
Bilan DSP PSP ASP Evolution 2002 - 2003

Ifremer









Ifremer
Journées REPHY 22/23 mars 2004

Alexandrium et toxines PSP - Etang de Thau

Laboratoire Ifremer Sète

1

Ifremer
Journées REPHY 22/23 mars 2004

Plan de la présentation:

- 1- L'étang de Thau: le réseau de surveillance Rephy
- 2- Les efflorescences à Alexandrium en 2002 et 2003
- 3- Actions en cours

2

Ifremer
Journées REPHY 22/23 mars 2004

Etang de Thau: le réseau REPHY

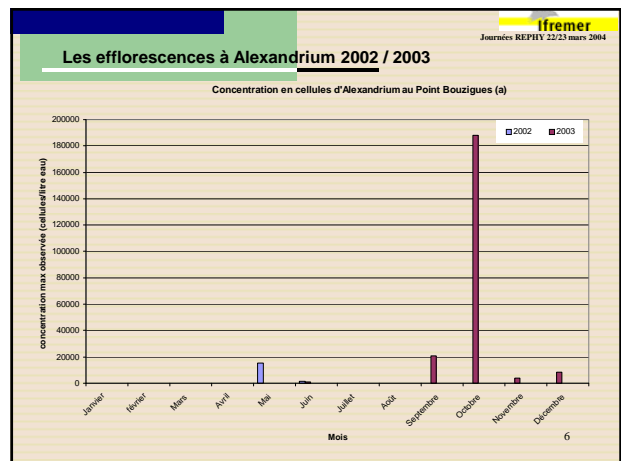
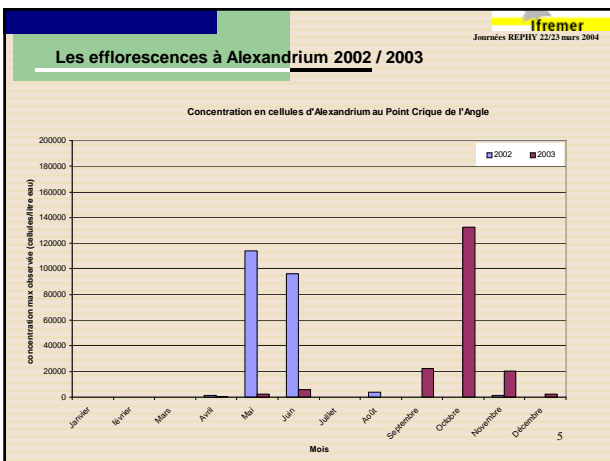
3

