



**Le développement des dinoflagellés toxiques du genre *Ostreopsis*
sur le littoral de la Méditerranée nord occidentale :
mise en évidence des zones à risque et
première évaluation des impacts écologiques,
sanitaires et socio-économiques**

Development of toxic dinoflagellates genus *Ostreopsis* in coastal NW Mediterranean Sea:
revealing of sensitive's areas and first evaluation of ecological,
health and economical impacts.

**Programme LITEAU III
Rapport de fin de contrat**

Observatoire Océanologique de Villefranche-sur-mer
Laboratoire d'Océanographie de Villefranche (LOV), UMR CNRS 7093, BP 28
06234 Villefranche-sur-mer

Rodolphe Lemée
Maître de conférences
04 93 76 38 39
lemee@obs-vlfr.fr

Date : 25/01/2010

N° de contrat : Convention de recherche n° 0001144



Rapport final

du 25 janvier 2010



TABLE DES MATIERES

| | |
|---|----|
| Remarques concernant ce document | 3 |
| Synthèse | 4 |
| Liste des opérations de valorisation issues du contrat..... | 16 |
| Résumés | 23 |
| Rapport scientifique | 24 |

Remarques concernant ce document :

Ce document constitue le rapport final du projet de recherche Méditerranée *Ostreopsis* "MediOs 2". Il est principalement destiné aux 3 partenaires financiers du projet, qui sont (1) le Ministère de l'Ecologie, de l'Energie, du Développement durable et de la Mer, (2) le Conseil Général des Alpes-Maritimes et (3) l'Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée-Corse. Son format et sa structure, avec en particulier une **synthèse** limitée à une dizaine de pages plus spécifiquement destinée aux gestionnaires, suivi d'un **rapport scientifique** d'environ 30 pages, sont dictées par les instructions données par le MEEDM. Ces 2 parties du rapport peuvent certes être lues séparément, mais elles ont été rédigées dans le but d'être complémentaires l'une de l'autre, la **synthèse** devant alors être lue avant le **rapport scientifique**. Ce format de document, en deux parties, dont un chapitre destiné aux gestionnaires, était également une demande du Conseil Général des Alpes-Maritimes.

Des informations complémentaires sur la problématique *Ostreopsis* en Méditerranée, le déroulement du projet, les partenaires, la bibliographie, les rapports intermédiaires et les communications orales sont disponibles sur le site internet du projet : <http://www.obs-vlfr.fr/medios2>.

Renseignements concernant les conventions :

Le projet MediOs 2 correspond à la convention de recherche n° 0001144 du programme LITEAU, à la convention n° 2008 0999 du 09/07/2008 de l'Agence de l'Eau RM&C et à la Délibération n° 23 de la Séance du 5 novembre 2007 du Conseil Général des Alpes-Maritimes (n° de l'acte : CG11023 et identifiant unique de l'acte : 006220600019-20071105-CG11023-DE).

SYNTHESE

Le développement des dinoflagellés toxiques du genre *Ostreopsis* sur le littoral de la Méditerranée nord occidentale : mise en évidence des zones à risque et première évaluation des impacts écologiques, sanitaires et socio-économiques

MEDIOS 2

PROGRAMME LITEAU III

Nom du responsable scientifique du projet : Rodolphe Lemée

Noms des autres partenaires scientifiques bénéficiaires :

CNRS, Villefranche-sur-mer et Roscoff*

A Blanfuné ; Ecologie marine et diversité des microalgues benthiques

S Cohu (LOV et ECOMERS) ; Ecologie et impact d'*Ostreopsis* spp.

S Gasparini ; Analyses numériques

L Guidi-Guivard ; Ecologie de la méiofaune (impacts sur la méiofaune)

R Lemée ; Ecologie/diversité des producteurs primaires marins (écologie *in situ*, génétique),

S Marro ; Diversité et dénombrement des microbes marins,

ML Pedrotti ; Ecologie/diversité microbienne (impacts sur les bactéries)

N Simon ; Diversité des microalgues marines (étude génétique)

**Villefranche (LOV UMR 7093) et Roscoff (AD2M UMR 7144)*

Université de Nice Sophia-Antipolis, EA 4228 ECOMERS, Nice

S Cohu (ECOMERS et LOV) ; Ecologie et impact d'*Ostreopsis* spp.

L Mangialajo ; Ecologie/diversité du benthos (écologie *in situ*, impact sur les macroherbivores)

T Thibaut ; Ecologie/diversité du benthos (écologie *in situ*, impact sur les macroherbivores)

IFREMER, Toulon, Nantes et Concarneau

Z. Amzil, V. Séchet, M. Sibat, F. Royer (*EMP/PHYC*, Nantes) : culture de microalgues et caractérisation des biotoxines.

N Ganzin, H Grossel, R Kantin, D Sauzade, J Scheiz, (*LER / PAC*, Toulon) ; Ecosystèmes marins, liens Rephy et *Ostreopsis* / Ville de Marseille).

E Nezan, et N Chomerat, (*LER / FBN*, Concarneau) ; Systématique et Diversité des microalgues (études morphologiques et génétiques)

CHU Nice, Département de Santé Publique

F le Duff ; Santé publique (étude épidémiologique)

D Koenig ; Santé publique (étude épidémiologique)

Chambre de Commerce et d'Industrie de Nice

A De Forges de Parny ; Etudiante en Master Communication-Environnement

L Hoareau ; Etudes économiques (études socio-économiques)

O Soliveres ; Chef du Département Etudes Economiques SIRIUS (études socio-économiques)

CONTEXTE GENERAL

Certaines microalgues planctoniques du littoral métropolitain français sont connues pour contenir des toxines. Elles peuvent avoir un impact sur la santé publique et les activités socio-économiques, via l'accumulation de toxines dans la chaîne alimentaire (principalement au niveau des mollusques filtreurs cultivés). Dans les régions tropicales, il existe, en plus des microalgues planctoniques, des microalgues toxiques épibenthiques et épiphytiques (qui vivent au fond, sur un substrat). Les genres *Gambierdiscus*, *Ostreopsis* et *Prorocentrum*, sont connus, par exemple, pour être liés à la Ciguatera (ou « gratte »), problème sanitaire important dû à l'accumulation dans la chaîne alimentaire de toxines très complexes et très actives. Les dinoflagellés du genre *Ostreopsis* sont également connus sous les tropiques pour être directement à l'origine d'intoxications alimentaires très graves suite à l'accumulation de toxines dans la chaîne alimentaire (poissons, crustacés).

Des microalgues benthiques toxiques existent également en Méditerranée, mais nous n'avions jamais eu connaissance de problèmes liés à leur fort développement sur les côtes françaises. Depuis une dizaine d'années et probablement en relation avec le changement climatique, une ou plusieurs espèces du genre *Ostreopsis* prolifèrent en différents endroits du littoral de la Méditerranée. En plus du risque d'accumulation des toxines de ces algues dans la chaîne alimentaire, leur prolifération à très faible profondeur le long du rivage en pleine période estivale peut avoir un impact sanitaire sur les usagers du littoral, qu'ils soient dans l'eau, sur les plages ou même dans des habitations proches du rivage. Il s'agit là d'un phénomène nouveau pour la Méditerranée, qui affecte pour l'instant de façon plus importante l'Italie et l'Espagne.

En 2007, lors de la soumission du projet MediOs 2, les conditions qui permettaient le développement d'*Ostreopsis* étaient encore peu connues et une étude des conséquences sanitaires, écologiques et socio-économiques de la prolifération de cette algue sur la côte méditerranéenne française était indispensable.

OBJECTIFS GENERAUX DU PROJET

L'objectif principal de notre démarche était de pouvoir rassembler et acquérir des connaissances scientifiques pertinentes concernant le développement du genre *Ostreopsis* en Méditerranée, dans des domaines aussi différents que ceux de l'écologie, la biologie, la chimie, l'épidémiologie ou les aspects socio-économiques. Ces connaissances, après avoir été rassemblées et discutées, seraient diffusées afin de pouvoir être un support d'aide à la décision pour les gestionnaires du milieu littoral, ainsi que pour les décideurs aux niveaux écologiques, sanitaires et économiques. Il s'agissait par conséquent d'avoir une vision la plus objective et la plus concrète possible des zones sensibles et des risques engendrés par la prolifération des espèces du genre *Ostreopsis* sur notre littoral.

Pour atteindre cet objectif, il était dans un premier temps impératif de faire une étude morphogénétique de ce dinoflagellé pour clarifier la situation et connaître la ou les espèces que nous avons en France. Au niveau de l'écologie de l'algue, nous souhaitions préciser les conditions qui permettaient son développement, via une approche directe *in situ*, parallèlement à une étude *in vitro* (cultures des souches prélevées sur le littoral français). Nous souhaitions également étudier l'impact du développement d'*Ostreopsis* spp. sur la faune et la flore, en nous limitant aux groupes suivants : bactéries, méiofaune, et macroherbivores. Nous devons étudier la composition en métabolites secondaires des souches méditerranéennes françaises ainsi que leurs toxicités et l'accumulation potentielle des toxines dans la chaîne alimentaire. Une étude épidémiologique sur les 15 dernières années a

également été envisagée : il était en effet possible que la mise en évidence de l'intoxication d'un ensemble de personnes très localisé dans le temps et dans l'espace suggère le développement d'*Ostreopsis* dans une zone où les études écologiques n'avaient pas encore montré sa présence. Enfin, vu les conditions de développement et les effets toxiques potentiels de cette microalgue, une étude socio-économique devait estimer l'impact au niveau touristique, aspect le plus innovant de cette problématique.

QUELQUES ELEMENTS DE METHODOLOGIE (ET EVENTUELLES DIFFICULTES RENCONTREES)

La présentation d'éléments méthodologiques du projet MediOs 2 est volontairement limitée, à la fois dans la synthèse et dans le rapport scientifique de ce document, afin de pouvoir plus amplement présenter et discuter (1) des résultats obtenus et (2) des recommandations destinées aux gestionnaires.

Plusieurs méthodes ont néanmoins été développées dans le cadre du projet MediOs 2 :

- Méthodes liées à l'évaluation de l'abondance des microalgues, depuis la récolte jusqu'au comptage, en passant par la séparation entre micro- et macro-algues. Plusieurs méthodes existent, chacune ayant des avantages et des inconvénients au niveau de la précision, du coût, du temps d'analyse et de la facilité de réalisation. Ces différentes méthodes ont été présentées en automne 2008 lors d'une réunion de travail au Ministère de la Santé (cf. la communication disponible sur le site internet de MediOs 2).

- Méthodes de prélèvements des embruns (dans un but d'analyse chimique). Un système permettant de récolter les embruns à différentes hauteurs et plus ou moins loin du rivage, a été développé. Ce système permet d'avoir un débit proche du débit respiratoire d'un homme au repos. Deux prototypes ont été développés en 2008. Malheureusement, lors de l'été 2009, les conditions météorologiques observées proche de Villefranche-sur-mer lors des blooms d'*Ostreopsis* étaient peu favorables à la mise en place de nos prototypes (peu de vent, ou mauvaise direction). Le système est maintenant totalement fonctionnel et autonome (présence d'un générateur) et de nouvelles expériences seront réalisées durant l'été 2010.

- Méthodes liées à l'isolement et au maintien en culture de souches françaises d'*Ostreopsis cf. ovata*. Les microalgues benthiques sont en effet plus difficiles à maintenir que les cellules planctoniques car elles nécessitent souvent des milieux de culture particuliers, des ajouts de matière organique en faible quantité et des flacons de culture avec des traitements de surface. Les partenaires de MediOs 2 connaissent maintenant les conditions de maintenance de la microalgue ciblée et cela ouvre de nombreuses perspectives (mise en place d'expériences de préférences écologiques, possibilité d'avoir de grandes quantités de microalgues permettant d'isoler et de caractériser des toxines ou de conduire des expériences d'intoxication d'organismes marins).

- Méthodes chimiques (HPLC couplée à spectrométrie de masse) permettant la quantification et la détermination des structures chimiques des toxines d'*Ostreopsis* dans les cellules de microalgues et dans les organismes marins afin de mettre en évidence un éventuel transfert ou une accumulation des métabolites dans la chaîne alimentaire

RESULTATS OBTENUS

Pour être le plus clair possible dans nos réponses et le plus en phase avec les objectifs du projet, nous répondons ici à toutes les questions explicitement posées lors de la soumission de MediOs 2 :

Quelles sont exactement les espèces du genre *Ostreopsis* présentes sur nos côtes ?

Les espèces du genre *Ostreopsis* sont des microalgues (groupe de dinoflagellés) très petites (environ 50 µm de long) qui ressemblent à une goutte d'eau lorsqu'on les observe au microscope. Elles vivent fixées sur le fond de la mer, sur un support biologique, comme des macroalgues, des plantes à fleurs marines ou des coraux. On les retrouve plus rarement libres dans l'eau. Il existe une dizaine d'espèce du genre *Ostreopsis* dans le monde, qui se développent généralement dans les zones tropicales.

Le plus ancien recensement d'une espèce du genre *Ostreopsis* en Méditerranée date de 1972, dans la baie de Villefranche-sur-mer. Mais depuis une dizaine d'années, 2 espèces prolifèrent en Méditerranée, aussi bien dans le bassin oriental que dans le bassin occidental. Il s'agit d'*Ostreopsis* cf. *siamensis* et d'*Ostreopsis* cf. *ovata*. Le terme "cf." signifie "conferre" et veut dire que ces deux espèces sont proches morphologiquement d'*Ostreopsis siamensis* et d'*Ostreopsis ovata* que l'on trouve sous les tropiques, mais elles en diffèrent du point de vue génétique. Cela implique qu'un travail de détermination doit être entrepris pour confirmer ces taxons.

Les analyses génétiques que nous avons réalisées sur des prélèvements effectués à Marseille, Nice, Villefranche et Monaco montrent que nous sommes en présence de l'espèce nommée pour l'instant *Ostreopsis* cf. *ovata* par les scientifiques méditerranéen travaillant sur le sujet. Les souches étudiées sont génétiquement identiques aux autres souches d'*Ostreopsis* cf. *ovata* de Méditerranée et à la même espèce présente en Atlantique ouest (Brésil).

Plusieurs hypothèses pourraient expliquer les proliférations d'espèces du genre *Ostreopsis* en zones tempérées : (a) une extension de l'aire de distribution des espèces suite au réchauffement climatique. Cette extension se ferait aussi bien dans l'hémisphère nord (Méditerranée) que dans l'hémisphère sud, avec la prolifération avérée d'*Ostreopsis* en Nouvelle-Zélande, (b) un plus fort développement des espèces suite au réchauffement climatique, mais ces espèces existaient déjà dans les zones tempérées actuellement impactées, (c) une introduction de ces espèces, par exemple via les eaux des ballasts des navires, dans des zones tempérées avec moins de compétiteurs et de prédateurs. Dans l'état actuel des connaissances, nous ne pouvons pas privilégier une hypothèse par rapport aux autres.

Quelles sont les conditions écologiques qui favorisent le développement d'*Ostreopsis* spp. en Méditerranée ? Quelles sont, par conséquent, les zones à risque sur le littoral méditerranéen français ?

En Méditerranée, *Ostreopsis* se développe préférentiellement fixée sur les macroalgues (brunes, rouges et vertes) qui vivent à très faible profondeur sur les rochers. Nous entendons par très faible profondeur quelques dizaines de cm. La microalgue est présente à plus grande profondeur (quelques mètres), mais en quantité moins importante.

Même si cette microalgue est présente toute l'année, on la trouve en très faible quantité l'hiver et au début du printemps, en quantité beaucoup plus importante en fin de printemps et surtout l'été et en quantité moyenne en automne. Il est important de comprendre que la toxicité potentielle n'est pas liée à la présence de l'algue, mais à sa quantité dans le milieu. Une zone à risque n'est donc pas une zone où l'on trouve *Ostreopsis*, mais une zone où cette microalgue prolifère de façon très importante. La période de forte prolifération peut être différente en fonction des sites et des floraisons (=blooms) apparaissent depuis la fin juin jusqu'à fin août et même début septembre. La durée d'un bloom est d'environ 2 semaines et plusieurs blooms peuvent se succéder dans un même site lors d'une saison estivale. Dans ce cas, le premier bloom est souvent plus important que les suivants.

Nos études montrent que la température de l'eau de mer est un facteur déterminant dans la prolifération de cette microalgue. Lorsque que la température dépasse 22 ou 23 °C, la microalgue peut potentiellement proliférer. Mais son développement est également associé à la teneur en sels nutritifs, c'est-à-dire que les zones présentant une température ET une concentration en sels nutritifs élevées ont une probabilité plus importante d'avoir un bloom d'*Ostreopsis*.

Enfin, l'hydrodynamisme, c'est-à-dire les vagues et les courants, la plupart du temps induits par les vents, joue un rôle déterminant pour deux raisons. En premier, lorsque les vents sont forts, ils peuvent induire une diminution de la température de l'eau par une homogénéisation de la couche de surface avec les couches plus profondes (cas typique de l'influence d'un coup de mistral). Cette diminution de la température de la couche de surface de l'eau, même si elle est souvent accompagnée d'une augmentation de la concentration en sels nutritifs, ne semble pas être favorable au développement d'*Ostreopsis*. En second, car un hydrodynamisme important lors d'un coup de vent facilite le décrochage des microalgues de leur substrat. Si ce coup de vent intervient lors d'un fort bloom d'*Ostreopsis* et qu'il transporte des embruns chargés de microalgues ou de toxines vers la côte, le risque sanitaire augmente. Si le coup de vent intervient avant le bloom d'*Ostreopsis*, le risque sanitaire est faible ; les microalgues étant décrochées, cela retarde également la constitution d'un stock important sur le substrat. Ce n'est donc pas seulement l'intensité des coups de vents qui est importante, mais également leur fréquence, qui, si elle est élevée, pourrait empêcher la constitution du stock de microalgue toxique sur le fond par décrochages réguliers. L'impact des vents sur le développement d'*Ostreopsis* est encore plus complexe car tous les sites ne subissent pas leur influence de la même façon. Un fond de baie sera relativement calme alors qu'un cap sera battu par les vents.

Dans l'état actuel des connaissances, ce sont les interactions entre la température, les sels nutritifs et l'hydrodynamisme qui semblent réguler la localisation, la période et l'intensité des blooms d'*Ostreopsis*. Malgré la complexité de ces interactions, deux grandes zones peuvent être distinguées en région PACA, dont la limite se situe vers Toulon. A l'ouest de cette zone, le mistral retarde souvent la montée en température des eaux de surfaces au début de l'été et les blooms d'*Ostreopsis* sont plus fréquents en août et en septembre. A l'est de cette zone, les coups de mistral sont plus rares et moins violents et la température de surface de l'eau de mer se réchauffe assez rapidement à la fin du printemps et au début de l'été. Les blooms d'*Ostreopsis* sont plus fréquents en juin et juillet. Ces données sont également à relativiser en fonction des températures moyennes pré-estivales : un printemps chaud pourrait induire des blooms précoces ; un printemps froid des blooms tardifs. Les zones rocheuses du littoral de la Corse et du Languedoc Roussillon ont été moins étudiées mais présentent les mêmes potentialités que les côtes de PACA concernant le développement d'*Ostreopsis*.

Les zones potentiellement à risques se définissent par conséquent en fonction des critères écologiques que nous venons d'évoquer. Il s'agit principalement des zones présentant une grande surface de substrat rocheux de faible profondeur recouvert de macroalgues (cas de nombreuses criques au niveau des différents caps de la côte). Les plages sableuses ou à galets ne sont pas exclues s'il existe à proximité des zones rocheuses naturelles ou artificielles, comme par exemple des épis rocheux de protection. Les grandes étendues de sables, comme celles présentes à l'ouest du delta du Rhône, ne semblent pas être des zones sensibles, sauf en cas de présence de substrat rocheux conséquent. Reste ensuite à voir comment ces zones sensibles subissent l'action des vents dominants (modes calmes ou battus) ; c'est-à-dire que la topographie à moyenne échelle semble avoir une grande importance. Enfin, la teneur en sels nutritifs est également à prendre en considération, mais des analyses complémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre l'effet de ce facteur.

Remarque très importante pour aider les gestionnaires : lorsqu'un site a présenté un fort développement d'*Ostreopsis* durant un été, il existe une très forte probabilité pour que cette microalgue prolifère les années suivantes dans le même site.

Quels sont les impacts d'*Ostreopsis* spp. sur la faune et flore marine ?

Ostreopsis cf. *ovata* contient de la palytoxine (PTX) et des dérivés de palytoxine, comme l'ovatoxin-a. La PTX est une des molécules naturelles marines les plus toxiques connue à ce jour. Il est par conséquent logique de se poser la question des risques d'intoxications humaines (cf. ci-dessous), mais l'impact écologique potentiel est également à prendre en considération.

Lors de plusieurs épisodes de proliférations d'*Ostreopsis*, principalement en Italie, des organismes marins ont été trouvés morts. Il s'agissait principalement d'échinodermes (oursins, étoile de mer), de mollusques (dont des patelles) ou de crustacés (crabes). Suite à ces observations, nous avons évalué, dans le cadre de MediOs 2, l'impact du développement d'*Ostreopsis* sur 3 modèles : l'oursin comestible *Paracentrotus lividus*, les patelles et la méiofaune. Nous avons également étudié l'abondance et la diversité bactérienne associée à *Ostreopsis* afin de mettre en évidence un effet antibiotique éventuel ou un rôle des bactéries dans la toxicité.