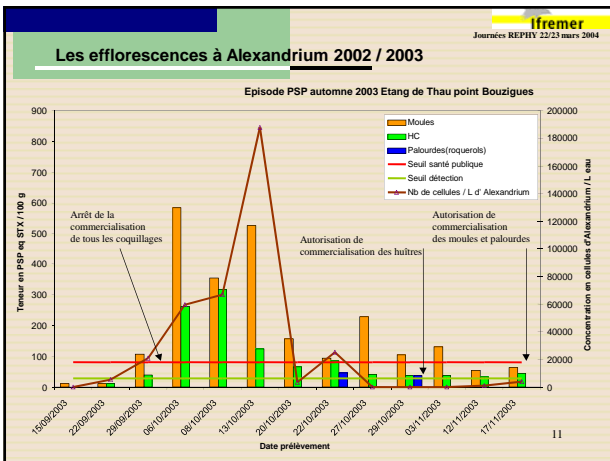
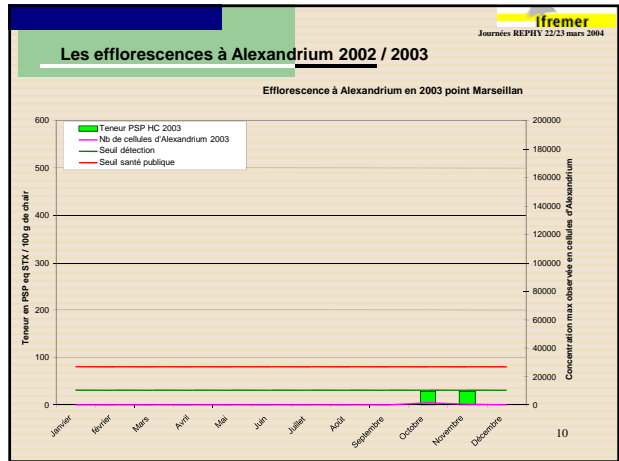
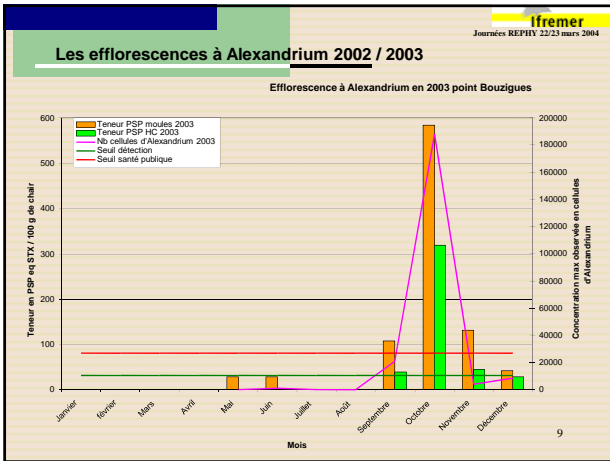
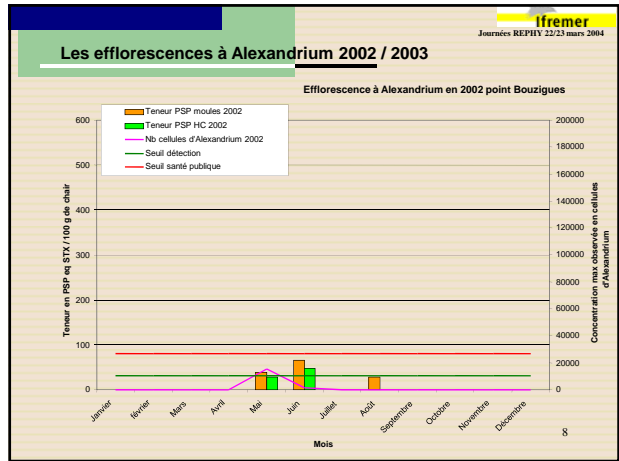
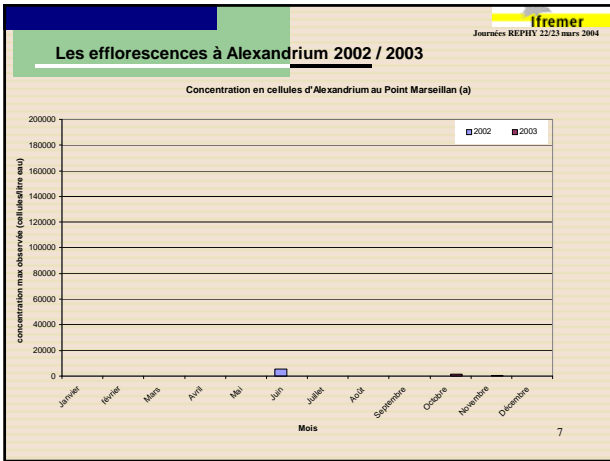
Ifremer
Journées REPHY 22/23 mars 2004

Etang de Thau: le réseau REPHY

POINTS DE PRELEVEMENT DU RESEAU PHYTOPLANKTON DE L'IFREMER

4





Ifremer
Journées REPHY 22/23 mars 2004

Les efflorescences à Alexandrium 2002 / 2003


	Nb max de cellules observées / litre eau	PSP huîtres*	PSP moules	PSP palourdes
1998	350 000	47	855	105
2001	1 270 000	155	476	574
2003	132 600	318	583	/

* dans la chair par test biologique

12

Ifremer
Journées REPHY 22/23 mars 2004

Actions en cours



13

Ifremer
Journées REPHY 22/23 mars 2004

Actions en cours

- déterminisme des efflorescences:
GDR algues toxiques
- Validation des modèles et possibilité de prédiction des blooms
- détoxification accélérée des huîtres et palourdes:
programme SHELLFISH 2

14

ifremer

Research and development of an accelerated detoxification system for live marine shellfish contaminated by PSP toxins

« SHELLFISH »

EU Project QLK1 - CT - 2002 - 72076

Février 2003 www.ifremer.fr

ifremer

OBJECTIFS :

- Décontaminer des huîtres creuses et des palourdes pour abaisser leur contenu toxinique 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

Février 2003 www.ifremer.fr

ifremer

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	Ingenierie. logiciels

Février 2003 www.ifremer.fr

ifremer

ETAPES DU PROJET (2003 - 2004)