Oursins : Nos observations ne permettent pas de conclure à un impact d'*Ostreopsis* cf. *ovata* sur la densité de *Paracentrotus lividus*. Nous avons parfois observé une diminution de la population d'oursin dans des zones où la microalgue prolifère, mais il est difficile d'estimer l'impact du dinoflagellé car les oursins sont souvent pêchés, même hors des périodes légales de récolte. De plus, lors du suivi d'*Ostreopsis* en 2009, 144 échantillonnages ont été effectués dans la Rade de Villefranche, des fleurs d'eau ont été observées, des concentrations très fortes d'*Ostreopsis* cf. *ovata* ont été mesurées, une plage a été fermée mais aucune mortalité d'oursins n'a été observée et aucun test vide ni oursins perdants ses piquants n'ont été observés. Ces résultats ne sont pas en adéquation avec la forte mortalité d'oursins ou la présence d'oursins sans épine observée lors de précédents blooms (Italie en 2005). Il est possible que ces observations d'oursins morts ou fortement impactés soient dues (1) à d'autres caractéristiques du milieu (ex : qualité environnementale dégradée) ou (2) à un impact indirect d'*Ostreopsis* cf. *ovata* (hypoxie ou anoxie du milieu suite à la forte activité bactérienne en fin de bloom). Il faut également noter que le tube digestif des oursins, récoltés en été à Marseille et à Villefranche, était plein de fragments de macroalgues. Cette observation, *a priori* anodine, indique néanmoins que la présence de toxines dans les microalgues épiphytes n'empêche pas les oursins de consommer les macroalgues qui servent de support. Ces toxines semblent donc ne pas avoir d'effet répulsif.

Patelles : Nos études ont clairement montré un impact du développement d'*Ostreopsis* sur les populations de patelles, avec une diminution du nombre d'individus pouvant atteindre 30 %, principalement dans les petites classes de tailles. Contrairement aux oursins, cette diminution du nombre d'individus ne semble pas être liée à un impact humain car la pêche récréative de patelles est peu développée en France et elle aurait un impact sur les grandes classes de tailles et non sur les petits individus.

Méiofaune : Ce sont de petits organismes benthiques dont la taille est comprise entre 40 µm et 1 mm et qui vivent en abondance dans les macroalgues où ils servent de nourriture à de nombreux organismes plus gros, notamment aux juvéniles de poissons. La méiofaune se nourrit de microalgues et certains groupes qui la composent sont particulièrement sensibles aux pollutions. De plus, elle sert de nourriture à de nombreux organismes, comme les juvéniles de poissons. Nos analyses ont permis de mettre en évidence des changements de communauté de la méiofaune associés à de fortes concentrations en *Ostreopsis*. Les groupes

les plus affectés sont les nauplii et les insectes (marins) tandis que les abondances en nématodes et acariens augmentent de façon significative. Les nauplii étant les premiers stades juvéniles des copépodes (petits crustacés), nos observations suggèrent un effet négatif des toxines d'*Ostreopsis* sur la reproduction des copépodes. En ce qui concerne l'effet positif d'*Ostreopsis* sur les nématodes et les acariens, il s'agit probablement d'un effet indirect, conséquence de la réduction des compétiteurs au sein de groupes qui occupent une même niche trophique. Cet impact d'*Ostreopsis* sur la méiofaune pourrait avoir des répercussions sur l'ensemble de l'écosystème.

Bactéries : Le nombre de bactéries libres dans l'eau autour des microalgues, ou associés aux agrégats d'*Ostreopsis*, est important. Cela indique que la PTX et ses dérivés n'ont pas d'effet antibiotique ou qu'ils ne diffusent pas en dehors des cellules de microalgue. Les bactéries du genre *Vibrio*, potentiellement impliquées dans la toxicité d'*Ostreopsis* selon la littérature, ne forment qu'une toute petite fraction des bactéries.

Quels sont les risques d'intoxications humaines directes (contact avec les algues, l'eau, les agrégats, les aérosols) ou indirectes (via la concentration des toxines dans la chaîne alimentaire) ?

Pour comprendre les différents risques d'intoxications liés à *Ostreopsis*, il faut bien connaître le développement de cette microalgue dans le milieu. Dans les zones favorables à sa prolifération, la microalgue se divise d'abord sur les macroalgues, jusqu'à former des amas compacts bruns recouvrant presque totalement le substrat. Les microalgues en amas se détachent ensuite du fond et flottent dans l'eau ou en surface de la mer, où elles forment ce qu'on appelle des fleurs d'eau (attention, toutes les fleurs d'eau ne contiennent pas d'*Ostreopsis*...). Il faut donc bien distinguer les microalgues sur le fond (benthiques), les microalgues qui flottent dans l'eau (planctoniques) et enfin les microalgues en surface (fleurs d'eau).

Les intoxications humaines connues en Méditerranée sont dues (a) à un contact direct avec les microalgues benthiques (sur les macroalgues). C'est le cas typique des irritations cutanées au niveau des jambes de jeunes baigneurs qui jouent proche des rochers, (b) à un contact avec les microalgues planctoniques. C'est le cas par exemple des plongeurs sous-marins ou des apnéistes qui présentent des irritations autour de la bouche, seule partie du corps en contact direct avec l'eau quand ils portent une combinaison. Il semble également que les aérosols formés lors de l'utilisation d'un détendeur ou d'un tuba puissent être à l'origine d'irritations dans la bouche et dans la gorge chez certaines personnes, (c) aux microalgues (ou fragments de microalgues ou toxines) présents dans les fleurs d'eau et dans l'eau et qui sont transportés dans les embruns par les vents vers la plage, voir même vers encore plus loin à l'intérieur des terres (sentiers de promenade, routes ou habitations). Les symptômes sont alors des irritations cutanées, des conjonctivites, des inflammations de la sphère ORL et enfin des problèmes respiratoires et un syndrome grippal pour les personnes les plus sensibles. C'est par cette voie (embruns) que de nombreuses personnes ont été intoxiquées en Méditerranée, avec 3 cas groupés connus (en Espagne en 2004, en Italie en 2005 et en Algérie en 2009) impliquant chaque fois plus de 200 baigneurs, promeneurs ou riverains.

Il existe également un risque lié à l'ingestion de produits de la mer. Ce risque est avéré dans les zones tropicales, où des intoxications très sévères ont eu lieu après la consommation de poissons et de crustacés dans lesquels de la palytoxine a été retrouvée. Par contre, à notre connaissance, aucune intoxication suite à l'ingestion de produit de la mer n'a été recensée en Méditerranée. Mais le risque existe réellement car des toxines d'*Ostreopsis* (PTX et surtout ovatoxin-a) ont été retrouvées dans plusieurs organismes marins :

(a) dans les oursins comestibles *Paracentrotus lividus*. Il s'agit d'un des principaux macroherbivores de Méditerranée ; il consomme des macroalgues et par conséquent également les microalgues toxiques épiphytes qui se développent sur ce substrat. De la palytoxine et surtout de l'ovatoxin-a (dérivé de la palytoxine) ont été trouvées en relativement grande quantité dans le tube digestif des oursins en été. Aucune toxine n'a été trouvée dans les gonades. Sachant que la récolte des oursins est interdite en été et que la partie comestible (les gonades) ne contient pas de toxine, le risque paraît limité. Mais il est impératif de prendre en considération le fait que ces organismes sont récoltés en été malgré l'interdiction et que certaines personnes consomment l'intégralité des parties molles des oursins.

(b) dans les moules comestibles. Il s'agit là d'organismes filtreurs et la contamination se fait par conséquent via les cellules planctoniques d'*Ostreopsis*. Au niveau des côtes françaises de la Méditerranée, la récolte de moules directement dans le milieu (pêche récréative) est rare mais possible ; le risque avec ces organismes se situe plutôt au niveau des ressources exploitées. La mytiliculture se fait généralement dans des zones riches sur substrat non dur. Mais la proximité de substrats rocheux colonisés par *Ostreopsis* est envisageable et il est par conséquent indispensable de rechercher cette espèce dans les zones d'exploitation.

(c) dans les mollusques gastéropodes du genre *Murex*. Ces organismes sont considérés comme des prédateurs ou des nécrophages. Ils sont très rarement consommés, mais le plus intéressant dans ce cas est que la présence de toxines dans ces organismes indique probablement un transfert des métabolites secondaires d'*Ostreopsis* dans la chaîne alimentaire, puisque ces organismes ne sont ni des herbivores, ni des filtreurs.

De nombreux autres organismes sont en cours d'analyses par l'AFSSA et l'Ifremer (poissons herbivores, poissons carnivores, échinodermes, mollusques, crustacés) et nous devrions avoir les résultats en début d'année 2010.

Le profil toxinique, c'est-à-dire la nature et concentration relative des toxines, est le même dans toutes les matrices organiques analysées (cellules d'*Ostreopsis*, échinodermes, mollusques). Il n'y a donc a priori pas de métabolisation des toxines, c'est-à-dire de modification de leur structure chimique suite à leur consommation par les organismes marins. Mais cela reste à confirmer par d'autres analyses.

Avons-nous déjà eu des problèmes sanitaires liés au développement de cette algue durant les 15 dernières années sur le littoral français (étude épidémiologique) ?

Parallèlement au déroulement du projet MediOs 2, la Direction Générale de la Santé (via la DRASS-PACA, la CIRE-Sud et Centre Antipoison de Marseille) a mis en place et fait évoluer une surveillance sanitaire et environnementale d'*Ostreopsis* depuis 4 ans. Il faut donc bien séparer ces deux actions au niveau épidémiologique.

Dans le cadre de MediOs 2, le but était de recenser les cas groupés de passage aux urgences susceptibles d'être en relation avec le développement d'*Ostreopsis* sur les 15 dernières années au niveau des services d'urgence du littoral français méditerranéen. L'idée originale s'appuie sur le fait que l'Ifremer, dans le cadre du réseau REPHY, a déjà mis en évidence la présence, ces 15 dernières années, de concentrations d'*Ostreopsis* spp. dépassant 50 000 cellules/litre dans plusieurs sites. Ce travail a été compliqué pour plusieurs raisons : (1) il est basé sur une codification des symptômes par les services des urgences médicales, qui n'a pas été réalisée de façon systématique, surtout au début de sa mise en œuvre, (2) les symptômes liés à *Ostreopsis* sont peu spécifiques (hypersensibilité allergique aiguë, hyperthermie, dyspnée, rhinites, conjonctivites, urticaire), (3) les personnes atteintes de ces symptômes ne vont pas obligatoirement consulter dans les services d'urgence, (4) l'absence de motivation des médecins et des établissements pour recueillir et éventuellement fournir l'information de l'activité produite aux urgences, (5) la méconnaissance de l'impact sanitaire

d'*Ostreopsis* et des conditions de cette intoxication dans les services d'urgences. Malgré ces difficultés, l'évolution de la fréquence des patients potentiellement liée à une intoxication à *Ostreopsis* a été réalisée sur les données disponibles. Seule une augmentation des gastro-entérites ou colites par hypersensibilité alimentaire autour des années 2003 semble significative, sans que cela puisse être relié au développement de la microalgue toxique. L'étude épidémiologique rétrospective réalisée dans le cadre de MediOs 2 montre donc que des données fiables sur l'impact réel d'*Ostreopsis* ne pourront être collectées que si (1) les services des urgences sont sensibilisés à la problématique, (2) un recueil spécifique et simple à remplir est à disposition et (3) le recueil d'information automatisé est soutenu.

Cet effort sur la sensibilisation des services et le recueil d'information centralisé a été réalisé par la DRASS-PACA, la CIRE-Sud et Centre Antipoison de Marseille. Depuis 4 ans, une surveillance environnementale et sanitaire est en place sur le littoral méditerranéen français, avec une centralisation et une vérification des cas par les médecins du Centre Antipoison de Marseille. Toutes les procédures, depuis la sensibilisation, le recueil et la prise de décision, sont présentées dans la note de service n° DGS/EA4/2009/196 destinée aux préfets des départements du littoral méditerranéen français (document de 18 pages avec 14 annexes, disponible pour information sur le site internet du projet MediOs 2). Cette surveillance a permis la mise en évidence, entre 2006 et 2009, de neuf épisodes d'efflorescence sur les côtes méditerranéennes françaises ou monégasques, dont 5 ont entraîné des symptômes chez des plongeurs, des baigneurs ou des riverains. Les symptômes rapportés chez les 47 patients ont été limités à des troubles irritatifs cutanés, muqueux et/ou respiratoires, bénins ou modérés, et spontanément résolutifs en 12 à 72 heures sans traitement. La durée des symptômes a été réduite à moins de 12 heures en cas de prescription d'anti-inflammatoires non stéroïdiens. Des mesures d'interdiction des plages pour protéger la population ont été nécessaires à 5 reprises depuis la mise en place de cette surveillance (ces données proviennent d'une publication en cours de rédaction, par Tichadou et collaborateurs).

Quels pourraient être les impacts socio-économiques liés au développement de cette algue sur nos côtes ?

La région PACA, prise comme référence pour cette évaluation, possède une économie fortement liée à la mer à travers la pêche maritime, l'aquaculture, les ports et la plaisance mais surtout le tourisme balnéaire : les dépenses touristiques annuelles dans la région sont de 11 milliards d'euros dont une part importante durant la saison estivale. Malgré leur poids plus modeste du point de vue économique (quelques 25 millions d'euros de chiffre d'affaires), il aurait pu paraître légitime de s'intéresser aux conséquences d'*Ostreopsis* sur la pêche et l'aquaculture, mais les conséquences sur la chaîne alimentaire sont encore à l'étude. Cette première étude se concentre donc uniquement sur l'impact potentiel d'*Ostreopsis* sur l'économie touristique de la région PACA, tout en rappelant que ce phénomène, comme d'autres pollutions marines, n'est pas spécifique à la région mais est observé sur l'ensemble du bassin méditerranéen.

Des enquêtes ont été menées auprès des usagers des plages et des entreprises situées à proximité immédiate. Une veille des informations diffusées par internet à propos d'*Ostreopsis* a également été effectuée. Il ressort de ces travaux que, dans les conditions actuelles (**scénario 1**), *Ostreopsis* est un phénomène très peu identifié par le grand public, souvent masqué par ou confondu avec d'autres types de pollutions. Son impact économique reste nul au niveau régional, malgré des difficultés rencontrées par un petit nombre d'entreprises. En cas d'amplification du phénomène menant à la fermeture préventive d'une grande plage de la région (**scénario 2**), l'impact deviendrait négatif au niveau régional et les pertes des entreprises pourraient atteindre plusieurs centaines de milliers d'euros. Dans le cas où les

phénomènes deviendraient suffisamment graves et récurrents pour faire baisser significativement la fréquentation touristique de la région (**scénario 3**), avec notamment un relais important et alarmiste par les médias nationaux et internationaux, les pertes se chiffrent alors en millions ou dizaines de millions d'euros.

Comment et à qui diffuser les connaissances acquises dans ce projet pour gérer au mieux les problèmes potentiels liés au développement de cette microalgue ?

Le nombre des acteurs impliqués dans la problématique *Ostreopsis* n'a cessé d'augmenter parallèlement au déroulement du projet MediOs 2 (cf. chapitre 10-5 du rapport scientifique). La diffusion des connaissances n'est donc pas un problème simple mais est surtout fonction du public ciblé. Concernant les gestionnaires locaux et nationaux, nous pensons diffuser largement la partie "synthèse" de ce document, qui sera téléchargeable via l'espace public du site internet de MediOs 2 (www.obs-vlfr.fr/medios2). Le rapport scientifique sera diffusé dans un premier temps uniquement aux partenaires financiers du projet. L'ensemble de nos résultats sera ensuite soumis à la critique de la communauté scientifique internationale via la voie classique des publications dans des revues à comité de lecture, mais également via la présentation de nos résultats lors du prochain congrès international sur *Ostreopsis* (Villefranche, 2010)

IMPLICATIONS PRATIQUES, RECOMMANDATIONS, REALISATIONS PRATIQUES, VALORISATION

Nous présentons ci-dessous les principales recommandations que les membres du projet MediOs 2 souhaitent faire aux gestionnaires et aux décideurs impliqués dans la problématique *Ostreopsis*. Ces recommandations découlent des résultats de nos expériences et de nos réflexions sur la mise en place ou l'optimisation des processus à mettre en œuvre pour la gestion de ce risque naturel.

1) Modification des procédures et des seuils de surveillance : Dans la note de service de la Direction Générale de la Santé n° DGS/EA4/2009/196 destiné aux préfets des départements du littoral méditerranéen français, les seuils utilisés en 2009 étaient de 30 000 cellules d'*Ostreopsis* par litre en "pré-alerte" et de 100 000 cellules par litre pour une "alerte". Il s'agit là de concentrations de cellules toxiques libres dans l'eau. Nos études ont montré que les fortes concentrations d'*Ostreopsis* dans l'eau sont très fugaces. Ces concentrations sont très variables d'un jour à l'autre, en fonction de l'heure de la journée et en fonction de la profondeur de prélèvement. Il faut également tenir compte des courants qui, même s'ils sont faibles, peuvent rapidement diluer les *Ostreopsis* planctoniques. En conclusion, même s'il est techniquement plus facile de réaliser des prélèvements et des comptages d'*Ostreopsis* planctoniques, il est impératif de compléter ces analyses par des comptages d'*Ostreopsis* épiphytes (sur les macroalgues). La quantité d'*Ostreopsis* épiphytes est également variable dans l'espace et dans le temps, mais l'amplitude des variations est plus faible que celle observée pour les cellules planctoniques. Avec ce paramètre, les gestionnaires auront accès au stock de microalgues toxiques d'un site. C'est une vision beaucoup plus réaliste de la "dangerosité" d'un site. Cela implique néanmoins de faire un travail d'évaluation des seuils de pré-alerte et d'alerte au niveau de ces prélèvements épiphytes.

2) Mise en place d'une surveillance du risque alimentaire : La surveillance actuellement en place a pour but de limiter les risques liés au contact direct ou à l'inhalation des cellules, des fragments de cellules ou des toxines d'*Ostreopsis*. Mais le risque alimentaire est maintenant

avéré, avec de la palytoxine et des dérivés de cette toxine trouvés dans plusieurs organismes marins comestibles. Des seuils réglementaires de palytoxine (ou d'équivalent palytoxine, permettant d'inclure la palytoxine et ses dérivés) existent et sont également en cours d'évolution en fonction de l'acquisition de nouvelles connaissances dans le domaine.

En se basant sur les observations réalisées dans les zones tropicales, les intoxications à la palytoxine (et ses dérivés) sont très graves. Il est donc impératif de mettre en place une surveillance du risque alimentaire. Les modalités de cette surveillance sont à déterminer (uniquement sur les produits de la mer exploités ou également sur les produits liés à la pêche récréative? ; dans quelles zones? ; à quelle périodes? ; etc...)

3) Mise en place d'un texte réglementaire : La vision de la dangerosité d'*Ostreopsis* est variable selon les gestionnaires. Certains pensent que les problèmes sanitaires existants ou potentiels ne nécessitent pas la mise en place d'une surveillance importante ; au contraire, d'autres acteurs pensent que la surveillance environnementale mise en place doit rapidement évoluer, avec une augmentation du nombre de sites étudiés et de la fréquence d'échantillonnage (actuellement, seuls 2 sites par département doivent faire l'objet d'une surveillance). Les travaux du Centre Antipoison de Marseille et de la DRASS-CIRE sud ont recensé 47 cas d'intoxications en relation avec le contact ou l'inhalation d'*Ostreopsis* en région PACA durant les 4 dernières années. Cela correspond en moyenne à environ 12 intoxications légères par an, avec une guérison relativement rapide. Il est évident que ce bilan, comparé à celui d'autres problèmes sanitaires, n'est pas en faveur de la mise en place d'un dispositif de surveillance lourd et coûteux. Mais ce simple bilan comptable ne doit pas faire oublier le risque réel d'une ou plusieurs intoxications groupées, comme celles observées en Espagne en 2004, en Italie en 2005 et en Algérie en 2009, impliquant chaque fois plus de 200 baigneurs, promeneurs ou riverains. Ces intoxications groupées sont rares car elles nécessitent un concours de circonstances dont la probabilité semble pour l'instant faible : il faut une zone de grande superficie propice au développement d'*Ostreopsis*, un bloom de cette espèce avec une part importante de cellules planctoniques ou formant des fleurs d'eau, un vent conséquent venant du large et apportant les embruns en direction de la côte et enfin un nombre important de personnes sur le bord de mer. Comme pour de nombreux problèmes sanitaires en relation avec des toxines naturelles, seule une législation nationale ou internationale (e.i. européenne) avec des normes bien établies permettra de clarifier la situation au niveau des modalités de la surveillance à réaliser. Il existe bien le document du Ministère de la Santé et des Sports n° DGS/EA4/2009/196 du 07 juillet 2009, mais c'est une "Note de Service", spécifique à la saison balnéaire 2009. Un texte réglementaire est maintenant indispensable afin de préciser les actions obligatoires et le rôle de chaque acteur.

4) Mise en place d'un Comité National de Pilotage: L'évolution de la connaissance sur les risques liés à la prolifération d'*Ostreopsis* est en relation directe avec l'augmentation du nombre des acteurs impliqués dans la problématique. Par exemple, les gestionnaires du risque "baignade" peuvent être différents de ceux qui s'occupent du risque "inhalation" et sont parfois eux-mêmes différents de ceux qui s'occupent du risque "alimentaire". Il est évident que via cette multiplication des acteurs, les actions menées autour d'*Ostreopsis* ne sont pas toujours concertées. Il apparaît indispensable et urgent aux partenaires du projet MediOs 2 que soit mis en place un Comité National de Pilotage *Ostreopsis* (CNPO) qui rassemblerait des acteurs de l'environnement, de la santé, de la gestion du littoral, de la gestion de crise et enfin de la communication. Ce CNPO serait un bon outil pour comprendre les besoins de tous les gestionnaires et structurer les activités de recherche fondamentales et appliquées en France.

5) Continuer à soutenir les recherches fondamentales et appliquées sur *Ostreopsis* : Le projet MediOs 2 a permis de répondre à beaucoup de questions, mais il reste encore de nombreuses inconnues concernant l'écologie, la toxicité et les impacts écologique, sanitaire et socio-économique de ces microalgues. Nous souhaitons mettre en avant 2 priorités :

a) Une recherche des sites contaminés : Nous avons réalisé, dans le cadre de MediOs 2, des études (1) à grandes échelles spatiales (entre Marseille et Gênes) et temporelles (l'année) et (2) des études à petites échelles spatiales (du mètre au km) et temporelles (de 1 à plusieurs prélèvements par jour). Maintenant que nous connaissons les caractéristiques écologiques principales des zones sensibles (cf. ci-dessus), il est impératif de recenser l'ensemble des sites contaminés. Cela implique des prélèvements et des analyses dans de nombreux sites côtiers en pleine période estivale.

b) Une recherche concernant l'optimisation des processus de surveillance, avec (1) une étude comparée des méthodes de prélèvement, de conservation et de comptage des microalgues, incluant la faisabilité et le coût de tous ces processus, (2) une réflexion sur la formation des opérateurs de cette surveillance, (3) un bilan comparatif des moyens de gestion mis en œuvre dans les autres pays impliqués dans la problématique et enfin (4) une réflexion sur la communication à mettre en place pour optimiser cette surveillance.

PARTENARIATS MIS EN PLACE, PROJETS, ENVISAGES

A) Suite à une réunion au Ministère de la Santé en automne 2008, 2 projets impliquant plusieurs membres de MediOs 2 ont vu le jour : (1) Un projet Ifremer-DGAL afin d'étudier la contamination possible de mollusques filtreurs (moules). Les sites d'études pour la saison estivale 2009 ont été Marseille et Villefranche. Les moules concentrent effectivement les toxines d'*Ostreopsis* et il existe une forte corrélation entre la quantité de toxines dans les moules et la concentration de microalgues toxiques dans le milieu, (2) Un projet de la DGS impliquant l'AFSSA, en partenariat avec le LOV et l'Ifremer, sur la contamination possible de plusieurs organismes marins, via des tests de toxicité spécifique et des analyses chimiques.

B) Le projet NEMO'S : Plusieurs partenaires de MediOs 2 (l'Ifremer, la CCI de Nice et le LOV) sont impliqués dans le projet "Network for the Environmental Management of *Ostreopsis* and Other potentially toxic Algae" qui a été proposé, sous l'impulsion de nos collègues italiens, dans le cadre du programme de coopération transfrontalière Inrerreg MED. Ce projet regroupait à la fois des scientifiques et des gestionnaires autour de la problématique générale des pollutions biologiques marines liées au changement global en Méditerranée. Malheureusement, ce projet n'a pas été financé (réponse obtenue en automne 2009) mais nous attendons les évaluations complètes pour l'optimiser afin de le resoumettre.

C) Collaboration avec l'Algérie : Suite aux informations disponibles dans les médias cet été (2009) et présentant une intoxication groupée de plus de 200 personnes en Algérie, *a priori* lié à *Ostreopsis*, nous avons contacté la Direction des Affaires Internationales du CNRS. Cet organisme nous a mis en contact avec l'Ambassade de France et avec des responsables de l'environnement marin ou de la recherche dans plusieurs Ministères algérien. Suite à des échanges de mails, Monsieur Touahria (de la Faculté des Sciences d'Alger) a pu venir en France 3 semaines en décembre 2009 à la fois pour entamer une collaboration (comparaisons morphologique et génétique des souches d'*Ostreopsis* spp. algériennes et françaises), mais également et surtout pour discuter et faire un transfert de connaissance afin que des études scientifiques et un suivi environnemental potentiel puisse se mettre rapidement en place en Algérie.

D) ICOD : "International Congress on *Ostreopsis* Development" : L'Université de Nice-Sophia Antipolis (Luisa Mangialajo) et l'Observatoire Océanologique de Villefranche-sur-mer (Rodolphe Lemée) vont organiser un Congrès International sur le développement d'*Ostreopsis*. Ce Congrès sera parrainé par la Société Phycologique de France (SPF) et se

déroulera en automne 2010 dans la Citadelle de Villefranche-sur-mer. Les principaux objectifs de ce colloque sont de faire un bilan des connaissances sur *Ostreopsis*, de discuter des lignes de recherche prioritaire pour l'avenir et de faire un bilan des expériences au niveau de la gestion de cette problématique dans les différents pays impactés. Nous avons fait des demandes de subventions à la région PACA, au département des Alpes-Maritimes, au PRES Euro-méditerranéen, à RAMOGE et à la commune de Villefranche-sur-mer et nous espérons avoir des réponses positives. Ce congrès peut être considéré comme le séminaire de restitution finale du projet MediOs 2, avec une présentation de nos résultats à la communauté scientifique nationale et internationale.

E) ANR *Ostreopsis* : Il est fort probable qu'une grande partie des partenaires du projet MediOs 2 se réunissent à nouveau, avec d'autres collaborateurs, pour présenter un projet de recherche dans le cadre de l'Agence Nationale de la Recherche (ANR). Nous attendons d'avoir publié nos résultats de MediOs 2 en 2010 avant de soumettre ce nouveau projet.

POUR EN SAVOIR PLUS

Les partenaires du projet ont mis en place un site internet dédié à MediOs 2 (adresse : www.obs-vlfr.fr/medios2). L'espace public est pour l'instant volontairement peu développé. L'espace réservé, protégé par un mot de passe (qui change régulièrement ; le demander par mail à lemee@obs-vlfr.fr) présente un grand nombre de rubriques, avec la présentation de l'ensemble des partenaires du projet, un accès direct à toutes les communications orales effectuées lors des séminaires de recherche ou des Comités de Pilotage du projet ou tout autre réunion ou congrès nationales ou internationales et enfin une rubrique « Publication *Ostreopsis* » qui est en fait une base de données concernant les publications scientifiques en relation avec *Ostreopsis* et d'autres dinoflagellés toxiques épibenthiques. Ce site internet sera maintenu (et complété) durant toute l'année 2010. Pour les années suivantes, il est possible qu'il soit intégré dans un site plus général concernant *Ostreopsis* et plus seulement le projet MediOs 2.

LISTE DES OPERATIONS DE VALORISATION ISSUES DU CONTRAT (ARTICLES DE VALORISATION, PARTICIPATIONS A DES COLLOQUES, ENSEIGNEMENT ET FORMATION, COMMUNICATION, EXPERTISES...)

PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES

L'année 2010 sera consacrée en grande partie à la valorisation des résultats obtenus lors des 2 premières années du projet MediOs 2, principalement via la soumission de publications dans des revues internationales à comité de lecture. Sont présentés ci-dessous les titres de ces publications (en français, mais les publications seront en anglais) qui devraient être soumises au plus tard début 2011.

Publications scientifiques prévues

Ecologie et écophysologie :

- Le développement du dinoflagellé toxique benthique *Ostreopsis* cf. *ovata* en Monaco (Méditerranée NO) en 2007 et 2008. Publication en cours de finalisation.
- Bilan des connaissances sur l'écologie, la physiologie et la toxicité des espèces du genre *Ostreopsis* (dinoflagellés benthiques).
- Le développement des dinoflagellés toxiques des genres *Ostreopsis*, *Coolia* et *Prorocentrum* en mer Ligure (Méditerranée NO) en 2008.
- Variation annuelle de la microflore benthique en mer Ligure (Méditerranée NO) en 2008.
- Variations spatiales et temporelles du développement d'*Ostreopsis* cf. *ovata* (dinoflagellé toxique benthique) dans la Baie de Villefranche (Méditerranée NO) durant l'année 2009.
- Variations nyctémérales de la quantité d'*Ostreopsis* cf. *ovata* (dinoflagellé toxique) benthique et planctonique.
- Formation de TEP et diversité bactérienne associées au développement d'*Ostreopsis* cf. *ovata* (dinoflagellé toxique benthique) dans la Baie de Villefranche (Méditerranée NO)
- Impact d'*Ostreopsis* cf. *ovata* (dinoflagellés toxique benthique) sur les patelles en Méditerranée NO
- Impact d'*Ostreopsis* cf. *ovata* (dinoflagellés toxique benthique) sur la méiofaune en Méditerranée NO
- Cultures d'*Ostreopsis* cf. *ovata* (dinoflagellés benthiques) : variation de la croissance et du profil toxinique en relation avec la température, la lumière et la salinité.

Métabolites secondaires :

- Profils toxiques d'*Ostreopsis* cf. *ovata* (dinoflagellé toxique benthique) en Méditerranée NO
- Présence de toxines d'*Ostreopsis* cf. *ovata* (dinoflagellé toxique benthique) dans la chaîne alimentaire en Méditerranée NO.

Socio-économie :

- Impacts économiques potentiels du développement d'*Ostreopsis* cf. *ovata* (dinoflagellés toxiques) en Méditerranée NO et importance de la communication (cas du SE de la France).

Impacts sanitaires et surveillance :

- Conséquences sanitaires des blooms d'algues unicellulaires du genre *Ostreopsis* en Méditerranée : expérience du réseau de surveillance en France depuis 2006. Publication à l'initiative du Centre Antipoison de Marseille et de la DRASD-Cire Sud, en cours de finalisation.

COLLOQUES

Participations passées à des colloques nationaux

Lors des 4 séminaires de recherche de MediOs 2 organisés à l'Observatoire Océanologique de Villefranche-sur-mer, de nombreuses communications orales ont été présentées par l'ensemble des partenaires du projet. Il n'est pas possible ici d'en faire la liste, mais ces communications sont toutes téléchargeables sur le site internet du projet, à l'adresse suivante : <http://www.obs-vlfr.fr/medios2>.

Cohu S., Mangialajo L., Lemée R. , Thibaut T., Blanfuné A. (2008). Les dinoflagellés toxiques du genre *Ostreopsis* en Méditerranée Nord Occidentale. *Troisième Journées Scientifiques Euroméditerranéennes*, Toulon, France, 13 et 14 novembre.

Cohu S., Mangialajo L., Lemée R. , Thibaut T., Blanfuné A. (2008). Les dinoflagellés toxiques du genre *Ostreopsis* en Méditerranée Nord Occidentale. *Assemblée Générale du GIS Posidonie*, Marseille, décembre 2008.

Grossel H., Miralles F., Chavanon F., Kantin R (2008). *Ostreopsis*, un risque émergent. De l'apport de la recherche à l'appui à la gestion. *Colloque Algimac de la Société Phycologique de France*, Concarneau, France, 9 et 10 décembre.

Lemée R., Mangialajo L., Cohu S., Blanfuné A., Passafiume O., Thibaut T. (2008). Le développement des dinoflagellés toxiques benthiques du genre *Ostreopsis* en Méditerranée NO : présentation du projet MediOs 2. *Colloque Algimac de la Société Phycologique de France*, Concarneau, France, 9 et 10 décembre.

Lemée R. (2008). Présentation du projet MediOs 2. *Colloque annuel du programme LITEAU : Regards croisés des projets LITEAU sur le littoral*, Marennes-Oléron, France, 2 et 3 avril.

Lemée R., Grossel H. & Serre C. (2009). Présentation du projet MediOs 2. *Colloque annuel du programme LITEAU* : Montpellier, France, 9, 10 et 11 décembre.

Cohu S. (2009). Le développement des dinoflagellés toxiques du genre *Ostreopsis* en Méditerranée NO. *Séminaire annuel du Laboratoire d'Océanographie de Villefranche*, Nice, France, 15 janvier.

Guidi-Guivard L. & Gasparinin S. (2009). Influence du développement d'*Ostreopsis* cf. *ovata* sur l'abondance et la composition de la méiofaune.

Lemée R. (2009). Le développement des dinoflagellés toxiques du genre *Ostreopsis* en Méditerranée. *Séminaire annuel du Laboratoire d'Océanographie de Villefranche*, Nice, France, 7 décembre.

Participations passées à des colloques internationaux

Amzil Z., Sibat M., Séchet V., Chomerat N., Royer F., Lemée R. & Grossel H. Palytoxin-like accumulation in sea urchin in relation with *Ostreopsis* cf. *ovata* bloom on French Mediterranean coast. *7th International Conference on Molluscan Shellfish Safety*, Nantes, France, June 14-19.

Cohu S., Blanfuné A., Mangialajo L., Markovic L., Cottalorda J.M., Lemée R. & Thibaut T. (2009). Development of *Ostreopsis* spp. in Monaco in relation with environmental factors. *ASLO 2009 Aquatic Science Meeting*, Nice, France, January 25-30.

Mangialajo L., Asnaghi V., Blanfuné A., Cattaneo-Vietti R., Chiantore M., Cohu S., Francour P., Privitera D., Thibaut T. & Lemée R. (2009). Dynamics of *Ostreopsis* cf. *ovata* in the Mediterranean Sea, relations with environmental factors and consequences on shallow rocky ecosystems. *ASLO 2009 Aquatic Science Meeting*, Nice, France, 2009, January 25-30.

Cohu S., Blanfuné A., Labat J.P. , Lemée R., Mangialajo L., Markovic L., Passafiume O. and Thibaut T. (2009). Development of the benthic toxic dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata* in Monaco (NW Mediterranean Sea). *The 9th International Phycological Congress*, Tokyo, Japon, August 2-8.

Mangialajo L. (2009). The evolution of rocky ecosystems in the Mediterranean Sea and the *Ostreopsis* cf. *ovata* blooms. *Conference at the International Agency for Atomic Energy*, Monaco, March 4.

Participations futures à des colloques internationaux

Guidi-Guilvard et al. (2010). The effect of *Ostreopsis* cf. *ovata*, a toxic benthic microalga, on phytal meiofauna from the coastal NW Mediterranean. *Fourteenth International Meiofauna Conference*, Ghent, Belgique, 12-16 juillet.

Toutes les communications prévues à *ICOD*, Villefranche, 2010.

THESES

Thèses en cours

Stéphanie Cohu, thèse de l'Université de Nice-Sophia Antipolis, co-direction ECOMERS (Nice) et LOV (Villefranche). Sujet : Ecologie et dynamique des populations d'*Ostreopsis* cf. *ovata* en Méditerranée NO.

ARTICLES DE VALORISATION-VULGARISATION

Articles de vulgarisation parus

Mangialajo L & Lemée R. (2008 et 2009). *Ostreopsis* : alerte générale estivale aux mousses d'algues microscopiques toxiques pour les baigneurs. Brochure « Mer Vivante » du Lion's Club, page 149 à 151.

Articles de vulgarisation prévus

Brochure sur les algues nuisibles en préparation par l'Institut Océanographique de Paris, avec un chapitre sur le développement d'*Ostreopsis* en Méditerranée.

Communication affichés de vulgarisation

Lemée R. (2009). Poster sur "Le développement de l'algue toxique *Ostreopsis* cf. *ovata* en Méditerranée". Exposition du poster suivie de discussions lors de la fête de la Sciences 2009 à la Nice (Nucéra) et à Sophia-Antipolis (Société ACRI).

Communication orales de vulgarisation

Mangialajo L. & Lemée R. (2008). Le développement de l'algue toxique *Ostreopsis* cf. *ovata* en Méditerranée. Conférence Aquascience, Faculté des Sciences de Nice, Parc Valrose, novembre 2008.

Lemée R. (2009). Le développement de l'algue toxique *Ostreopsis* cf. *ovata* en Méditerranée. Septième Journée Mondiale des Océans 2009, le 8 juin 2009, Musée Océanographique de Monaco, Monaco.

AUTRES ACTIONS VERS LES MEDIAS

Actions vers les médias (interviews...) effectuées

Les relations avec les médias (presse, audio-visuel) ont été très nombreuses, principalement en période estivale. Nous avons participé à plusieurs reportages de la télévision française (France 2, France 3, TF1, Arte), de différentes radios et de plusieurs grands journaux régionaux ou nationaux. Plus de 300 articles de presse, parus de 2005 à 2009 et traitant d'*Ostreopsis*, ont été recensés par la CCI dans le cadre de sa veille internet sur le sujet. Les références de ces articles sont disponibles sur le site internet du projet MediOs 2.

ENSEIGNEMENT - FORMATION

Enseignements dispensés

La problématique *Ostreopsis* a été largement évoquée dans la carte du Master de Sciences et Techniques de l'Université de Paris VI, Spécialité Océanologie Biologique et Environnement Marin, en première année (UE de Structure et Fonctionnement des Ecosystèmes Marins sur le campus Jussieu) et en seconde année (UE de Contaminants Chimiques, Observatoire de Villefranche), lors de plusieurs cours sur les espèces introduites et les pollutions biologiques. Le but est bien sûr de sensibiliser les futurs chercheurs et gestionnaires en océanographie à la problématique *Ostreopsis* et à les former la reconnaissance de la microalgue afin qu'ils puissent potentiellement déclarer de nouvelles zones de prolifération.

Formation de stagiaires

L'ensemble des partenaires MediOs a formé un nombre important d'étudiants de tous niveaux dans le cadre de ce projet. La liste de ces étudiants est présentée ci-dessous, en fonction du lieu du stage avec leur niveau, leur université d'origine et la durée du stage. Les noms soulignés correspondent à des stagiaires de longues durées en 5^{ème} année de formation universitaire. Les rapports de ces stagiaires sont disponibles sur le site internet du projet MediOs2.

Stages ECOMERS-Université de Nice-Sophia Antipolis (UNS) :

Stéphanie Cohu, Master 2 UNS, de janvier à juin 2008 (co-direction avec LOV)

Andrea Niro, Licence 3 UNS, d'avril à juin 2009

Antonin Dahoui, Licence 3 UNS, d'avril à juin 2009

Pauline Henry, Licence 3 UNS, d'avril à juin 2009

Camille Brissac, Licence 3 UNS, de juin à juillet 2009

Stages Ifremer (Toulon ou Nantes) :

Julien Sgheiz, Stage Master 2 Université de la Méditerranée, février-septembre 2009

Jean Briec Lebehel-Peron, IUT, La Roche sur Yon, mai-juin 2009

Nicolas Dessevres, IUT, Nantes, juin 2009

Stages Laboratoires d'Océanographie de Villefranche-Université de Paris VI :

Stéphanie Cohu, Master 2 UNS, de janvier à juin 2008 (co-direction avec ECOMERS)

Marine Cloza, Licence 3 UNS, juin 2008

Cindy Cornet, Licence 3 UNS, juin et août 2008

Ana Fodora, Master 2 de l'Université de Belgrade (Serbie), avril 2008.

Auréli Garnier, BTS, avril à juin 2009

Euriell Bertaud du Chazaud, BTSA ANABIOTEC, juin à août 2009

Marianne Duncombe, Institut Polytechnique La Salle Beauvais, juillet-août 2009

Cléa Bauvais, Licence 3 Paris VI, août 2009

Agnès Enjalric, Ecole d'Ingénieur en génie biologique à l'Université Technologique de Compiègne (UTC), de septembre 2009-février 2010.

Stage à la CCI de Nice :

Alice de Forge de Parny, Master 2 UNS, d'avril à septembre 2009

Nous n'oublions pas les 16 étudiants du Master MDP (Management de Projet) de l'UNS à Sophia Antipolis qui ont travaillé plusieurs mois en collaboration sur la problématique *Ostreopsis* et dont le rapport est disponible sur le site internet du projet MediOs 2

EXPERTISES

Par expertises, nous entendons ici la participation des membres de MediOs 2 à des "groupes de travail" nationaux ou internationaux ou des réunions organisées de façon exceptionnelle par les autorités compétentes.

A) Communications lors de la réunion " Bilan de la surveillance *Ostreopsis* 2008. Projets de recherche et perspectives 2009" du 19 septembre 2008 à Marseille, organisée par la DRASS CireSud et la Ville de Marseille :

- Caractéristiques écologiques d'*Ostreopsis ovata* en Méditerranée. Lemée et al.

- Résultats de la surveillance d'*Ostreopsis* dans le cadre de MediOs pour les Alpes-Maritimes, Monaco et Fréjus St Raphaël. Lemée et al.
- MediOs 2 : description du projet, état d'avancement, influence des méthodes de prélèvement. Lemée et al.
- Effets toxiques d'*Ostreopsis* sur la faune. Mangialajo et al.

B) Communications lors de la réunion du 26 novembre 2008 au Ministère de la Santé, Paris, organisée par la Direction Générale de la Santé :

- Estimation de l'abondance d'*Ostreopsis* spp. : avantages et inconvénients des différentes méthodes. Lemée R.
- Le projet MediOs 2. Lemée R.
- Présentation d'un projet de Recherche et suivi du développement des dinoflagellés toxiques du genre *Ostreopsis* dans une zone pilote (Alpes-Maritimes) pour la période estivale 2009. Lemée R.