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

Février 2003 www.ifremer.fr

ifremer

MODULES EXPERIMENTAUX

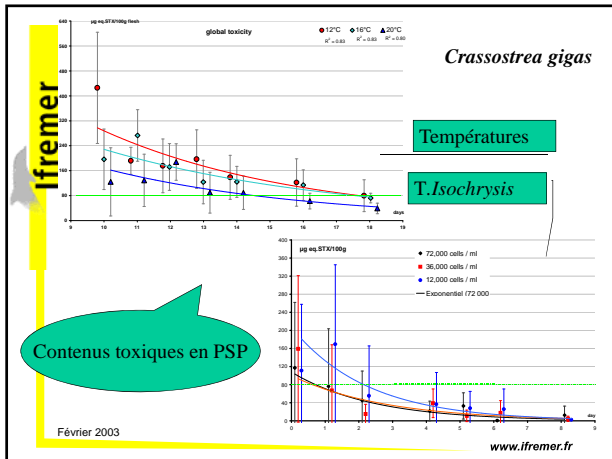
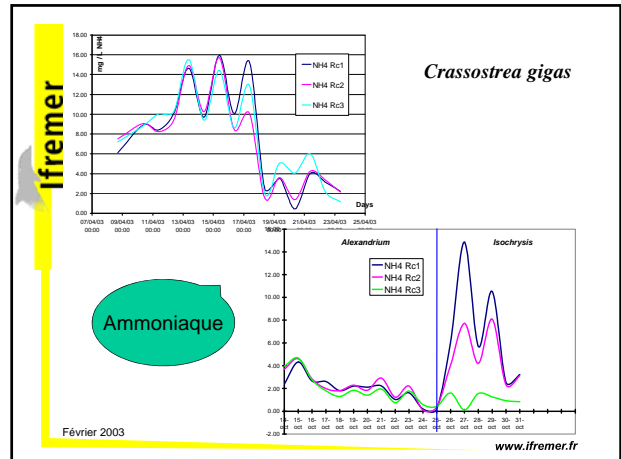
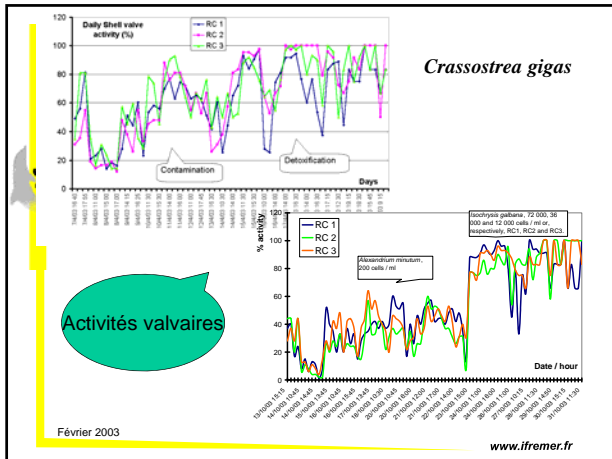
- IFREMER Nantes (*Crassostrea gigas*)
- Températures (12, 16 et 20°C) / T *Isochrysis*
- Concentration algale (0.5 - 1.20 et 2.0 mg l-1 TPM) / T *Isochrysis*
- Culture / pâte de *Skeletonema*
- Integrin Barcaldine (*Tapes decussatus*)
- Concentration algale (0.5 - 1.20 et 2.0 mg l-1 TPM) / T *Isochrysis*

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

Février 2003 www.ifremer.fr

ifremer

Février 2003 www.ifremer.fr

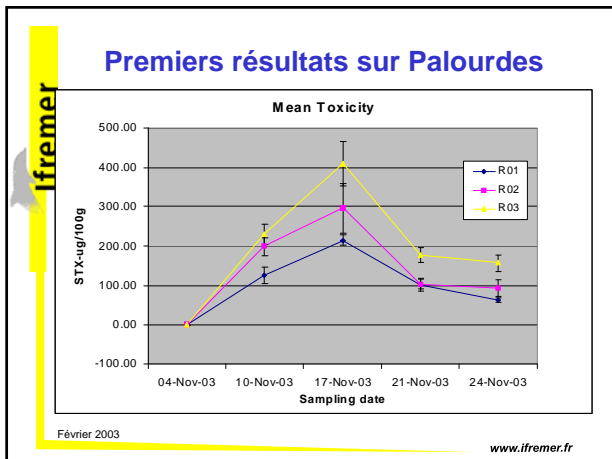


CONCLUSIONS

- On peut atteindre les 200 à 300 µg eq STX requis avec 10 jours de contamination par *A. minimum*
- Quels que soient les essais la variation individuelle reste élevée
- Les analyses de comparaison des pentes des droites de tendance (cinétiques de détoxification) ne montrent 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 donc retenues pour les essais suivants

Février 2003

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.

Février 2003

www.ifremer.fr

ifremer

Analyse fonctionnelle

- La plupart des questionnaires ont été remplis par des mytiliculteurs, espagnols ou français
- Il n'y a eu que 12 questionnaires de renvoyés
- 75% des industriels interrogés ont déjà été confrontés à du PSP et 100 % estiment qu'ils y 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.

Février 2003 www.ifremer.fr

ifremer

Pilote pre-industriel

Février 2003 www.ifremer.fr

ifremer

Contraintes du pilote pre industriel

- Éviter l'augmentation du taux d'ammoniacque dans le circuit (filtre biologique suffisant)
- Utiliser des séries de bacs plastiques de 550 à 670 L (pallox) de capacité, montés en série
- 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

Février 2003 www.ifremer.fr

ifremer

Essais de contamination dans la crique de l'Angle (IFREMER Sète)

Février 2003 www.ifremer.fr

ifremer

Résultats des contaminations in situ d'octobre 2003

Février 2003 www.ifremer.fr

ifremer

PERSPECTIVES

- Terminer les modules expérimentaux
- Choisir entre pâte d'algue, slurry, culture
- Vérifier que le concept de pilote pre industriel soit compatible avec les contraintes NH4, élimination du particulaire non utilisé, etc...
- Essayer un autre système pour la contamination in situ ou donner la préférence à des coquillages déjà contaminés PSP (France ou Espagne)
- Valider le pilote avec quelques centaines de Kg de coquillages contaminés

Février 2003 www.ifremer.fr

ifremer

PNEC - Chantier ' Lagunes méditerranéennes '
Atelier 2.2 : modèle de contamination des
coquillages
(2002-2005)

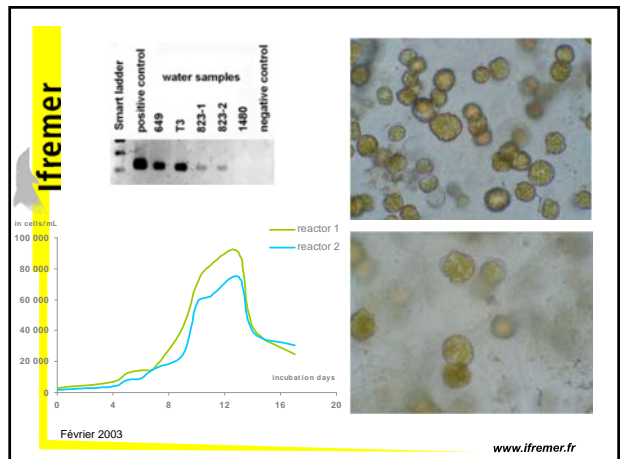
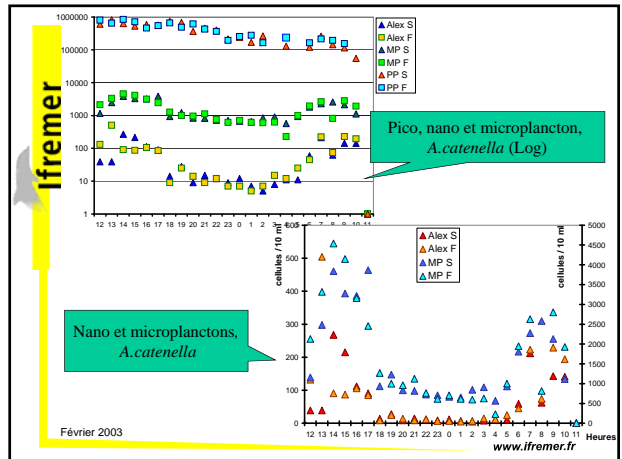
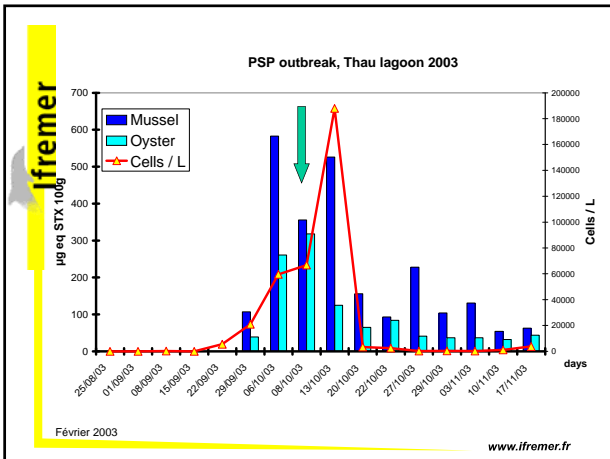
Février
www.ifremer.fr

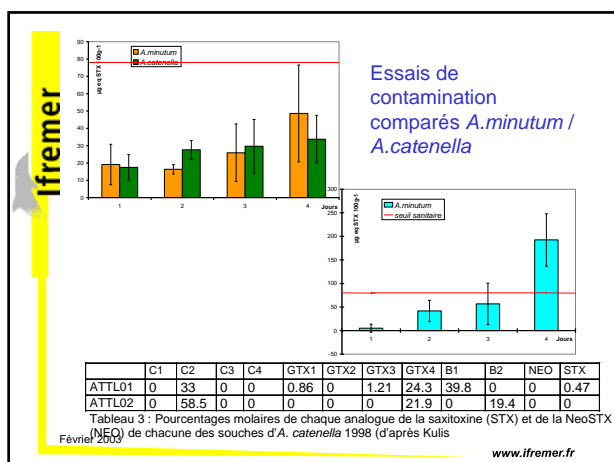
ifremer

OBJECTIFS :