C) Participation régulière de Hubert Grossel et Rodolphe Lemée aux réunions du groupe de travail « Connaissance et gestion de la qualité des eaux des milieux marin et côtier » de l'accord international RAMOGE, dont le secrétariat est basé à Monaco. Même si ces deux chercheurs font parti de MediOs 2, c'est en tant que représentant de leur structure d'origine (respectivement Ifremer Toulon et Observatoire Océanologique de Villefranche) qu'ils participent à ce groupe de travail. Néanmoins, la problématique *Ostreopsis* étant très souvent évoquée dans ce groupe de travail, leur expertise à travers le projet de recherche est la bienvenue. C'est dans ce cadre qu'une réunion internationale a été organisée par RAMOGE le 22 janvier 2010 afin de réunir les gestionnaires et les responsables de la santé publique pour comparer les actions menées en France, à Monaco et en Italie. C'est également dans ce cadre qu'une demande de financement est déposé à RAMOGE dans le but d'inviter des chercheurs et des gestionnaires lors du Congrès International ICOD (cf. ci-dessous).

Communications des membres de MediOs 2 lors de la réunion internationale du 22 janvier 2010 à Monaco :

- Ouverture de la réunion avec une introduction sur la problématique *Ostreopsis* en Méditerranée et une présentation des recommandations du projet MediOs 2 aux gestionnaires. R. Lemée
- Le suivi environnemental d'*Ostreopsis* en France. H. Grossel.

METHODOLOGIES (GUIDES...)

Méthodologies produites : divers documents internes produits pour et par l'Ifremer, ainsi qu'un guide pratique pour les comptages et les prélèvements en relation avec la problématique *Ostreopsis* dans les annexes de la Note de Service du Ministère de la Santé et des Sports n° DGS/EA4/2009/196 du 07 juillet 2009 (document Ifremer)

AUTRES

Prix Alain Vatrican, décerné en 2009 par l'Accord International RAMOGE à Stéphanie Cohu (thèse Nice-Villefranche) pour son travail et ses projets en relations avec *Ostreopsis*.

RESUMES

En français

RESUME

Le projet pluridisciplinaire Medios 2 (Méditerranée *Ostreopsis*) avait pour objectif principal de rassembler et acquérir des connaissances scientifiques pertinentes concernant le développement des espèces du genre *Ostreopsis* (microalgues benthiques toxiques) en Méditerranée, dans des domaines aussi différents que ceux de l'écologie, la biologie, la chimie, l'épidémiologie ou les aspects socio-économiques. Ces connaissances ont été diffusées afin d'être un support d'aide à la décision pour les gestionnaires et les décideurs. Les résultats obtenus ont permis de faire des recommandations concernant la gestion du risque, avec des suggestions pour optimiser la surveillance environnementale, mettre en place une surveillance du risque alimentaire et structurer les actions au niveau national.

MediOs 2 a également parfaitement joué son rôle de projet « pilote », avec une prise de conscience de la problématique *Ostreopsis* et une dynamique dans la proposition de nouveaux projets, aussi bien au niveau national qu'au niveau international.

MOTS CLES : OSTREOPSIS, MICROALGUES TOXIQUES, MEDITERRANEE, RISQUES SANITAIRES

In English

ABSTRACT

The main goal of the multidisciplinary project MediOs 2 (Mediterranean *Ostreopsis*) was to acquire and analyze pertinent scientific knowledge in areas as diverse as ecology, biology, chemistry, epidemiology or socio-economic concerning the occurrence of species of the genus *Ostreopsis* (toxic benthic microalgae) in the Mediterranean. This knowledge was integrated and distributed to provide a decision-making support for administrative action. Results obtained thus allowed science-based recommendations concerning the management of risk, with suggestions to optimize environmental surveys, to initiate a food risk survey and to structure actions at the national level.

MediOs 2 also perfectly played its role of "pilot" project, building awareness of the *Ostreopsis* problem and creating dynamics in the proposition of new projects, at national and international levels.

KEY WORDS: OSTREOPSIS, TOXIC MICROALGAE, MEDITERRANEAN, HEALTH RISK

RAPPORT SCIENTIFIQUE

Le développement des dinoflagellés toxiques du genre *Ostreopsis* sur le littoral de la Méditerranée nord occidentale : mise en évidence des zones à risque et première évaluation des impacts écologiques, sanitaires et socio-économiques

PROGRAMME LITEAU III

MEDIOS 2

Nom du responsable scientifique du projet : Rodolphe Lemée

Noms des autres partenaires scientifiques bénéficiaires :

CNRS, Villefranche-sur-mer et Roscoff*

A Blanfuné ; Ecologie marine et diversité des microalgues benthiques

S Cohu (LOV et ECOMERS) ; Ecologie et impact d'*Ostreopsis* spp.

S Gasparini ; Analyses numériques

L Guidi-Guivard ; Ecologie de la méiofaune (impacts sur la méiofaune)

R Lemée ; Ecologie/diversité des producteurs primaires marins (écologie *in situ*, génétique),

S Marro ; Diversité et dénombrement des microbes marins,

ML Pedrotti ; Ecologie/diversité microbienne (impacts sur les bactéries)

N Simon ; Diversité des microalgues marines (étude génétique)

**Villefranche (LOV UMR 7093) et Roscoff (AD2M UMR 7144)*

Université de Nice Sophia-Antipolis, EA 4228 ECOMERS, Nice

S Cohu (ECOMERS et LOV) ; Ecologie et impact d'*Ostreopsis* spp.

L Mangialajo ; Ecologie/diversité du benthos (écologie *in situ*, impact sur les macroherbivores)

T Thibaut ; Ecologie/diversité du benthos (écologie *in situ*, impact sur les macroherbivores)

IFREMER, Toulon, Nantes et Concarneau

Z. Amzil, V. Séchet, M. Sibat, F. Royer (*EMP/PHYC*, Nantes) : culture de microalgues et caractérisation des biotoxines.

N Ganzin, H Grossel, R Kantin, D Sauzade, J Scheiz, (*LER / PAC*, Toulon) ; Ecosystèmes marins, liens Rephy et *Ostreopsis* / Ville de Marseille).

E Nezan, et N Chomerat, (*LER / FBN*, Concarneau) ; Systématique et Diversité des microalgues (études morphologiques et génétiques)

CHU Nice, Département de Santé Publique

F le Duff ; Santé publique (étude épidémiologique)

D Koenig ; Santé publique (étude épidémiologique)

Chambre de Commerce et d'Industrie de Nice

A De Forges de Parny ; Etudiante en Master Communication-Environnement

L Hoareau ; Etudes économiques (études socio-économiques)

O Soliveres ; Chef du Département Etudes Economiques SIRIUS (études socio-économiques)

Plan du rapport scientifique

- 1) Introduction
 - 1-1) Mise en place du Consortium
 - 1-2) Soutiens au projet MediOs 2
 - 1-3) Séminaires et Comités de Pilotage du projet
 - 1-4) Rôles des différents partenaires
- 2) Ecologie d'*Ostreopsis cf. ovata* en Méditerranée
 - 2-1) Etudes à grandes échelles spatiale et temporelle, entre Cassis et Gênes en 2008
 - 2-2) Etudes à petites échelles spatiale et temporelle, Baie de Villefranche en 2009
 - 2-3) Essais de caractérisation environnementale de l'apparition et de la mise en suspension d'*Ostreopsis* à l'aide de données spatialisées
- 3) Isolement de cellules d'*Ostreopsis cf. ovata*, mise en culture et activité photosynthétique
- 4) Caractérisation moléculaire d'*Ostreopsis cf. ovata* de Méditerranée.
- 5) Impacts d'*Ostreopsis* spp. sur la faune
 - 5-1) Impacts sur les macroherbivores
 - 5-2) Impacts sur la méiofaune
- 6) Formation d'agrégat par *Ostreopsis cf. ovata* et interaction avec les bactéries.
- 7) Les métabolites secondaires d' *Ostreopsis cf. ovata*
 - 7-1) Profils toxiques des souches de Méditerranée
 - 7-2) Concentration des métabolites dans la chaîne alimentaire
- 8) Etude épidémiologique rétrospective d'*Ostreopsis cf. ovata*
- 9) Impact économique d'*Ostreopsis* spp. en Méditerranée NO
- 10) Interaction des partenaires MediOs 2 avec les gestionnaires
 - 10-1) Les Comités de Pilotage du projet
 - 10-2) Implication dans le processus de surveillance français
 - 10-3) Participation aux réunions organisées par le Ministère de la Santé
 - 10-4) Interactions avec les gestionnaires au niveau international
 - 10-5) La multiplication des acteurs impliqués
- 11) Diffusion des connaissances
 - 11-1) Le site internet MediOs 2
 - 11-2) Publications et congrès
 - 11-2) ICOD : le Congrès International sur *Ostreopsis*
- 12) Conclusions et perspectives

1) Introduction

Ce document est le rapport scientifique final du projet de recherche pluridisciplinaire MediOs 2 intitulé « Le développement des dinoflagellés toxiques du genre *Ostreopsis* sur le littoral de la Méditerranée nord occidentale : mise en évidence des zones à risque et première évaluation des impacts écologiques, sanitaires et socio-économiques ». Ce document est complémentaire de la synthèse de 10 pages destinés aux gestionnaires. Comme annoncé dans le projet déposé au Ministère de l'Ecologie, "la durée initiale du projet était de 24 mois. A la demande du MEDD, cette durée est portée à 36 mois, afin de s'aligner avec les autres projets financés par ce Ministère. Il est néanmoins convenu que le rapport final sera fourni au bout de 24 mois et que la dernière année sera consacrée à la rédaction de publications scientifiques".

1-1) Mise en place du Consortium

Le projet MediOs 2 est financé par trois partenaires (Conseil Général des Alpes-Maritimes, MEEDDM et Agence de l'Eau RMC). Comme deux des trois partenaires traitent uniquement avec le CNRS pour le financement global du projet (Conseil Général et Agence de l'Eau) et que chaque financeur a son propre échéancier, la Délégation Régionale 20 du CNRS (basée à Sophia-Antipolis) a décidé de mettre en place un Consortium pour formaliser la redistribution du budget. Le projet a officiellement débuté le 6 janvier 2008 lors de la tenue du premier séminaire de recherche, à l'Observatoire Océanologique de Villefranche-sur-Mer. Le Consortium a été signé durant l'été 2008 par tous les partenaires scientifiques, le retard étant lié à des problèmes administratifs. Un avenant à ce Consortium a été signé en automne 2008 pour formaliser l'aide de l'Agence de l'Eau qui n'a été officiellement notifiée au responsable du projet que durant l'été 2008. Le Consortium et son avenant sont disponibles sur le site internet MediOs 2.

1-2) Soutiens au projet MediOs 2

Le projet MediOs 2 a été le premier projet de recherche soutenu par le CIMEDD (Collège Interdisciplinaire Méditerranéen de l'Environnement et du Développement Durable) de l'Université de Nice-Sophia Antipolis, précurseur du PRES "Université Euro-Méditerranéen" (Pôle de Recherche et d'Enseignement Supérieur), regroupant les Universités de Corse, de Gênes, de Nice-Sophia Antipolis, Pierre et Marie Curie, du Sud Toulon-Var et de Turin. Le Président de l'Université de Nice-Sophia Antipolis a confirmé son intérêt pour la recherche sur *Ostreopsis* via l'attribution d'une bourse doctorale accordée à Stéphanie Cohu pour une thèse en co-direction entre ECOMERS (Nice) et le LOV (Villefranche).

Dans le cadre du projet MediOs 2, nous avons annoncé une collaboration active entre l'Observatoire Océanologique de Villefranche et l'Université de Gênes. Cette collaboration s'est concrétisée par (1) un site d'étude commun (Gênes), (2) une implication de l'Observatoire de Villefranche dans le projet PRIN (équivalent ANR en Italie) intitulé « Marine Biotoxins in Italian Coastal Waters : characteristic, origins, actions » et (3) l'obtention d'un financement transfrontalier dans le cadre de l'Accord Egide-Galilée (Ministère des Affaires Etrangères) pour faciliter les échanges entre les 2 organismes en 2008.

La communication et la gestion de crise sont au cœur de la problématique *Ostreopsis*. A la demande d'ECOMERS (Nice) et du LOV (Villefranche), les 16 étudiants du Master Management De Projets de l'Ecole Polytechnique de l'Université de Nice-Sophia Antipolis (promotion 2007-2008) ont réalisé leur projet collaboratif sur les réseaux d'alerte et la gestion du risque en relation avec le développement d'*Ostreopsis* en Méditerranée. Ils ont rédigé un rapport qui présente la cartographie du réseau d'alerte en France, en le comparant aux réseaux

d'Italie, d'Espagne et de Monaco. Ils ont également fourni un cahier des charges pour la mise en place d'une structure de gestion des risques et ont enfin travaillé sur la communication associée au développement de la microalgue toxique. Ce rapport est téléchargeable sur le site internet de MediOs 2. Le travail réalisé par ces étudiants en cinquième année d'université est très conséquent ; il peut paraître maintenant dépassé et hétérogène dans la qualité et la pertinence des différents chapitres, mais ce rapport a permis de faire un bilan à un moment où les processus de surveillance et de gestion de crise n'étaient pas encore établis comme aujourd'hui. Il a en cela été très utile aux partenaires du projet MediOs 2.

1-3) Séminaires et Comités de Pilotage du projet

Dans le cadre du projet, 4 séminaires de programme ont déjà eu lieu entre tous les partenaires (2 en 2008 et 2 en 2009, avant et après chaque saison estivale, période la plus propice à la prolifération d'*Ostreopsis cf. ovata*). L'ensemble des présentations est disponible sur le site internet du projet. Ces séminaires ont permis de suivre l'état d'avancement des travaux de chaque partenaire, de finaliser les collaborations et de prévoir les séjours des chercheurs qui viennent mettre en place du matériel ou récolter des organismes. Ils ont également permis d'informer la Chambre de Commerce et le CHU sur la localisation des sites contaminés par *Ostreopsis cf. ovata* afin de cibler les études d'impacts sanitaires et socio-économiques. Lors du second séminaire de 2008, nous avons invité nos collègues italiens pour échanger nos connaissances sur l'écologie et le mode de gestion de la microalgue.

Concernant les échanges entre les partenaires du projet et les décideurs et gestionnaires, le Conseil Général des Alpes-Maritimes a organisé deux Comités de Pilotage, dont le rôle était de discuter de la pertinence des expériences prévues, de transmettre rapidement les résultats obtenus et de faire des recommandations pour l'action publique (l'interaction avec les gestionnaires est plus largement discutée dans le chapitre 10 de ce document).

1-4) Rôles des différents partenaires

Les spécialités des différentes partenaires du projet MediOs 2 sont spécifiées ci-dessous :

- Aspects écologique, toxicologique et chimique : Laboratoire d'Océanographie de Villefranche, CNRS UMR 7093 (LOV), ECOMERS, Université de Nice-Sophia Antipolis, Ifremer : Laboratoire de Nantes et Toulon
- Aspects morphogénétiques : Station Biologique de Roscoff, LOV, Ifremer : Laboratoire de Concarneau
- Aspects épidémiologiques : CHU de Nice, Département de Santé Publique
- Aspects socio-économiques : CCI Nice, Département des études économiques
- Aspects aide à la décision, gestion
 - Tous les partenaires
 - Comité de pilotage (présidé par le Conseil Général 06)
 - Implication du Master Management de Projet (cf. ci-dessus)

2) Ecologie d'*Ostreopsis cf. ovata* en Méditerranée

Les études écologiques prévues dans le projet ont été entièrement réalisées. La stratégie d'échantillonnage a été modifiée lors de la seconde année du projet en tenant compte des résultats de la première année et pour pouvoir répondre à d'autres questions, en particulier celles liées à une meilleure compréhension du passage de la phase benthique à la phase pélagique des microalgues toxiques.

Les résultats préliminaires sur l'effet de la pollution, via le suivi de l'abondance d'*Ostreopsis cf. ovata* de part et d'autre de 2 émissaires (égouts urbains), que nous avons présenté lors du second Comité de Pilotage, ne sont pas repris dans ce rapport. Nous souhaitons en effet confirmer ou infirmer nos résultats par une ou plusieurs campagnes d'échantillonnage durant l'été 2010. Ces travaux pourraient en effet avoir un impact important au niveau de la gestion de la problématique *Ostreopsis*. Il faut également noter que cette étude n'était pas initialement prévue dans le projet.

Les stratégies d'échantillonnages sont présentées dans le document ci-dessous, contrairement aux méthodes de récolte, de séparation micro/macro-algues et de comptage. Ces méthodes sont disponibles dans plusieurs présentations réalisées lors de séminaires et téléchargeables sur le site internet du projet. Elles seront bien sûr largement explicitées dans les publications issues de nos études.

L'utilisation des données spatialisées pour étudier le développement d'*Ostreopsis* n'était pas initialement prévue dans le projet MediOs 2. C'est une idée originale du Laboratoire Ifremer de Toulon. L'association de ces données avec les résultats obtenus *in situ* dans différents projets, dont MediOs 2, permet de mieux comprendre la dynamique du développement de l'algue toxique dans différentes zones de la région Ligure.

2-1) Etudes à grandes échelles spatiale et temporelle, entre Cassis et Gênes en 2008

Durant l'été 2008, les études d'écologie *in situ* ont pris la forme d'un suivi à grande échelle spatiale et temporelle de 6 sites, situés à Cassis, Ramatuelle, Saint-Raphaël, Nice, Villefranche et Gênes (Fig. 1). Ces sites ont été choisis en fonction (1) des caractéristiques des vents dominants (diversités, fréquences, intensités), (2) du mode (calme, battu, intermédiaire), (3) du substrat (naturel/artificiel) et (4) de l'urbanisation.

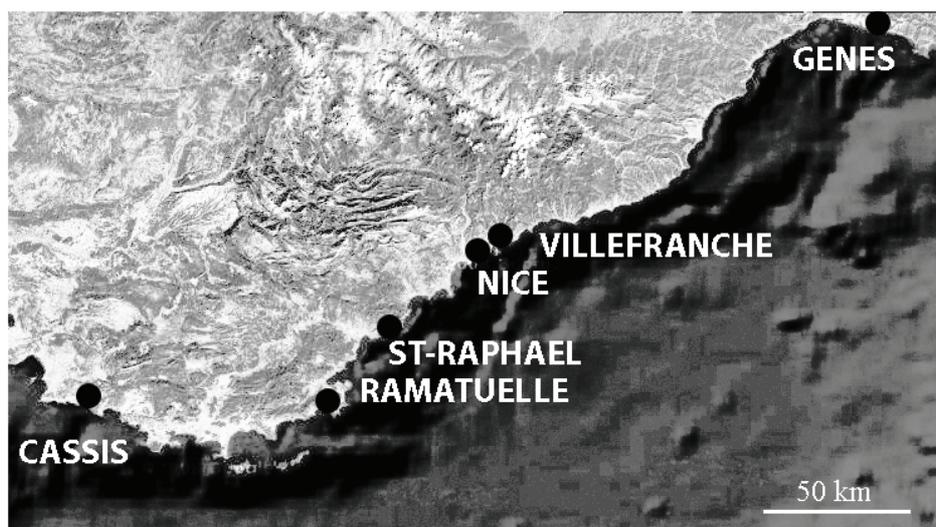


Figure 1 : Sites étudiés en 2008

Sept séries de prélèvements ont été réalisées sur chacun des sites (mars, mai, juin, début et fin juillet, août et automne 2009). A chaque site, des prélèvements de macroalgues (3 espèces différentes : *Stypocaulon scoparium*, *Corallina elongata*, *Dictyota* spp.) et d'eau ont été réalisés au niveau de 3 stations (distantes d'environ 10 m) et à 3 profondeurs différentes (0,5 m, 1 m, 3 m). Parallèlement à ces récoltes, qui permettent d'évaluer l'abondance d'*Ostreopsis* spp. sur les macroalgues et dans l'eau, nous avons effectué de nombreux autres prélèvements pour mesurer les concentrations en sels nutritifs, en pigments, en abondance bactérienne, et les caractéristiques de l'eau de mer (oxygène, température). En plus de l'abondance d'*Ostreopsis* cf. *ovata*, nous avons quantifié l'abondance des différentes espèces de dinoflagellés toxiques pour tous les échantillons de 0,5 et 1 m et l'abondance la microflore pour les échantillons de *Stypocaulon scoparium* et d'eau. C'est ainsi que plus de 1 500 échantillons naturels ont été analysés au microscope.

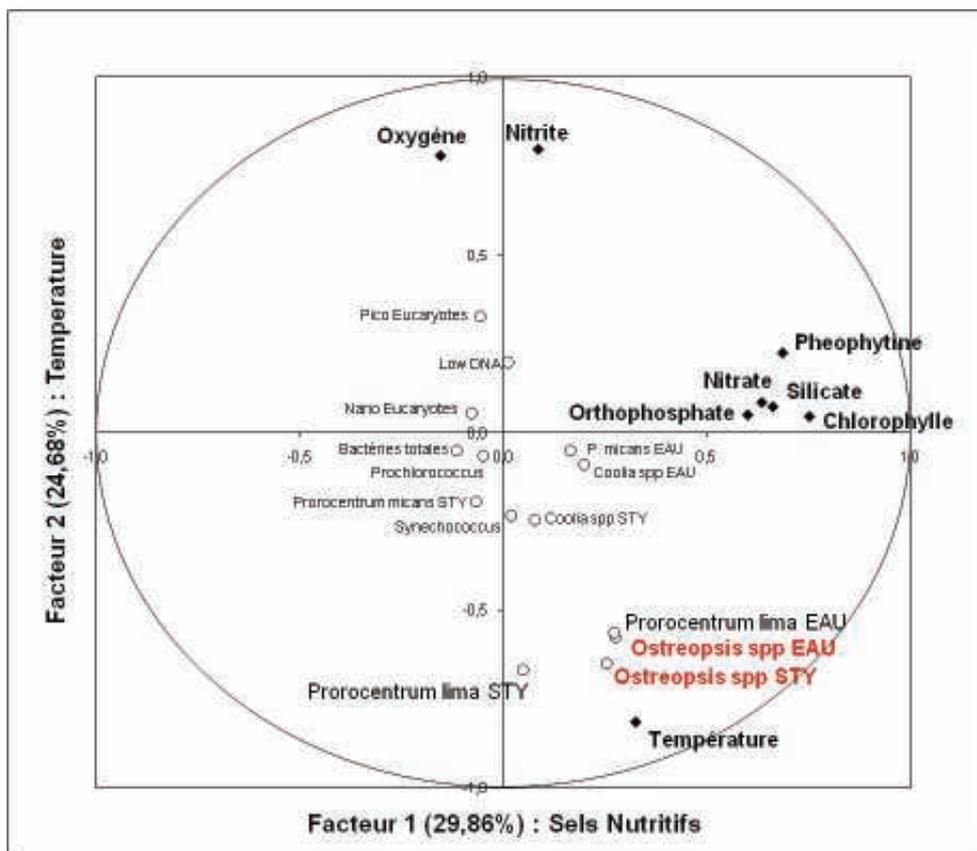


Figure 2 : Analyse en Composantes Principales (ACP) de l'étude écologique réalisée en 2008 entre Cassis et Gênes. Les données environnementales sont des variables actives et les abondances des espèces de dinoflagellés toxiques sont des variables illustratives.