- Réaliser plusieurs suivis 24H des effectifs comparés *A.catenella* / phytoplancton au moment du bloom hivernal
- Utiliser le système expérimental « individuel » développé au CREMA pour simuler l'impact de ces variations sur la contamination des huîtres creuses
- Discriminer les facteurs environnementaux significativement impliqués dans les cinétiques de contamination (température, concentrations d'algues toxiques, espèces accompagnatrices)
- Construire un modèle de contamination intégrant ces variables

Février 2003
www.ifremer.fr





Perspectives

- Améliorer la production d '*A. catenella* en photobioréacteurs en sélectionnant la souche la plus toxique
- Vérifier le rôle des toxines extracellulaires dans le processus de bioaccumulation
- Tester le rôle de la température et des concentrations en *A. catenella* sur les cinétiques d'accumulation et sur les FTA avec les stands individuels
- Préciser le profil toxinique des souches présentes dans l'étang et les variations saisonnières de toxinogénèse.

Février 2003 www.ifremer.fr

Etude d'un système de filtration des algues toxiques pour l'alimentation en eau des bassins conchylicoles insubmersibles

Claire Marcaillou
Laboratoire Phycotoxines et Nuisances
IFREMER -Nantes

Participants

Yves MADEC : conchyliculteur à Prat ar Coum

Jo THAERON : conchyliculteur

Laboratoire IFREMER de Concarneau

Jean Claude LE SAUX

Dominique LE GAL

Elisabeth NEZAN

Laboratoire IFREMER de Nantes

Florence MONDEGUER

Manoella SIBAT (CDD)

Claire MARCAILLOU

Contexte de l'étude Conjonction de deux faits

Une nuisance naturelle

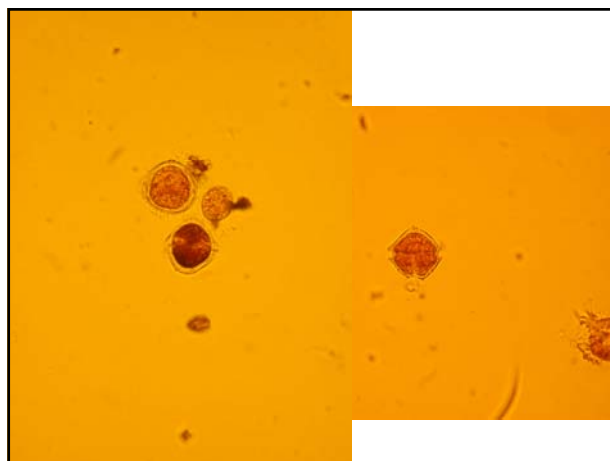
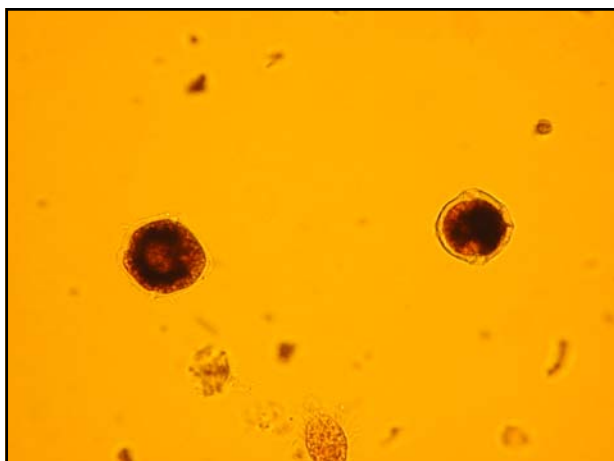
efflorescences
répétées
d'algues toxiques
dans les eaux littorales

Une pratique des professionnels

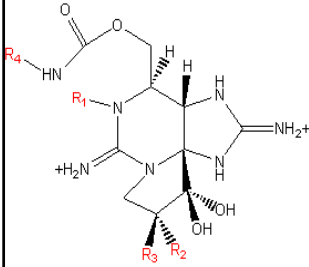
Utilisation de
bassins pour
l'épuration et/ou
le stockage des
coquillages avant
la vente

Objectif de l'étude

- Vérifier que l'eau filtrée, par le filtre à sable n'induit pas de toxicité dans des coquillages stockés dans les bassins pour quelques jours.
- Cas d'un bloom à *Alexandrium minutum*



Les Toxines Paralysantes



R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Noms
H	H	H	H	STX
OH	H	H	H	NeoSTX
H	H	H	OSO ₂ H	B1
OH	H	H	OSO ₂ H	B2
H	H	OSO ₂ H	H	GTX3
H	OSO ₂ H	H	H	GTX2
OH	H	OSO ₂ H	OSO ₂ H	GTX1
OH	OSO ₂ H	H	H	GTX4
H	H	OSO ₂ H	OSO ₂ H	C1
H	OSO ₂ H	H	OSO ₂ H	C2
OH	H	OSO ₂ H	OSO ₂ H	C3
OH	OSO ₂ H	H	OSO ₂ H	C4

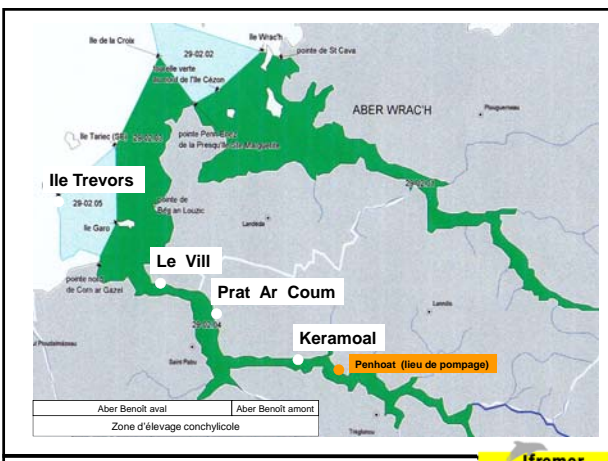
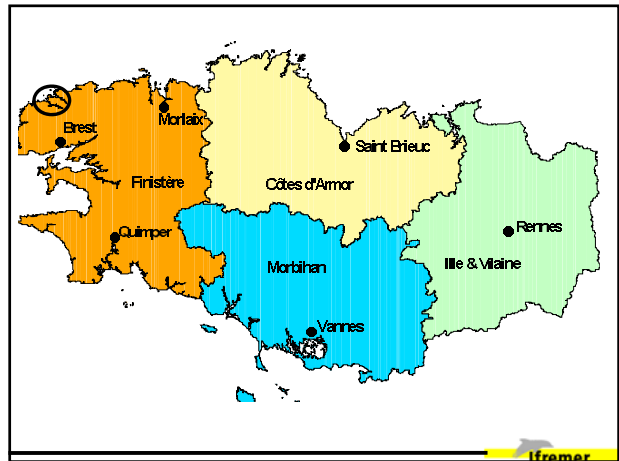
Dosage des toxines par CLHP

- Principe : séparation fine sur colonne des molécules, selon leur propriétés physico-chimiques. Implique trois passages par échantillons
- Quantification : étalonnage externe, expression en mM/l
- Standards disponibles : saxitoxine (STX) et GTX 2 et 3
- Comparaison avec le test souris AOAC : expression des résultats en µg, équivalent STX pour 100 g de chair
- Seuil pour la mise sur le marché : 80 µg eq.STX/100 g de chair

Toxicité relative des toxines

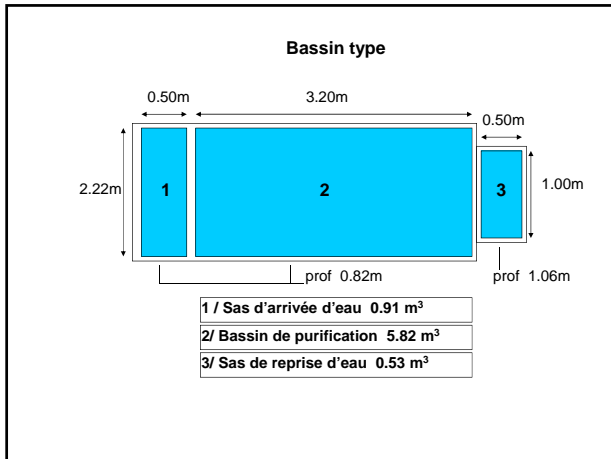
Toxines	Coefficient de conversion
STX	372
GTX3	297
GTX2	186
C	48

GTX2-3 sont majoritaires dans *Alexandrium minutum*



Déroulement des évènements

- 7 juillet : en aval de Keramoal 1 800 cell./l
- 8 juillet : à Keramoal 200 000 cell./l et 61 µg STX/ 100 g de chair
du 9 au 22 juillet : persistance d'Alexandrium
- 23 juillet : en amont de l'Aber Benoit, à 7 h 2 000 000 cell./l
- Déclenchement de l'opération
- livraison de : 100 kg d'huîtres creuses
100 kg de moules
25 kg de coques