Les résultats de cette étude ont permis de mettre en évidence des différences significatives de quantité d'*Ostreopsis* en fonction des sites (Gênes > Nice = Villefranche > Saint-Raphaël = Ramatuelle = Cassis) et du temps (mars = mai < juin < début juillet < fin juillet > août > novembre). En ce qui concerne la profondeur, nous avons pu mettre en évidence, au moins pour certains sites, que la profondeur la plus favorable au développement d'*Ostreopsis* cf. *ovata* est la plus superficielle (- 0,5 m > - 1 m = - 3 m). Concernant le substrat, nous avons pu remarquer des différences entre les trois espèces d'algues

sélectionnées, mais de façon très variable en fonction des dates. C'est pourquoi nous avons prévu une étude spécifique pour 2009 (voir plus bas).

L'analyse des variables environnementales a permis de mettre en évidence certains facteurs qui pourraient être déterminants pour le développement d'*Ostreopsis cf. ovata*. La figure 2 présente l'Analyse en Composantes Principales (ACP) sur la totalité des données. Cette analyse permet de mettre en évidence que la concentration en *Ostreopsis cf. ovata* dans le milieu est corrélée premièrement avec la température, puis avec les sels nutritifs. Une analyse plus poussée (projection des stations dans le plan factoriel) montre que si l'un des 2 paramètres (température ou concentration en sels nutritifs) est trop faible, le développement d'*Ostreopsis cf. ovata* est relativement peu important. Parmi les autres dinoflagellés toxiques, seul *Prorocentrum lima* présente des préférences écologiques similaires. La quantification de la microflore totale a permis de mettre en évidence que l'abondance numérique des diatomées pennales est toujours plus importante que celle des dinoflagellés, que ce soit en cellules épiphytes ou planctoniques (mais ces diatomées étant de petite taille, cette tendance pourrait s'inverser en terme de biovolume). La quantification des espèces de dinoflagellés toxiques a permis de mettre en évidence que (1) *Ostreopsis cf. ovata* est toujours l'espèce la plus abondante, (2) des successions d'espèces existent et qu'elles sont différentes en fonction des sites fortement ou peu impactés par *Ostreopsis cf. ovata*.

2-2) Etudes à petites échelles spatiale et temporelle, Baie de Villefranche en 2009

Suite aux études à grandes échelles spatiale et temporelle de 2008 qui ont mis en évidence l'effet important de la température et des sels nutritifs sur le développement d'*Ostreopsis cf. ovata*, nous souhaitons mieux connaître les variations d'abondance de cette microalgue (1) à court et moyen termes dans l'eau et sur les macroalgues, (2) à différentes échelles spatiales (du mètre au kilomètre), (3) en fonction du substrat et (4) en fonction de l'hydrodynamisme.



Figure 3 : Sites étudiés en 2009. Le site Rochambeau est soumis aux vents d'est, le site Lido aux vents d'ouest. Le site Marinières, situé en fond de baie, est le plus calme.

La stratégie choisie a donc été de suivre pendant un an 3 sites relativement proches (pour avoir la même "masse d'eau"), mais soumis à 3 orientations différentes par rapport aux

vents dominants. Pour ce faire, nous nous sommes focalisés sur 3 sites dans la rade de Villefranche, comme illustré en figure 3.

Suivi annuel. Des prélèvements ont été effectués à différentes fréquences en fonction de l'abondance de la microalgue (de tous les mois en hiver à tous les jours en période estivale) au niveau des 3 sites, dans l'eau et sur les macroalgues, avec 3 réplicats par sites (plus de 1596 échantillons). Ce suivi annuel a permis de mettre en évidence la présence de l'espèce toxique tout au long de l'année, avec un développement plus important en période estivale. La relation entre la quantité d'*Ostreopsis* et la température de l'eau de mer est évidente si l'on se place au niveau des variations annuelles ; en période estivale, la relation semble indirecte (décalage dans les diminutions de l'abondance de *Ostreopsis* cf. *ovata*). On peut supposer que les diminutions de température sont liées à l'agitation de la mer et que l'hydrodynamisme joue un rôle primaire dans la régulation des efflorescences.

Sur les 3 sites, seul le Lido ne présente pas d'efflorescence importante d'*Ostreopsis*. Les 2 autres sites sont le siège de proliférations de la microalgue, avec des variations de concentrations très importante, aussi bien au niveau des sous-sites que d'un jour à l'autre.

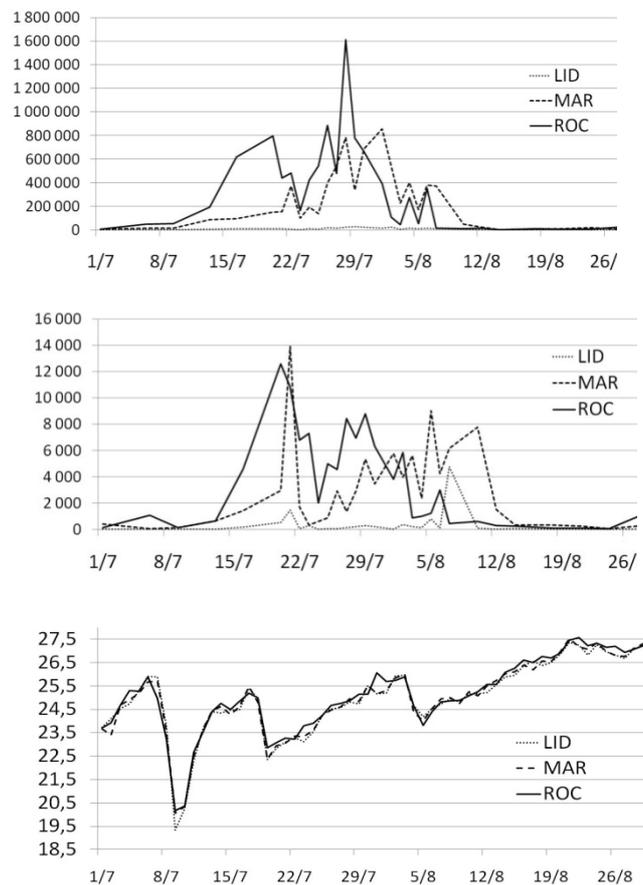


Figure 4 : Abondance d'*Ostreopsis* cf. *ovata* (cell/g poids frais de macroalgue, en haut) épiphyte sur *Stypocaulon scoparium* et dans la colonne d'eau (cell/l, au milieu) et température moyenne journalière de l'eau de mer (° C, en bas) en juillet et août 2009 au niveau des 3 sites dans la Baie de Villefranche-sur-mer.

Nous attendons les résultats des mesures de sels nutritifs (prévu début 2010) afin de voir s'ils permettent d'expliquer les variations de concentrations d'*Ostreopsis*, car les 3 sites présentent les mêmes variations de températures estivales.

Variation nycthémerale : Suite aux résultats obtenus lors du suivi annuel, en particulier concernant les grandes variations spatiales et temporelles, nous avons étudié la variation journalière du développement de *Ostreopsis* cf. *ovata*. Cette étude a été menée au site des Marinières, par un échantillonnage régulier (toutes les 4 heures sur 72 heures), entre le 21 juillet à 20h00 et le 24 juillet 2009 à 16h00. Les résultats ont permis de mettre en évidence une grande variabilité temporelle, aussi bien au niveau des cellules épiphytes que des cellules planctoniques (Fig. 5). En une journée, la quantité de cellules épiphytes peut varier de 50 000 à plus de 400 000 cellules/gPF de macroalgue.

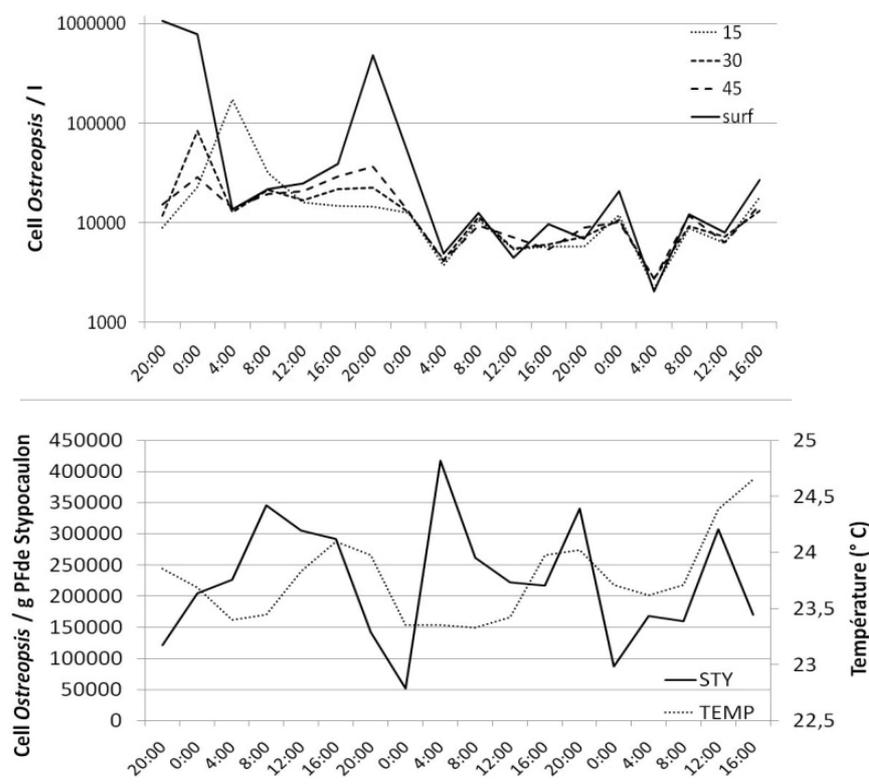


Figure 5 : Abondance d'*Ostreopsis* cfr. *ovata* dans la colonne d'eau à 15 cm, 30 cm, 45 cm du fond et en surface (en haut) ; abondance d'*Ostreopsis* cfr. *ovata* épiphyte sur *Stypocaulon scoparium* et température de l'eau de mer (en bas). Les barres d'erreur ne sont pas présentées pour faciliter la lecture des graphes, mais chaque mesure est réalisée en triplicat et des différences significatives existent, surtout durant les premières 24 heures de l'expérience.

Dans l'eau, les variations sont encore plus importantes. Le premier cycle met en évidence un stock benthique plus important en milieu de journée et plus faible la nuit. C'est l'inverse pour les cellules planctoniques, dont les concentrations sont plus importantes en fin de journée. Lors de la seconde journée, nous avons observé un hydrodynamisme plus important (présence de houle venant du large) qui a probablement déstructuré la colonne d'eau et décroché plus facilement les microalgues épiphytes. Nous espérons pouvoir confirmer ce

fait via l'analyse des données d'un ADCP en place à quelques dizaines de mètres de la zone d'étude (analyse en cours).

Notre hypothèse est la suivante : les microalgues se divisent sur les macroalgues en fin de nuit et en début de journée. Les microalgues se décrochent ensuite et migrent vers la surface où elles sont très abondantes en fin de journée. Le décrochage et la migration peuvent être "passif" (hypothèse : la forte production primaire induit la formation d'oxygène qui reste emprisonné dans les agrégats, formant des bulles qui détachent les cellules et les entraînent vers la surface) ou actif (migration dans un but de dispersion?). Les résultats de cette expérience ont des implications très importantes pour la mise en place d'un suivi environnemental optimisé (cf. synthèse destinée aux gestionnaires).

Variabilité spatiale

Pour mieux comprendre l'origine et l'amplitude de la variabilité spatiale de l'abondance de *Ostreopsis cf. ovata* planctonique et épiphyte, nous avons effectué une étude à différentes échelles spatiales (1 m, 10 m, 100 m, 1000 m) dans la rade de Villefranche. Les 3 sites étudiés lors du suivi (voir plus haut) ont été échantillonnés, le 17 juillet et le 6 août, de façon à pouvoir quantifier la variabilité associée aux différentes échelles spatiales considérées. A chaque site, distant environ d'1 km des autres, 3 sous-sites ont été choisis distants d'environ 100 m les uns des autres (appelés Nord, Centre et Sud) ; pour chaque sous-site, 3 stations ont été choisies, distantes d'environ 10 m, appelées A, B et C ; pour chaque station, 3 échantillons d'eau de mer et de *Stypocaulon scoparium* ont été échantillonnés à une distance d'un m chacun.

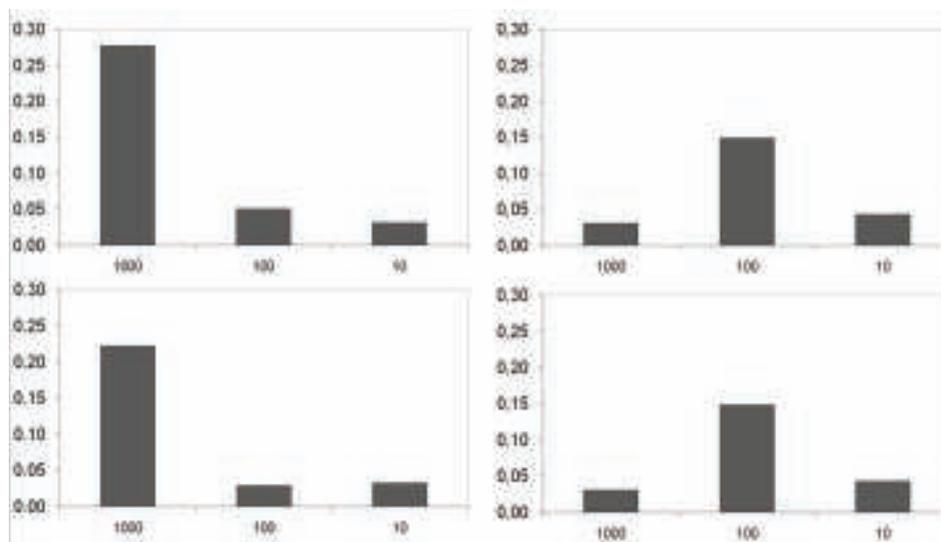


Figure 6 : Amplitude relative (par rapport à l'échelle de 1 m) de la variance associée aux échelles considérées : cellules planctoniques (en haut), cellules épiphytes (en bas), 17 juillet 2009 (à gauche), 6 août 2009 (à droite).

La variabilité la plus importante correspond, dans les deux échantillonnages, à la plus petite échelle spatiale (m, non illustrée). En général, la variabilité (amplitude relative des facteurs considérés) associée à l'abondance de cellules épiphytes et planctoniques est très fortement corrélée (Fig. 6). L'échantillonnage du 17 juillet, effectué pendant la phase croissante du bloom d'*Ostreopsis cf. ovata*, a permis de mettre en évidence une très haute variabilité à l'échelle du km, mais l'échantillonnage du 6 août, correspondant à la phase

descendante du bloom, a mis en évidence une variabilité plus importante à l'échelle de la centaine de mètres. Cette différence d'échelle de la variance relative pourrait être liée à la quantité de cellules, plus abondantes dans le premier échantillonnage.

Une dernière étude a porté sur l'analyse de la quantité d'*Ostreopsis cf. ovata* sur 14 espèces de macrophytes (13 macroalgues et la phanérogame marine *Posidonia oceanica*). Nos premiers résultats montrent que la plupart des macrophytes, dans un même site et à une même profondeur (0.5 m), portent une quantité relativement proche de cellules d'*Ostreopsis cf. ovata*. Seule l'algue verte *Acetabularia acetabulum* fait exception et semble pouvoir supporter une très grande quantité de microalgues toxiques. Tout comme les études en relation avec les la pollution, nous souhaitons réaliser d'autres expériences au cours de l'été 2010 pour confirmer ou infirmer nos résultats concernant les substrats biologiques.

2-3) Essais de caractérisation environnementale de l'apparition et de la mise en suspension d'*Ostreopsis cf. ovata* à l'aide de données spatialisées

Les données spatialisées, telles que l'imagerie satellite ou les sorties de modèle météorologique, ont des aspects pratiques intéressants pour tenter de caractériser les conditions environnementales de développement et de passage en suspension dans l'eau (voire dans l'air) d'*Ostreopsis cf. ovata*. Elles peuvent s'avérer très complémentaires des mesures de terrain du fait d'une couverture totale (par opposition aux mesures ponctuelles) et d'une résolution temporelle fine (données tous les jours, voire plusieurs fois par jour).

On s'est ainsi, en marge du projet MediOs 2, intéressé plus particulièrement à deux types de données : les températures de surface dérivées d'imagerie satellite (pour leur rôle dans le développement), et les vents (direction et vitesse), en sortie de modèle météorologique (pour leur rôle dans l'agitation de l'eau), à des résolutions de l'ordre du kilomètre. Un exemple d'image de température de surface par satellite est donné dans la figure 7, sous forme ici d'une moyenne saisonnière. Pour caractériser les conditions environnementales, on a tenté de relier ces deux variables aux événements connus d'apparition et mise en suspension d'*Ostreopsis cf. ovata* pour 10 stations en région Provence Alpes Côte d'Azur et en Ligurie (voir figure 7).

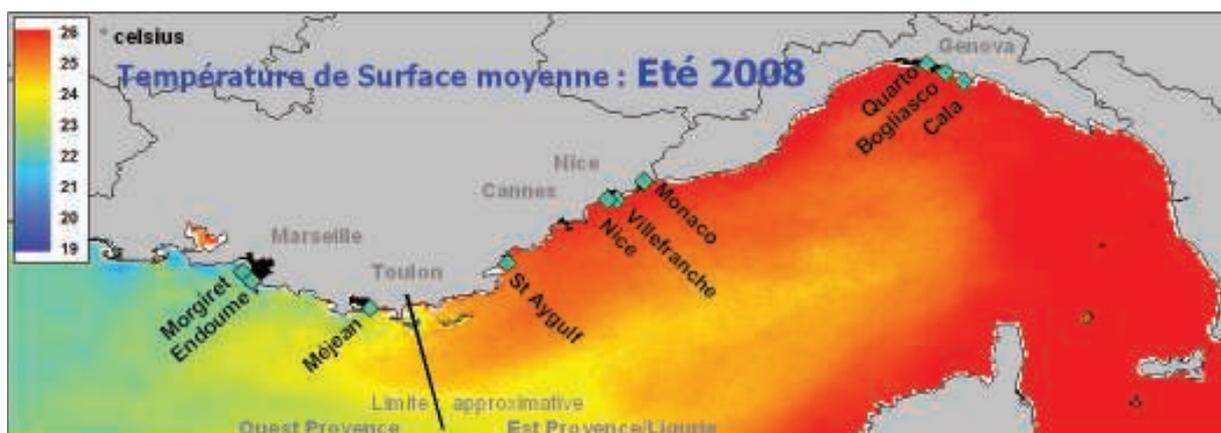


Figure 7 : Température de surface moyenne pour l'été 2008 (juin-juillet-août) dérivée d'imagerie satellite NOAA-AVHRR et localisation des 10 stations de référence de l'analyse.

L'analyse a été précédée par une étape de validation des données spatialisées de température et de vent. Leur comparaison à des données mesurées a donné de bons résultats, avec une bonne correspondance avec la réalité, malgré, dans le cas de la température de surface, le fait que la donnée ait été extraite des images à 1 km ou plus des côtes pour éviter

les interférences terrestres. Des profils de température et de vent ont ensuite été tracés pour chaque station et chaque saison estivale pour laquelle on disposait de données. Les données d'occurrences d'*Ostreopsis cf. ovata* (masse sur les macroalgues et nombre de cellules en suspension) ont ensuite été portées sur les profils pour tenter d'identifier des scénarii environnementaux caractéristiques du développement et du passage en suspension dans l'eau.

L'analyse a été faite en séparant deux zones caractérisées par des conditions a priori différentes (cf. figure 7) :

- une zone **Ouest-Provence**, assez ventée et aux eaux relativement froides, où les apparitions notables d'*Ostreopsis* sont plutôt tardives, vers mi-août ; dans ce cas, les profils de température très irréguliers (à cause des importants événements venteux) suggèrent une mise en suspension qui fait suite à une baisse rapide puis à une remontée rapide de la température de l'eau, bien que celle-ci reste à des niveaux relativement faibles (21 degrés) ;
- une zone **Est-Provence et Ligurie**, avec des eaux plus calmes et plus chaudes en moyenne, avec des développements plus précoces, vers mi-juillet ; les événements ne semblent pas liés à des épisodes d'agitation par le vent, et correspondent en général à des températures de l'eau élevées, de l'ordre de 24 degrés.

L'observation des profils ne permet pas de dégager des scénarii environnementaux précis mais suggère des pistes d'investigation pour affiner l'analyse grâce, par exemple, à une acquisition de données de terrain journalières pour vérifier certaines des observations, telles que le rôle des remontées de température dans la zone « Ouest-Provence ».

3) Isolement de cellules d'*Ostreopsis cf. ovata*, mise en culture et activité photosynthétique

L'isolement et le maintien en culture de souches françaises d'*Ostreopsis cf. ovata* était certainement un des objectifs les plus risqués du projet MediOS 2 (cf. le projet déposé). Les microalgues benthiques sont en effet plus difficiles à maintenir que les cellules planctoniques car elles nécessitent souvent des milieux de culture particuliers, des ajouts de matière organique en faible quantité et des flacons de culture avec des traitements de surface.

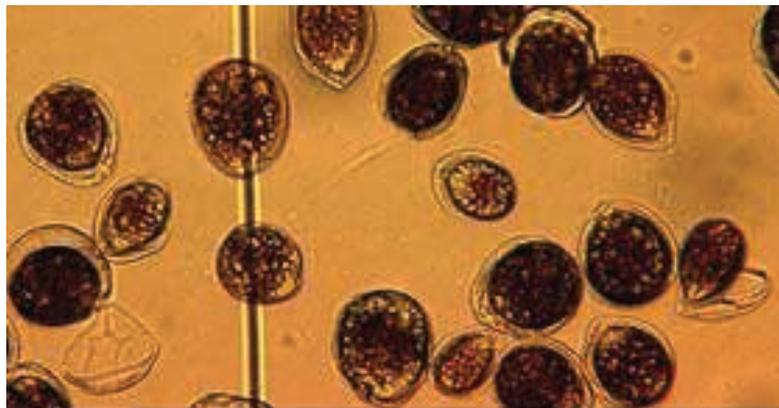


Figure 8 : Cellules d'*Ostreopsis cf. ovata* provenant d'une culture (fixation au lugol ; clone isolé à Villefranche-sur-mer ; taille des cellules d'environ 50 μm de long).

Malgré ces difficultés, des cultures monoclonales ont été obtenues dès 2008. A partir d'eau de mer et de macroalgues prélevées dans la calanque du Morgiret au Frioul (Marseille)

et dans la baie de Villefranche-sur-mer, des cellules d'*Ostreopsis cf. ovata* ont été isolées sur plaques de 96 puits puis mises en culture en eau de mer enrichie (milieux K et L1, Keller et al., 1987). Deux cultures monoclonales correspondant aux noms de code IFR-OST-0.1M pour la souche de Morgiret et IFR-OST-0.1V pour celle de Villefranche-sur-mer ont été sélectionnées.



Figure 9 : Culture d'*Ostreopsis cf. ovata* (IFR-OST- 0.1V) âgée de trois semaines.

Ces souches ont été cultivées dans des salles thermostatées à 16 et 22 °C, avec une photopériode de 17 heures de lumière et 7 heures d'obscurité, dans des flacons de culture corning® traités « culture cellulaire ». La croissance est restée très limitée à 16 °C alors que les cultures exposées à 22 °C se sont développées de façon satisfaisante, des amas cellulaires flottant en surface sont apparus à cette température plus élevée (Figure 9). Ce seuil de température *in vitro* indique une influence prépondérante de la température dans le déclenchement des efflorescences. Cela est confirmé par les études *in situ* où la température est le facteur principal trouvé par l'analyse en composantes principales.

Il est également important de noter que la morphologie des cellules d'*Ostreopsis cf. ovata* est différentes *in situ* et en culture. Il est par conséquent impossible de faire une identification fiable avec des critères morphologiques sur des cellules en culture.

Après avoir passé du temps à trouver les meilleures conditions de cultures de cette espèce (test de différents milieux et de différents flacons), un autre problème est apparu, lié au dénombrement cellulaire pour le suivi de la croissance. La répartition des cellules d'*Ostreopsis cf. ovata* n'étant pas homogène à cause de la sécrétion de mucus et la formation d'agrégats, le comptage à l'aide de cellule Nageotte s'est révélé délicat et peu reproductible. Le comptage se fait maintenant avec un compteur Coulter, après dissolution du mucus par acidification du milieu.

La dernière étape avant de passer à des plans expérimentaux factoriels était de mieux connaître les exigences de la microalgue concernant l'intensité lumineuse. L'évolution du taux de la photosynthèse et de la respiration en fonction de l'intensité de la lumière a été mesurée *in vitro* à 22 °C (Oxylab, Hansatech Instruments Ltd.). La figure 10 représente le taux de production d'oxygène par les cellules fixées ou se déplaçant sur le fond et celles immobilisées dans les amas flottants des cultures de Morgiret et de Villefranche-sur-mer en fonction de la densité du flux de photons. Les taux de production deviennent positifs pour des valeurs d'irradiance comprises entre 60 et 100 $\mu\text{mol}.\text{photons}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Par comparaison, le point de compensation mesuré pour l'algue de fourrage *Isochrysis galbana* est de 15 $\mu\text{mol}.\text{photons}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. La valeur de saturation n'est pas encore atteinte pour trois des quatre essais à la valeur de 400 $\mu\text{mol}.\text{photons}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Cette microalgue requière par conséquent des niveaux d'énergie lumineuse très élevés pour atteindre des densités importantes. Cette remarque est à mettre en relation avec le fait que la microalgue se développe *in situ* à très faible profondeur et de façon plus importante à 0.5 qu'à 1 et 3 m (cf. paragraphe Ecologie).

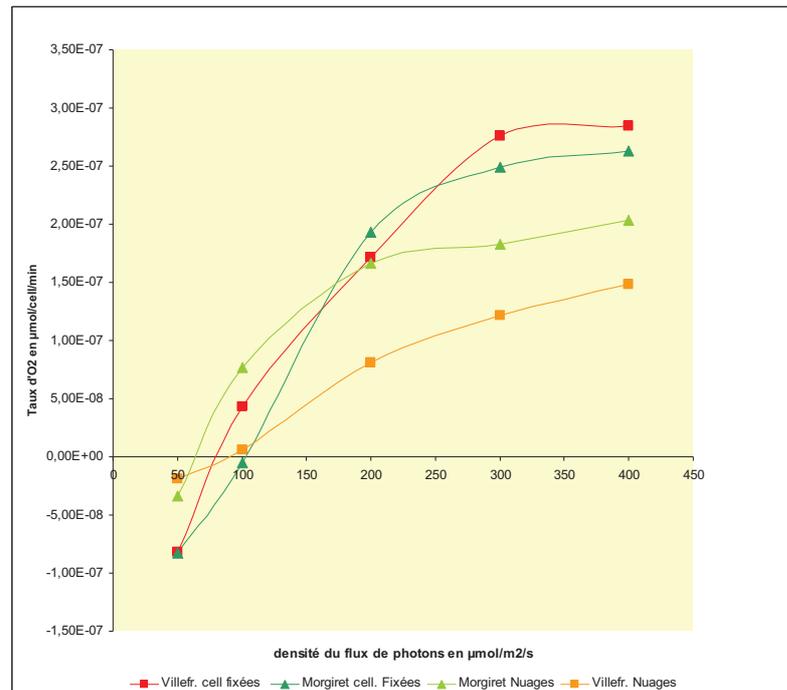


Figure 10 : Taux de production d’oxygène par les cellules d’*Ostreopsis cf. ovata* fixées ou se déplaçant sur le fond et celles immobilisées dans les amas flottants des cultures (nuages) de Morgiret et de Villefranche-sur-mer en fonction de la densité du flux de photons ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$).

Les conditions d'isolement, les milieux de cultures, les flacons, la quantité de lumière nécessaire à la bonne croissance des cellules d’*Ostreopsis cf. ovata* sont maintenant connus. Il est par conséquent prévu de faire des expériences (plan factoriel) pour déterminer non seulement les effets directs de la température, de la salinité, de l'irradiance et des sels nutritifs sur la croissance et la production de toxines par *Ostreopsis cf. ovata*, mais également pour mettre en évidence les interactions potentielles entre ces facteurs environnementaux. Ces expériences sont prévues durant le premier semestre 2010.

4) Caractérisation moléculaire d’*Ostreopsis cf. ovata* de Méditerranée.

L’identification des espèces du genre *Ostreopsis* à partir des critères morphologiques étant délicate et peu fiable, notamment sur des cellules issues de cultures où les tailles et la forme varient considérablement, seule une approche moléculaire permet de caractériser les souches sans ambiguïté.

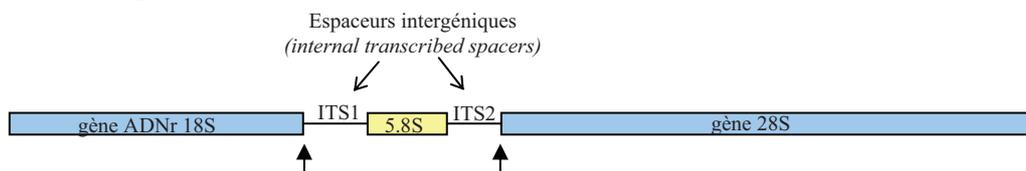


Figure 11. Représentation schématique de l’opéron ribosomal et des espaceurs intergéniques ITS1 et ITS2 (ADN nucléaire). Les flèches verticales délimitent la zone amplifiée dans cette étude.

Le marqueur moléculaire que nous avons choisi est d’origine nucléaire et correspond à l’ADN ribosomal 5.8S et aux espaceurs intergéniques (ITS1 et ITS2) (Fig. 11). Ce fragment,

d'une longueur d'environ 340 paires de bases, est très informatif et permet de discriminer les souches au niveau spécifique (Penna et al. 2005). Pour les cellules isolées dans le milieu naturel (à Monaco, Villefranche et Nice) ou les cellules en culture isolées à partir d'échantillons de Marseille ou de Villefranche, les amplifications PCR (Polymerase Chain Reaction) de la région ITS1-5.8S-ITS2 ont produit un fragment unique d'une taille de 341 pb.

Les séquences obtenues étaient rigoureusement identiques et la taille de l'ADNr 5.8S était de 160 pb, alors que celle des zones intergéniques ITS1 et ITS2 étaient de, respectivement, 95 pb et 86 pb.

```

1      TTTGT GAACA ATGCT CATGT CAATG ATGCT TGGTG GCATG CACCT TGTTA GTTGT AGCAT GACAG CTTGA TACTT ATCTA AACGC
86     TTTCA TCAAC TGTCT TCTGA CAGCA ATGAA TGCAT CAATT CAAAA CAATA TGAAG AGTGC AGCCA AATGC AGTAA TCATT GCAAA
171    TTGCA GAATT CCGTG AGTCA TTTT  CTTGA ATGTA GGCAT GTTCT TGGGC CACCC CTAAG GACAT CATT  ACTCA GTGCA TCTTT
256    GTTAA TGGTG TGCTC CACAT CATGC ATTAT GTGTG TGTGA TGTGG TATAC TCTTC TTTGC AGTTA TGCAA TACAC ATTCG TTTTG
341    T
    
```

Figure 12 : Séquence ITS1-5.8S-ITS2 des souches IFR-01M et IFR-01V

Par comparaison avec les séquences déjà connues et disponibles dans la banque de données GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank>), les séquences que nous avons obtenues sont similaires aux séquences de huit clones d'*Ostreopsis cf. ovata* isolés en Méditerranée [AJ311520 (clone CNR-A1, Mer Thyrenienne), AJ320179 (souche CNR-D1, Italie), AJ420005 (clone CNR-Z1, Îles Baléares)] et dans l'Atlantique Ouest [AJ420006

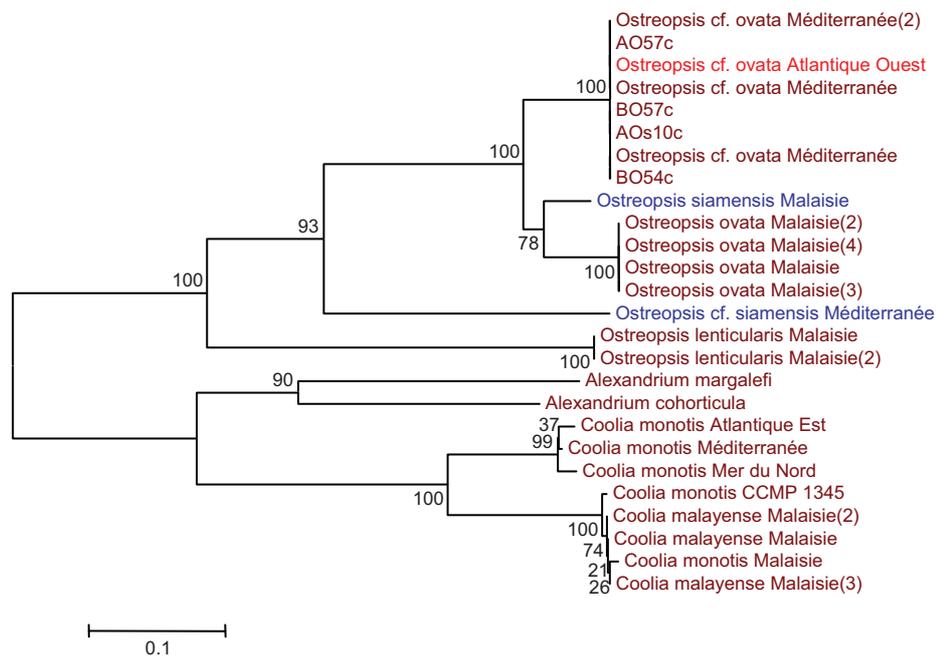


Figure 13 : Arbre phylogénétique présentant la position des souches de Monaco (A057, AOs10c) et de Villefranche (B057c et B054c) par rapport aux souches d'*Ostreopsis cf. ovata* du reste de la Méditerranée ou d'Atlantique (Brésil). Analyse de type Neighbour-Joining (avec 1 000 Bootstrap) basée sur la comparaison des séquences ITS 1, 5.8 S et ITS 2 de l'ADN ribosomale.

(clone IEO-01BR, Brésil), AJ318461(clone IEO-02BR, Brésil), AJ491311 (clone IEO-03BR, Brésil), AJ491312 (clone IEO-06BR, Brésil) et AJ318462 (clone IEO-15BR, Brésil)].

Cette étude confirme que, pour l'instant, et avec le marqueur génétique considéré, une seule souche d'*Ostreopsis cf. ovata* a été mise en évidence sur la côte Méditerranéenne française. L'arbre phylogénétique (Figure 13) résume la situation et montre bien que les souches françaises correspondent aux souches d'*Ostreopsis cf. ovata* que l'on trouve dans le reste de la Méditerranée (Italie, Espagne), mais également au Brésil.

5) Impacts d'*Ostreopsis* spp. sur la faune

5-1) Impacts sur les macroherbivores

L'étude de l'impact potentiel d'*Ostreopsis cf. ovata* sur la macrofaune a été effectuée sur les populations de *Patella* spp. (Mollusques, Gasteropodes) de la zone médiolittorale et sur les populations de *Paracentrotus lividus* (Echinodermes) de la zone infralittorale. Ces espèces ont été choisies car (1) *P. lividus* est le principal macroherbivore de Méditerranée et est d'intérêt commercial et (2) des individus de *P. lividus* et *Patella* spp. ont été retrouvés morts après l'événement *Ostreopsis* de Gênes en 2005.

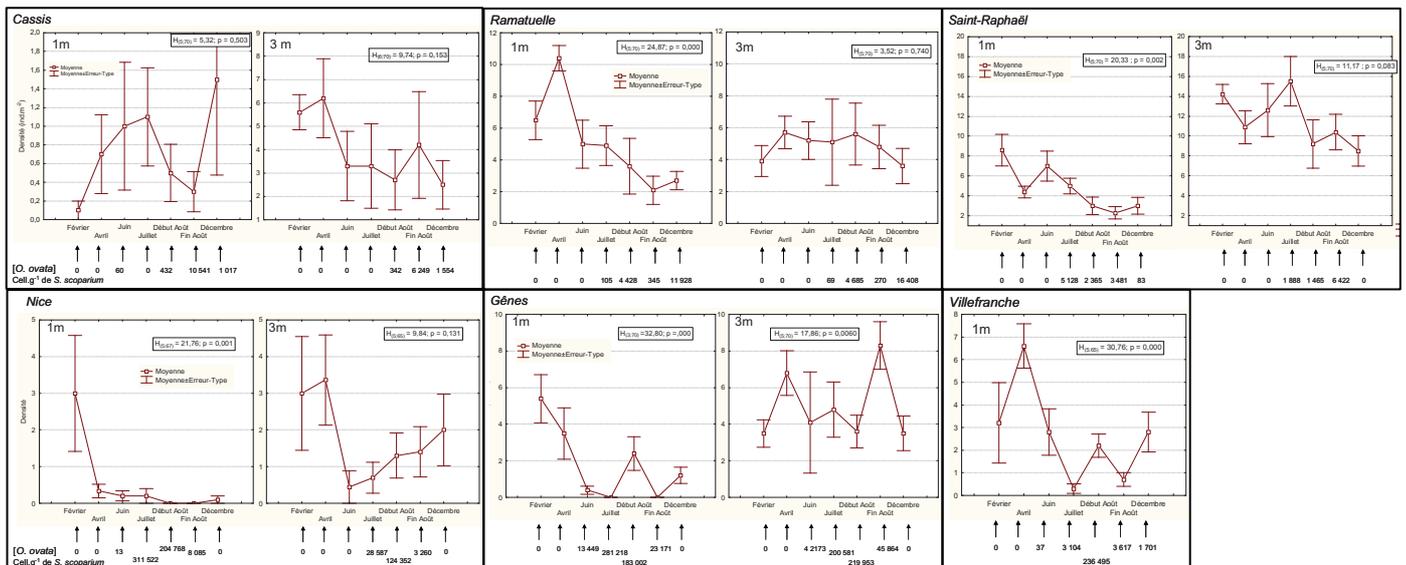


Figure 14 : Evolution de la densité moyenne de *Paracentrotus lividus* au cours du temps à 1 m et 3 m de profondeur entre février et décembre 2008, dans les 6 sites échantillonnés au cours du programme MediOs 2. Evolution des concentrations moyennes d'*Ostreopsis cf. ovata* mesurées aux mêmes profondeurs et aux mêmes périodes (valeur moyenne).

De février à décembre 2008 (7 dates), la densité de *P. lividus* a été mesurée dans 10 quadrats de 1 m² dans 6 sites le long du littoral de Provence et de Ligurie (Cassis, Ramatuelle, Saint-Raphaël, Nice, Villefranche-sur-Mer et Gênes). De part la grande variabilité à petit échelle des concentrations d'*Ostreopsis cf. ovata* et des densités de *P. lividus*, nous avons limité le nombre de quadrats à 10 afin de bien corrélérer géographiquement les prélèvements d'*Ostreopsis cf. ovata* aux densités d'oursins. La densité de *P. lividus* a été mesurée à 1 et 3 m de profondeur. Dans le même temps, la concentration d'*Ostreopsis cf. ovata* a été mesurée à 1 et 3 m de profondeur sur *Stypocaulon scoparium* (Pheophyceae), espèce couramment ingérée par *P. lividus* (n = 3 pour chaque profondeur).

Au niveau des 6 sites et des 7 dates, la densité de *Patella* spp. ainsi que la distribution en taille (non illustré ici) des individus a également été mesurées dans 6 quadrats de 1 m². La concentration d'*Ostreopsis* cf. *ovata* a été mesurées dans l'eau à proximité des populations de *Patella* spp. Les densités de *P. lividus* et de *Patella* spp. ont été comparées avec des tests non-paramétriques de Kruskal & Wallis suivi de tests SNK non-paramétriques quand des différences significatives étaient rencontrées.

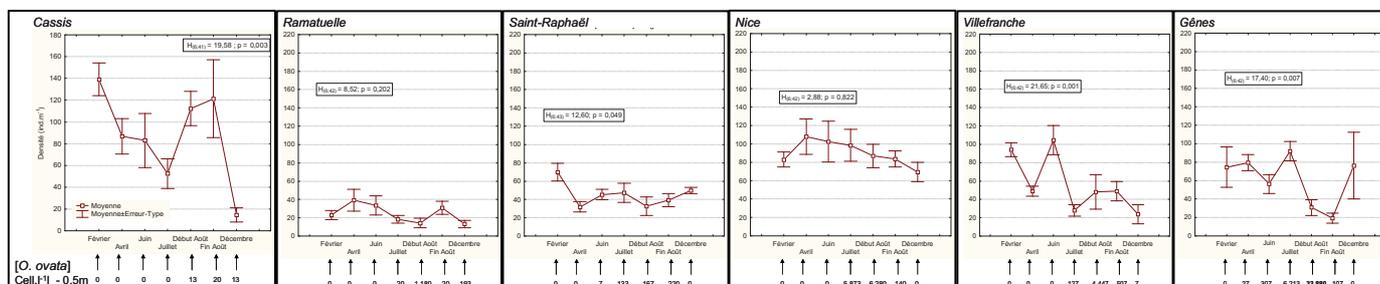


Figure 15 : Evolution de la densité moyenne (barre d'erreur = erreur-type) de *Patella* spp. au cours du temps entre février et décembre 2008, dans les 6 sites échantillonnés au cours du programme MediOs 2. Evolution des concentrations moyennes d'*Ostreopsis* cf. *ovata* mesurées dans l'eau aux mêmes périodes (valeur moyenne).