Déroulement de l'expérience

Date	Bassin témoin	Bassin essai
23 juillet	22-23 h : remplissage et prélèvement d'eau (T0)	
23 juillet	23h : Immersion des coquillages	00 h : début filtration
24 juillet	Prélèvement de coquillages	Prélèvement d'eau 05h, 10h30, 15h 18h : immer. coquillages
25 juillet	11h : prélèvement d'eau 11-15h : prélèvement coquillages	
26 juillet	9h-11h : prélèvement eau et coquillages	
27 juillet	9h-11h : idem	
28 juillet	9h-11h : prélèvement eau et coquillages	

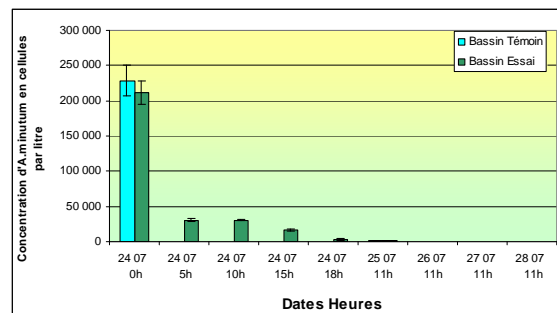
Résultats

- ✓ Coquillages expérimentés indemnes de toxines
- ✓ Tests souris: négatifs pour les trois espèces
- ✓ Concentration en *A. minutum* dans les bassins à T0 :
200-230 000 cell./l

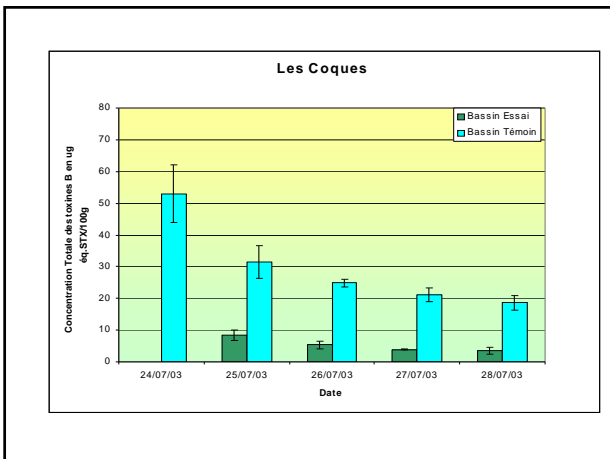
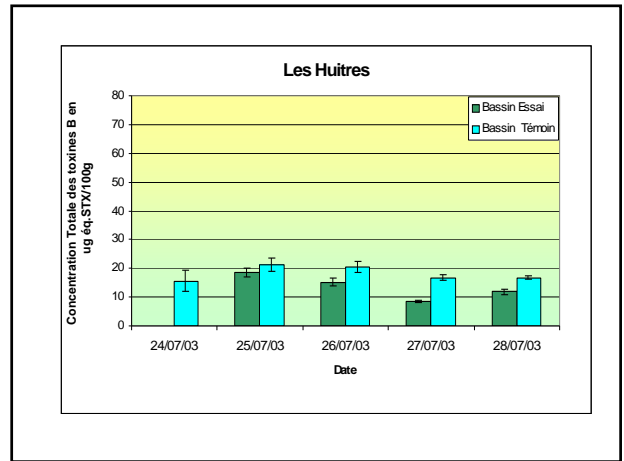
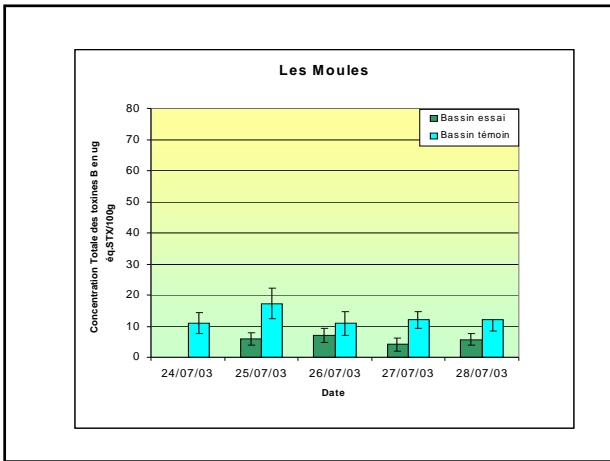
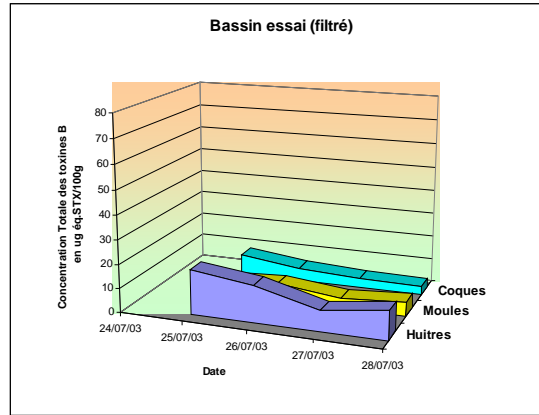
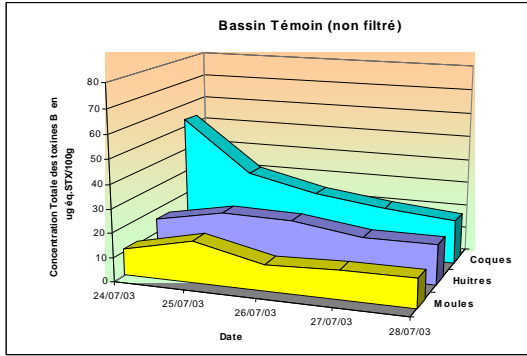
Evolution de la concentration en *Alexandrium* Résultats

Bassin témoin	Bassin essai/filtré
• To : 220 000 cell./l	• To : 230 000 cell./l
	• To+5 h : 33 000cell./l
	• To+10 h 30 : 15 000 cell./l
	• To+15 h : 17 000 cell./l
	• To+18 h : 13 000 cell./l
• To+36 h : 300-600 cell./l	• To+35 h : 2 000 cell./l
	• To+54 h : 0

Evolution de la concentration en *Alexandrium* dans les bassins



Evolution de la toxicité



Résultats du REPHY en µgSTX/100 g de chair

	29 juillet	1 août	5 août
Moules Trevors	négatif	37	42
Moules Prat ar Coum	42	48	56
Huîtres Prat ar Coum	négatif	46	négatif
Moules Keramoal	282	526	207

Conclusion

- ▶ Tests souris négatifs. Accord avec les exigences réglementaires
- ▶ 94% de rétention des algues toxiques en 18 heures
- ▶ 99% de rétention en 24 heures dans l'étude précédente

Nécessité de s'assurer de l'absence d'algues toxiques

Bassin filtrant = bon outil pour stocker les coquillages
en cas d'efflorescence toxique

Ifremer
Journées REPHY 22/23 mars 2004

Dinophysis et toxines DSP - Etang de Salses-Leucate

Laboratoire Ifremer Sète

1

Ifremer
Journées REPHY 22/23 mars 2004

Plan de la présentation:

- 1- L'étang de Salses-Leucate: le réseau de surveillance Rephy
- 2- Les épisodes à *Dinophysis* en 2002 et 2003
- 3- La contamination DSP des coquillages

2

Ifremer
Journées REPHY 22/23 mars 2004

1- Salses-Leucate: le réseau de surveillance Rephy :

3

Ifremer
Journées REPHY 22/23 mars 2004

2- Les épisodes à *Dinophysis* en 2002 et 2003 :

Dinophysis au point Coudatière/Salses

Mois	2002 (No. cellules / L. eau)	2003 (No. cellules / L. eau)
Janvier	~500	~600
Février	~300	~300
Mars	~300	~400
Avril	~700	~900
Mai	~300	~300
Juin	~300	~200
Juillet	~1100	0
Août	~600	0
Septembre	~2700	~1000
Octobre	~1800	~2700
Novembre	~1000	~3500
Décembre	~1800	~600

4

Ifremer
Journées REPHY 22/23 mars 2004

2- Les épisodes à *Dinophysis* en 2002 et 2003 :

Dinophysis au point Parc Leucate

Mois	2002 (No. cellules / L. eau)	2003 (No. cellules / L. eau)
Janvier	~100	~700
Février	~100	~200
Mars	~200	~200
Avril	~300	~2900
Mai	~200	~600
Juin	~500	~100
Juillet	~200	0
Août	~500	0
Septembre	~200	~400
Octobre	~900	~900
Novembre	~500	~1900
Décembre	~300	~200

5

Ifremer
Journées REPHY 22/23 mars 2004

2- Les épisodes à *Dinophysis* en 2002 et 2003 :

Episode *Dinophysis* dans l'étang de Salses-Leucate 2003

Mois	Salses-Coudatière 2003 (No. cellules / L. eau)	Parc Leucate 2003 (No. cellules / L. eau)
Janvier	~700	~700
Février	~300	~100
Mars	~400	~200
Avril	~900	~2900
Mai	~300	~600
Juin	~200	~100
Juillet	0	0
Août	0	0
Septembre	~1000	~400
Octobre	~2700	~900
Novembre	~3000	~1900
Décembre	~600	~200

6