Quelque soit le site, nous n'avons pas pu mettre en évidence une relation entre la densité de *P. lividus* et d'*Ostreopsis* cf. *ovata*. Quand des chutes significatives de densités étaient détectées (cas de Ramatuelle - 1m, Nice - 1m, Gênes -1m et Villefranche – 1 m), elles n'étaient pas reliées à des concentrations importantes d'*O. ovata* (Fig. 14). Il n'y a qu'à Gênes où la chute de 70 % de la population de *Patella* spp. entre juillet et début août est corrélée avec une augmentation brutale et très importante d'*O. ovata* (de 6 200 cellules.l⁻¹ d'eau en juillet à 33 000 cellules.l⁻¹ d'eau début août) (Fig.15). Cet événement laisse penser qu'*O. ovata* est susceptible d'impacter les populations de *Patella* spp. de la zone médiolittorale.

Au vu des résultats concernant une diminution de la densité de *Patella* spp. potentiellement corrélée à de fortes concentrations d'*Ostreopsis* cf. *ovata*, nous avons renouvelé l'expérience dans 2 sites de la rade de Villefranche (le Lido et les Marinières) où la densité de *P. coerulea* (espèce la plus commune) a été mesurée dans 90 quadrats de 50x50 cm dans chaque site en juin et en septembre 2009. La taille de 100 individus a également été mesurée dans chaque site aux deux dates. Une ANOVA à 2 facteurs a été effectuée sur les densités après transformations log (x+1) des données.

Tab. 1. Densité de *Patella coerulea* de *Patella coerulea*.

| Site - mois | Densité moyenne ±es (ind.0,25 m ⁻²) |
|------------------------|--|
| Marinières - juin | 19,32 ± 1,73 |
| Marinières - septembre | 14,53 ± 1,36 |
| Lido - juin | 19,5 ± 1,38 |
| Lido- septembre | 23,63 ± 1,50 |

Tab. 2. Anova 2 facteurs sur la densité moyenne

| Source de variation | SC | ddl | CM | F | p |
|---------------------|----------|-----|----------|----------|-----------------|
| Totale | 510,5458 | 1 | 510,5458 | 5550,450 | |
| Site | 2,2319 | 1 | 2,2319 | 24,265 | 0,000001 |
| sous site | 2,6284 | 2 | 1,3142 | 14,287 | 0,000001 |
| date | 0,0350 | 1 | 0,0350 | 0,380 | 0,537938 |
| Site*sous site | 2,0672 | 2 | 1,0336 | 11,237 | 0,000019 |
| Site*date | 1,4869 | 1 | 1,4869 | 16,165 | 0,000071 |
| sous site*date | 0,1260 | 2 | 0,0630 | 0,685 | 0,504935 |
| Site*sous site*date | 0,3545 | 2 | 0,1773 | 1,927 | 0,147128 |
| Erreur | 31,9180 | 347 | 0,0920 | | |

Transformation log (x +1)
Cochran'test = 0, 13 ; p=0,06

On observe une baisse significative de la densité moyenne de *P. coerulea* aux Marinières entre le mois de juin et le mois de septembre 2009 alors que la densité est identique au Lido entre les deux dates (Tableaux 1 et 2). La quantité d'*Ostreopsis* reçue par les individus des Marinières est de 87 000 cellules.⁻¹ d'eau alors qu'elle n'est que de 10 000 cellules.⁻¹ d'eau (somme des 39 concentrations d'*Ostreopsis* cf. *ovata* mesurées entre début juin et fin septembre). La distribution des tailles des individus mesurés reste identique au Lido alors qu'on assiste à une mortalité de petits individus aux Marinières (<5mm) ce qui exclut un ramassage des individus (Fig.16).

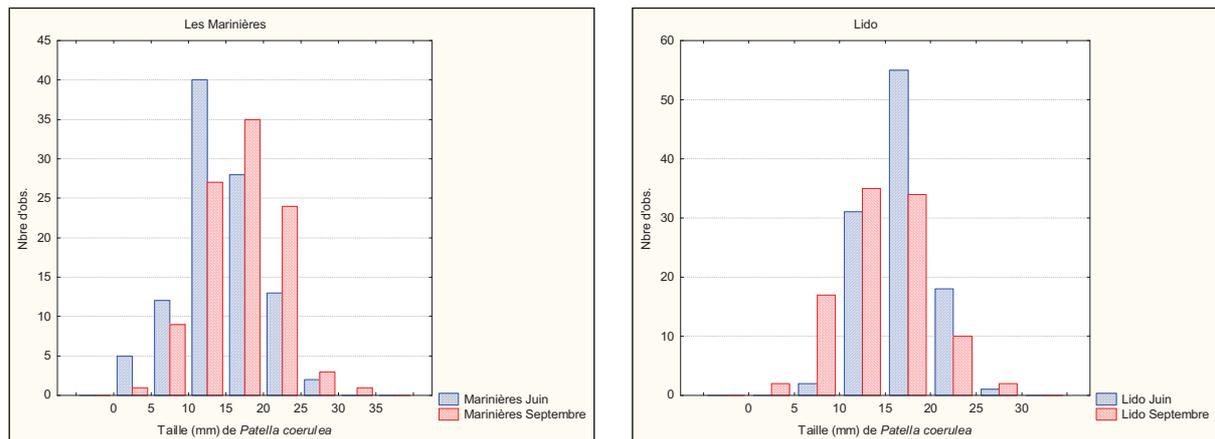


Figure 16 : Distribution des tailles de *Patella coerulea* mesurées en juin et septembre aux Marinières et au Lido

Nos observations ne permettent pas de conclure à un impact d'*Ostreopsis* cf. *ovata* sur la densité de *P. lividus*. Il est en effet difficile d'estimer l'impact du dinoflagellé sur ces oursins car ils sont souvent pêchés, même hors des périodes légales de récolte. De plus, lors du suivi *Ostreopsis* en 2009, 144 échantillonnages ont été effectués dans la Rade de Villefranche, des fleurs d'eau ont été observées, des concentrations très fortes d'*Ostreopsis* cf. *ovata* ont été mesurées, une plage a été fermée mais aucune mortalité d'oursins n'a été observée et aucun test vide ni oursins perdants ses piquants n'ont été observés. Ces résultats ne sont pas en adéquation avec la forte mortalité d'oursins observée à Gênes suite au bloom de 2005 ou à la présence d'individus sans épine à Pomégues (zone d'aquaculture, Archipel du Frioul, 2009 ; Ifremer, comm. pers). Il est possible que ces observations d'oursins morts ou fortement impactés soient dûes (1) à d'autres caractéristiques du milieu (ex : qualité environnementale dégradée) ou (2) à un impact indirect d'*Ostreopsis* cf. *ovata* (hypoxie ou anoxie du milieu suite à la forte activité bactérienne en fin de bloom).

Par contre, de fortes concentrations d'*Ostreopsis* cf. *ovata* ont un impact avéré sur *Patella coerulea*.

5-2) Impacts sur l'abondance et la composition de la méiofaune

La méiofaune est une classe de taille de métazoaires benthiques dont les limites sont comprises entre 40 μ m et 1 mm. Elle est bien adaptée à ce type d'étude car elle est très abondante dans le biotope des algues photophiles où se développe *Ostreopsis*. Par ailleurs, certains taxons qui la composent sont particulièrement sensibles aux pollutions organiques (aux toxines) et peuvent être considérés comme des indicateurs (In Giere 1993). La méiofaune des macroalgues (l'algue brune *Stypaocolon scoparium*) a été prélevées à 0,5 m de profondeur en triplicats au niveau des 6 sites d'étude de 2008 (cf. figure 1, chapitre 2-1). Dans ce rapport

ne sont présentés que les résultats de 3 stations : Ramatuelle (RAM), Nice (RES) et Gênes (ITA).

A la station RAM qui est peu impactée par *Ostreopsis* (concentration maximale: $7,1 \times 10^3$ cellules/g de macroalgue) (Figure 17) la méiofaune se comporte de manière classique et montre une évolution temporelle strictement parallèle à celle de la température. Aux stations RES et ITA, plus impactées par *Ostreopsis* (concentrations maximales respectives: $2,5 \times 10^5$ et $6,6 \times 10^5$ cellules/g), les abondances en méiofaune suivent une évolution différente, notamment après le mois de juin où l'on observe une diminution des abondances totales de plus de 35% (flèches rose). A la station la plus impactée (ITA où la concentration en *Ostreopsis* est 100 fois plus élevée qu'à la station RAM) les abondances se maintiennent à un niveau bas pendant toute la période estivale. Parallèlement on assiste à une forte réduction (72%) du nombre de nauplii tandis que les proportions en nématodes s'accroissent (cercles roses).

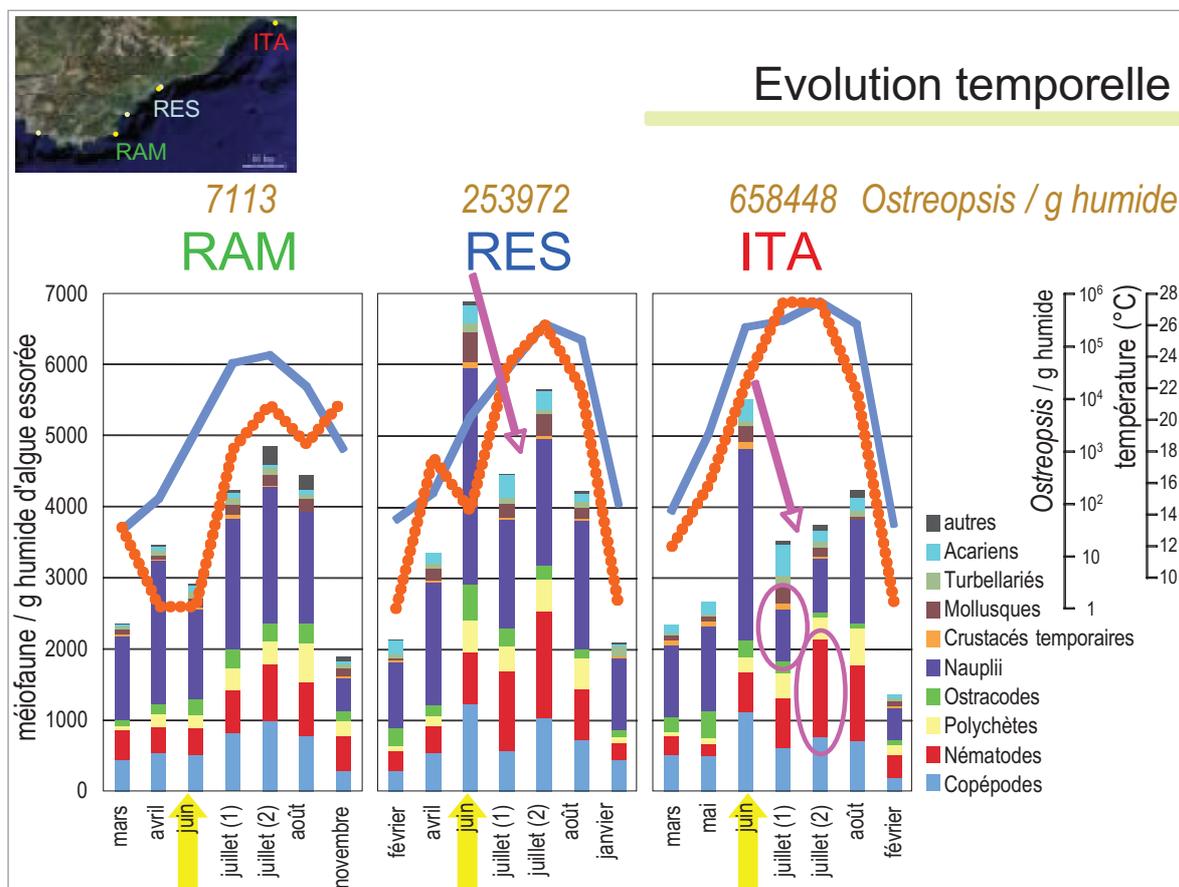


Figure 17 : Evolution temporelle au cours de l'année 2008 des abondances moyennes en méiofaune totale et des groupes d'organismes constitutifs (copépodes, nématodes, polychètes... etc) dans les macroalgues *Stypaucolon scoparium* (histogrammes), de la température (courbe bleue, échelle à droite) et des concentrations algales en *Ostreopsis* (courbe orange pointillée, échelle log à droite; les maxima de concentration pendant la période estivale sont indiqués au-dessus des graphiques), à 0,5 m de profondeur aux 3 stations RAM, RES et ITA.

Les concentrations en *Ostreopsis* étant fortement liées à la température, il est difficile de séparer l'effet de ces 2 paramètres sur la méiofaune. Une analyse factorielle discriminante a néanmoins permis de mettre en évidence des changements de communauté associés à de fortes concentrations en *Ostreopsis* indépendamment de la température. Les groupes les plus

affectés négativement sont les nauplii et les insectes tandis que les abondances en nématodes et acariens augmentent de façon significative en présence de fortes concentrations d'*Ostreopsis*.

Les nauplii étant les premiers stades juvéniles des copépodes, nos observations suggèrent un effet négatif des palytoxines et dérivés sur la reproduction des copépodes. Cette interprétation est confortée par des travaux expérimentaux menés sur des copépodes planctoniques élevés en présence de microalgues toxiques (Ianora *et al.* 2004, 2004) qui conduisent soit à un avortement des œufs, soit à des malformations des nauplii les empêchant de se développer. Le présent travail suggérerait donc pour la première fois un effet reprotoxique de ces toxines sur les copépodes benthiques. En ce qui concerne l'effet positif d'*Ostreopsis* sur les nématodes et les acariens, il s'agit probablement d'un effet indirect, conséquence de la réduction des compétiteurs au sein de groupes qui occupent une même niche trophique.

6) Formation d'agrégats par *Ostreopsis cf. ovata* et interaction avec les bactéries.

Le développement d'*Ostreopsis cf. ovata* est associé à la formation d'agrégats sur les macroalgues, dans l'eau ou en surface (cf. Synthèse). Notre hypothèse était que ces agrégats avaient pour origine l'exsudation de polysaccharides par les cellules autotrophes formant des Particules Exopolymériques Transparentes (TEP). Nous avons donc suivi la formation de TEP lors d'un bloom d'*Ostreopsis cf. ovata* en 2008 et 2009.

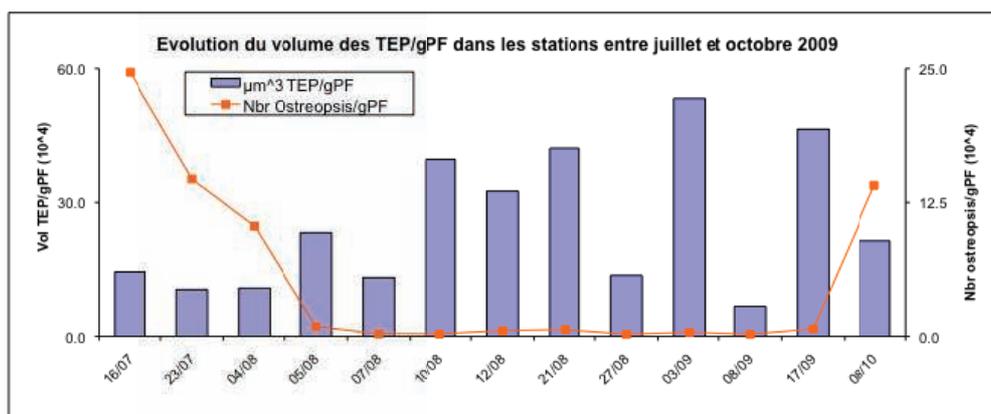


Figure 19 : Evolution du volume des TEP/gPF (poids frais) en 2009.

Parallèlement, nous avons étudié l'abondance et la diversité bactérienne associée aux agrégats dans le but (1) de voir si les toxines d'*Ostreopsis* pouvaient avoir un effet antibiotique *in situ* et (2) d'étudier le développement des genres bactériens potentiellement impliqués dans la toxicité, comme *Vibrio* (cf. "Etat de l'art" du projet soumis). Ces études ont été réalisées au niveau des 6 sites (cf. chapitre 2-1) en 2008 et à une fréquence plus importante en un seul site en 2009 (Marinières, baie de Villefranche-sur-mer). En 2008, dans les sites impactés par *Ostreopsis cf. ovata*, la quantité de TEP est plus importante en août, après le bloom de la microalgue. En 2009 le même phénomène est observé (figure 19). Ceci montre que les agrégats restent longtemps dans l'eau après que la concentration des cellules a baissé. La concentration bactérienne est élevée dans les agrégats ($1.2 \cdot 10^6$ bactéries en été en 2008 et 2009) avec une moyenne de 25% des bactéries attachées sur les TEP (et donc 75 % de bactéries libres dans l'eau). Ceci montre que la toxicité d'*Ostreopsis* n'a pas d'effet

antibiotique. Les pourcentages des bactéries du genre *Vibrio spp* sont faibles (1.0 à 4.5% de février à août 2008).

7) Les métabolites secondaires d' *Ostreopsis cf. ovata*

7-1) Profils toxiques des souches de Méditerranée

L'analyse en chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (API 4000) révèle l'identité remarquable des profils des souches cultivées, françaises, italiennes et espagnoles ainsi que celle des échantillons naturels, avec une proportion majoritaire d'ovatoxin-a (90%) et une faible proportion de palytoxine (10%) (Figure 20).

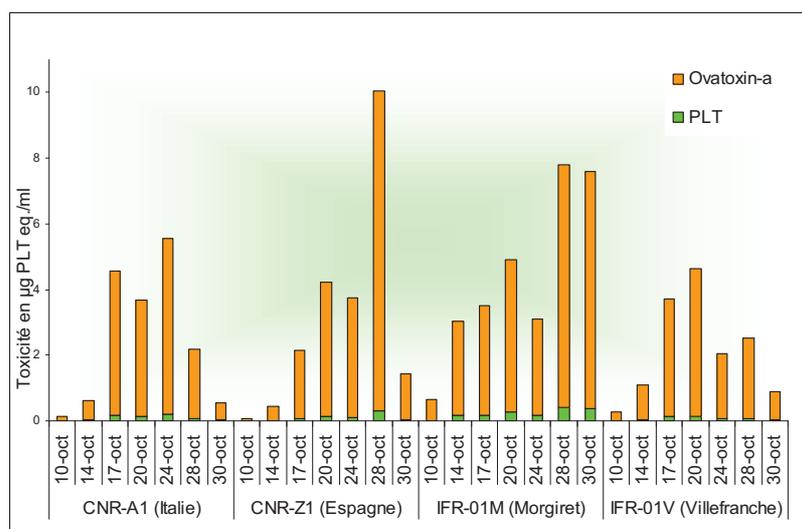


Figure 20 : Comparaison des toxicités exprimées en microgrammes d'équivalents palytoxine par millilitre de culture en fonction du temps, dans les cultures d'*Ostreopsis cf. ovata* des côtes italiennes, espagnoles et françaises. Année ????

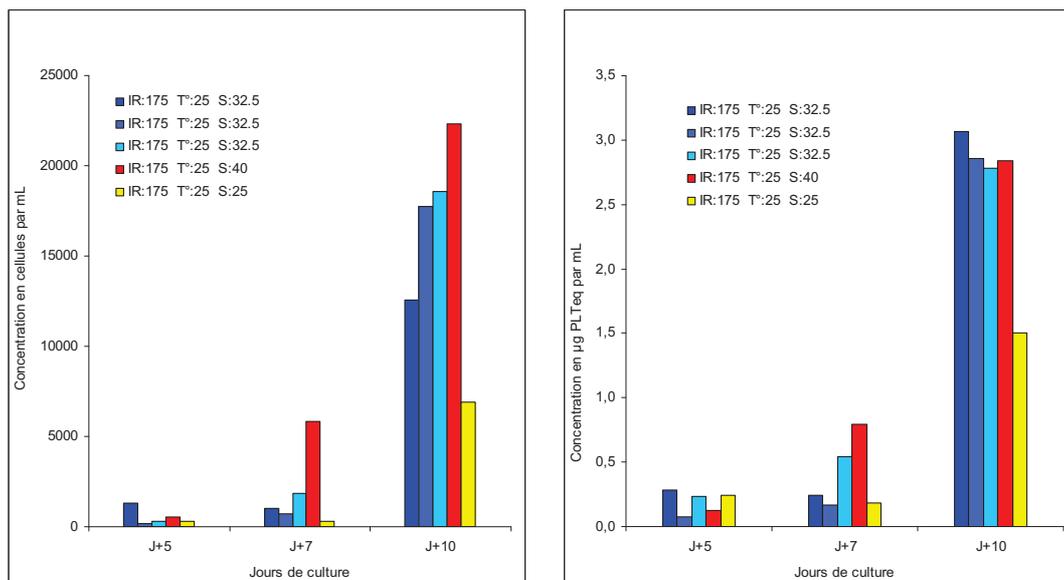


Figure 21 : Evolution de la croissance et de la production de toxines en fonction des facteurs physiques (exemple de la salinité).

A l'instar des travaux de *Guerrini et al.* (sous presse), sur les cultures d'*Ostreopsis cf. ovata* provenant des côtes adriatiques ou tyrrhéniennes, la quantité de toxines produites peut varier en fonction de l'origine géographique de l'isolat et en fonction des paramètres expérimentaux (figure 21), mais l'ovatoxine-a est toujours synthétisée majoritairement.

7-2) Concentration des métabolites dans la chaîne alimentaire

Afin de pouvoir déterminer les profils toxiques des produits de la mer, une optimisation de l'extraction et de la quantification de la palytoxine par analyse physico-chimique en chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (CL-SM/SM) a été menée sur différentes matrices d'invertébrés marins dopées avec un étalon de palytoxine (fournisseur Wako). L'efficacité de l'extraction en fonction de la matrice et de la teneur en dopage a permis de déterminer le taux de rendement moyen et de tracer la droite de recouvrement de la palytoxine.

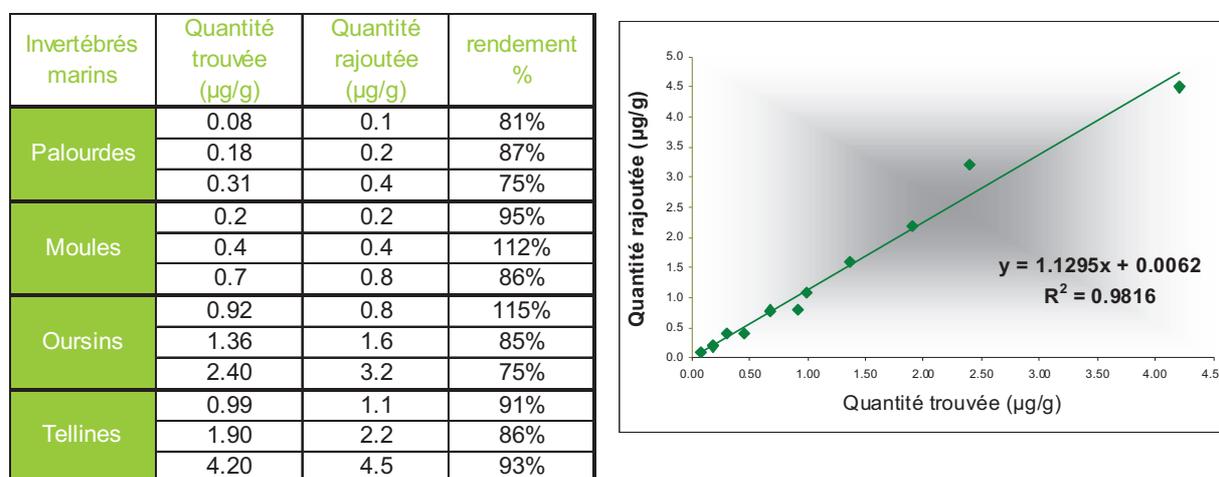


Figure 22 : Taux de recouvrement et droite de recouvrement de la palytoxine en fonction des matrices d'invertébrés marins.

Les résultats montrent que l'effet matrice n'est pas significatif et que la méthode est spécifique. Ainsi, la méthode d'analyse chimique par CL-SM/SM mise en place a été appliquée sur des prélèvements de phytoplanctons naturels d'*Ostreopsis* et d'organismes marins en vue de déterminer leurs profils toxiques.

ANALYSE CHIMIQUE PAR CL-SM/SM SUR DES PRELEVEMENTS D'*OSTREOPSIS CF. OVATA*

Suite à la présence d'*Ostreopsis cf. ovata* observée en juillet 2007 et aux efflorescences de cette microalgue dépassant les seuils de pré-alerte et d'alerte durant la période estivale de 2008 et 2009, des prélèvements d'eau de mer et de macroalgues provenant de Marseille (Morgiret) et de Villefranche-sur-mer (plage des jeunes) ont été réalisés afin d'identifier leurs profils toxiques. Les échantillons ont été filtrés sur 0,2 µm après agitation, ils ont été centrifugés puis les culots ont été repris dans du méthanol/eau 90/10 puis ont subi les techniques d'extraction adaptées avant d'être injectés au spectromètre de masse. La figure 23 donne des exemples de résultats analytiques obtenus par CL-SM/SM à partir des prélèvements d'*Ostreopsis cf. ovata*. Les profils toxiques des échantillons d'*Ostreopsis cf.*

ovata provenant de Villefranche sur mer et de Marseille sont identiques (90% d'ovatoxin-a et 10% de palytoxine).

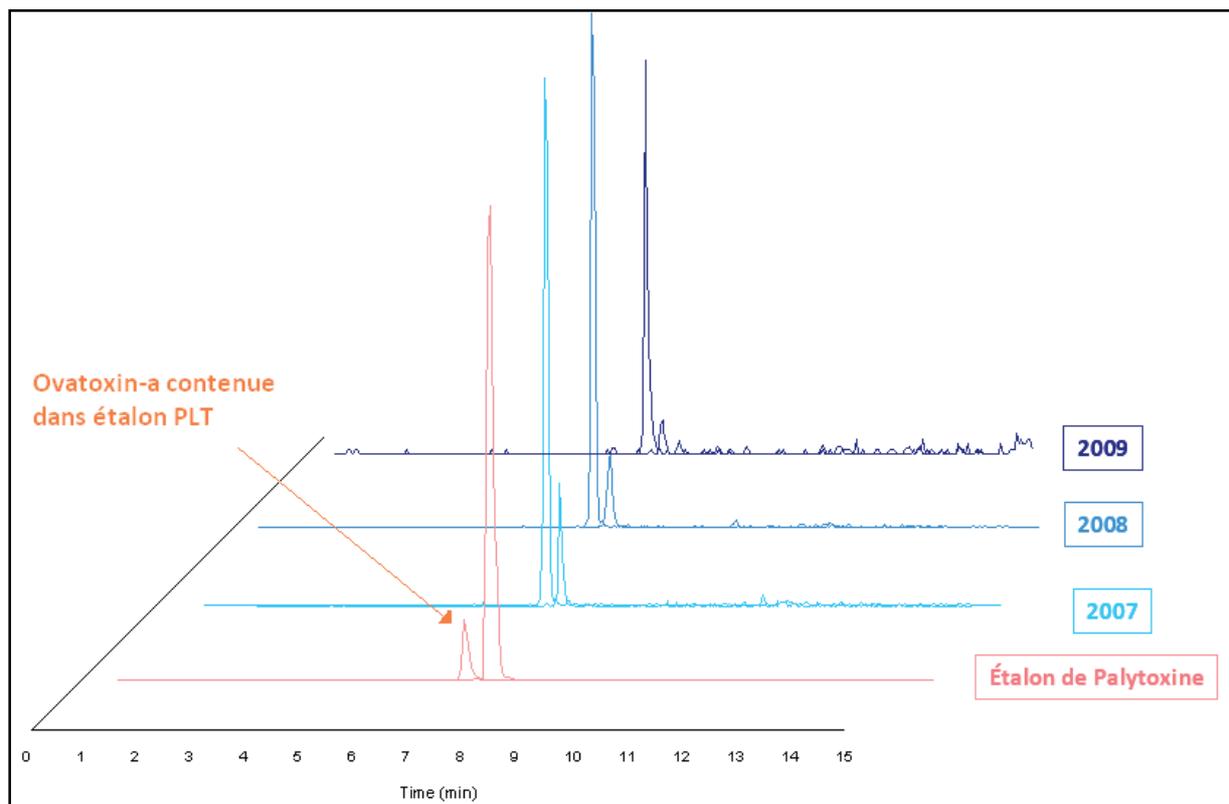


Figure 23 : Analyse chimique par CL-SM/SM sur API 4000Qtrap en mode positif, les transitions sélectionnées m/z 1340-327 et 1324-327 permettent d'identifier respectivement la palytoxine et l'ovatoxin-a dans les prélèvements d'eau de mer contenant *Ostreopsis cf. ovata*.

ANALYSE CHIMIQUE PAR CL-SM/SM SUR DES PRELEVEMENTS D'ORGANISMES MARINS

Sous les tropiques, le genre *Ostreopsis* est connu pour être à l'origine d'intoxication alimentaire due à l'accumulation de la palytoxine et de ses dérivés dans les produits de la mer. Suite à l'identification de palytoxine-like dans les prélèvements d'*Ostreopsis cf. ovata*, des organismes marins (poissons, bivalves, gastéropodes, etc) ont été prélevés à Villefranche-sur-mer (plage des jeunes) et à Marseille (Morgiret), durant les étés 2008 et 2009, afin de suivre la contamination de ces espèces. Les échantillons ont tous été traités de la même manière, extraction au méthanol/eau (90/10) puis filtration sur 0,2 μm avant d'être injectés au spectromètre de masse. Le tableau 3 regroupe l'ensemble des résultats obtenus.

Les résultats montrent la présence de palytoxine et d'ovatoxin-a dans l'appareil digestif des oursins et dans la chair totale de murex. Comme pour *Ostreopsis cf. ovata*, les profils toxiques sont composés majoritairement d'ovatoxin-a. La figure 24 montre les toxicités maximales détectées dans les organismes marins.

L'ensemble des résultats des analyses chimiques a permis de détecter pour la première fois en France, la palytoxine et l'ovatoxin-a (analogue de la palytoxine) dans des organismes marins (échinodermes et gastéropodes).

| Année de prélèvement | Site de prélèvement | Période | Organismes | Type de matrice | Teneur en µg/Kg de chair totale | | | |
|----------------------|----------------------|---------|------------|-----------------|---------------------------------|-----------|--------------|-----|
| | | | | | Palytoxine (PLT) | Ovatoxina | Total eq PLT | |
| 2008 | Marseille | Août | Oursins | Tube digestif | 48 | 127 | 175 | |
| | | Août | Oursins | Tube digestif | <LD | <LD | <LD | |
| | Villefranche sur mer | Juillet | juillet | Oursins | Tube digestif | 185 | 273 | 458 |
| | | | Août | Oursins | Tube digestif | <LD | <LD | <LD |
| | | | Septembre | Oursins | Tube digestif | <LD | <LD | <LD |
| | | Juillet | Patelles | Chair totale | <LD | <LD | <LD | |
| | | | Rascasse | Viscères | <LD | <LD | <LD | |
| | | | | Chair restante | <LD | <LD | <LD | |
| | | | Mulet | Viscères | <LD | <LD | <LD | |
| | | | | Chair restante | <LD | <LD | <LD | |
| Sar | Viscères | <LD | <LD | <LD | | | | |
| | Chair restante | <LD | <LD | <LD | | | | |
| 2009 | Villefranche sur mer | Août | Rascasses | Viscères | <LD | <LD | <LD | |
| | | | | Chair restante | <LD | <LD | <LD | |
| | | | Murex | Chair totale | <LD | <LD | <LD | |
| | | | oursins | Tube digestif | <LD | 34 | 34 | |
| | | | Patelles | Chair totale | <LD | <LD | <LD | |
| | | | Rascasses | Viscères | <LD | <LD | <LD | |
| | Chair restante | <LD | | <LD | <LD | | | |
| | Marseille | Août | Murex | Chair totale | <LD | 67 | 67 | |
| | | | juillet | oursins | Tube digestif | 33 | 328 | 361 |
| | | | août | oursins | Tube digestif | <LQ | 229 | 229 |
| septembre | | | oursins | Tube digestif | <LD | 96 | 96 | |

Tableau 3 : Récapitulatif des résultats des analyse chimiques par CL-SM/SM obtenus sur les espèces prélevées en 2008 et 2009. (LD = 2 µg/Kg de CT et LQ = 9 µg/Kg de CT).

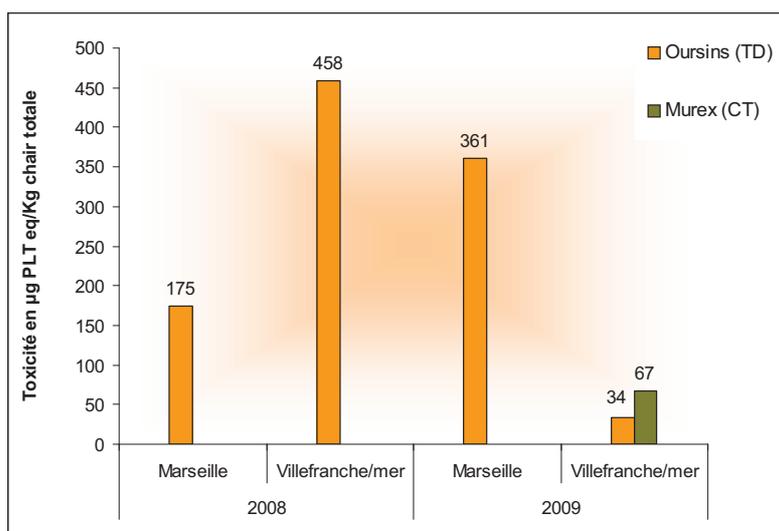


Figure 24 : Teneur maximale obtenue en µg de PLT équivalente par Kg de chair totale sur les espèces prélevées sur les sites de Villefranche-sur-mer et de Marseille pendant les périodes estivales 2008 et 2009.

8) Etude épidémiologique rétrospective d'*Ostreopsis cf. ovata*

Parallèlement au déroulement du projet MediOs 2, la Direction Générale de la Santé (via la DRASS-PACA, la CIRE-Sud et Centre Antipoison de Marseille) a mis en place et fait évoluer une surveillance sanitaire et environnementale d'*Ostreopsis* depuis 4 ans. Il faut donc bien séparer ces deux actions au niveau épidémiologique.

Dans le cadre de MediOs 2, le but était de recenser les cas groupés de passage aux urgences susceptibles d'être en relation avec le développement d'*Ostreopsis* sur les 15 dernières années au niveau des services d'urgence du littoral français méditerranéen. L'idée originale s'appuie sur le fait que l'Ifremer, dans le cadre du réseau REPHY, a déjà mis en évidence la présence, ces 15 dernières années, de concentrations d'*Ostreopsis* spp. dépassant 50 000 cellules/litre dans plusieurs sites. Le protocole retenu est une étude épidémiologique rétrospective qui a pour objectif de mettre en évidence l'impact sanitaire d'*Ostreopsis* spp. sur le littoral de la Méditerranée nord-occidentale. Le support de cette étude est la base de données PMSI auprès des vingt-cinq SAU du littoral méditerranéen qui ont été sollicités, de Menton à Perpignan. Le Centre Anti Poison de Marseille a également été contacté par téléphone et par mail. Vingt cinq établissements ont été sollicités et 19 ont été retenus. Sur ces 19, nous avons collectionné 8 refus de participation, 7 non réponses et 4 sites ayant répondu plus le CAP de Marseille.

Un rapport plus complet, rédigé par le Département de Santé Publique du CHU de Nice, est disponible sur le site internet de MediOs 2.

Ce travail a été compliqué pour plusieurs raisons : (1) il est basé sur une codification des symptômes par les services des urgences médicales, qui n'a pas été réalisée de façon systématique, surtout au début de sa mise en œuvre, (2) les symptômes liés à *Ostreopsis* sont peu spécifiques (hypersensibilité allergique aiguë, hyperthermie, dyspnée, rhinites, conjonctivites, urticaire), (3) les personnes atteintes de ces symptômes ne vont pas obligatoirement consulter dans les services d'urgence, (4) l'absence de motivation des médecins et des établissements pour recueillir et éventuellement fournir l'information de l'activité produite aux urgences, (5) la méconnaissance de l'impact sanitaire d'*Ostreopsis* et des conditions de cette intoxication dans les services d'urgences.

Malgré ces difficultés, l'évolution de la fréquence des patients potentiellement liée à une intoxication à *Ostreopsis* a été réalisée sur les données disponibles. Seule une augmentation des gastro-entérites ou colites par hypersensibilité alimentaire autour des années 2003 semble significative, sans que cela puisse être relié au développement de la microalgue toxique. L'étude épidémiologique rétrospective réalisée dans le cadre de MediOs 2 montre donc que des données fiables sur l'impact réel d'*Ostreopsis* ne pourront être collectées que si (1) les services des urgences sont sensibilisés à la problématique, (2) un recueil spécifique et simple à remplir est à disposition et (3) le recueil d'information automatisé est soutenu.

Cet effort sur la sensibilisation des services et le recueil d'information centralisé a été réalisé par la DRASS-PACA, la CIRE-Sud et Centre Antipoison de Marseille. Depuis 4 ans, une surveillance environnementale et sanitaire est en place sur le littoral méditerranéen français, avec une centralisation et une vérification des cas par les médecins du Centre Antipoison de Marseille. Cette surveillance a permis la mise en évidence, entre 2006 et 2009, de neuf épisodes d'efflorescence sur les côtes méditerranéennes françaises ou monégasques, dont 5 ont entraîné des symptômes chez des plongeurs, des baigneurs ou des riverains. Les symptômes rapportés chez les 47 patients ont été limités à des troubles irritatifs cutanés, muqueux et/ou respiratoires. Des mesures d'interdiction des plages pour protéger la population ont été nécessaires à 5 reprises depuis la mise en place de cette surveillance (ces données proviennent d'une publication en cours de rédaction, par Tichadou et collaborateurs).

9) Impact économique d'*Ostreopsis* spp. en Méditerranée NO

La région Provence-Alpes-Côte d'Azur (PACA), prise comme référence dans cette étude, possède une économie fortement liée à la mer à travers la pêche maritime, l'aquaculture, les ports et la plaisance mais surtout le tourisme balnéaire. Cette première étude se concentre uniquement sur l'impact potentiel d'*Ostreopsis* sur l'économie touristique de la région PACA. Il paraîtrait cependant légitime de s'intéresser aux effets d'*Ostreopsis* sur la pêche et l'aquaculture lorsque les études des conséquences sur la chaîne alimentaire seront terminées.

L'estimation de l'impact d'*Ostreopsis* est basée sur des enquêtes menées auprès des usagers des plages et des entreprises situées à proximité immédiate ainsi que sur une veille des informations diffusées sur internet à propos de l'algue (internet est la principale source d'information des personnes venant pour la première fois en vacances dans la région). Les informations obtenues ont ensuite été croisées avec différentes données économiques disponibles¹ pour estimer l'ordre de grandeur de l'impact économique potentiel d'*Ostreopsis*.

Enquête auprès des « usagers de la plage »

380 personnes ont été interrogées durant la saison estivale 2009 pour connaître leur relation à la plage et leur connaissance d'*Ostreopsis* sur 6 plages de la région PACA, sites sélectionnés en fonction de leurs caractéristiques propices au développement de blooms d'*Ostreopsis*. Il s'agit de la plage de Cassis, la calanque des Louvans à Saint Aygulf, Camp Long à Agay, la Réserve à Nice, les Marinières à Villefranche-sur-mer et la Marquet à Cap d'Ail.

Une part importante des personnes interrogées vient à la plage fréquemment (en moyenne plus de 5 fois par semaine) et pour la moitié des touristes il s'agit de la raison principale de leur venue dans la région. Pour les français (touristes ou locaux), la proximité avec leur lieu d'habitation est le premier critère de choix pour sélectionner une plage. Plus de la moitié des personnes interrogées (56%) utilise les services proposés par les entreprises situées sur la plage ou à proximité. Une minorité d'usagers de la plage connaît *Ostreopsis* (Figure 25) : il s'agit essentiellement d'usagers locaux fréquentant les plages des Alpes Maritimes où des alertes ont eu lieu. Cette connaissance du phénomène n'est pas toujours très claire et des confusions sont faites avec d'autres pollutions.

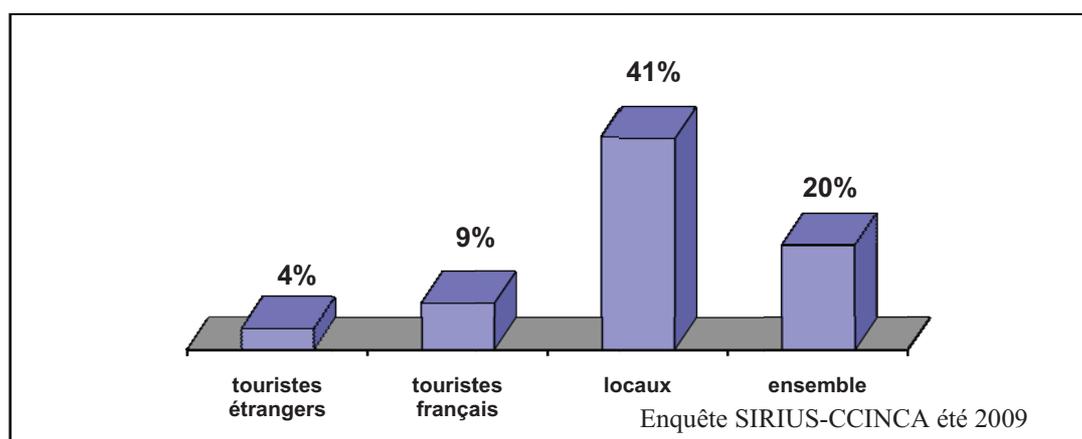


Figure 25 : Part de personnes connaissant *Ostreopsis* en fonction de leur origine (enquête SIRIUS-CCINCA de l'été 2009).

L'enquête démontre le faible niveau d'inquiétude des personnes par rapport à *Ostreopsis* même lorsqu'elles y ont été confrontées. En effet, sur 17 personnes s'étant trouvées sur une plage concernée par un bloom d'*Ostreopsis*, aucune ne s'est dite vraiment inquiète et seulement deux d'entre elles ne sont plus allées à la plage durant cet événement.

Enquête auprès des entreprises

52 entreprises parmi la centaine recensée à proximité des sites sélectionnés ont accepté de participer à l'enquête. La part d'activité moyenne provenant du tourisme est de 59%. Malgré la proximité des plages, leurs usagers ne représentent en revanche que 20% de l'activité. Moins de la moitié de ces entreprises estime que la qualité des eaux de baignade influe sur leur niveau de fréquentation. Plus de trois quarts des entreprises indiquent que la plage proche a connu des phénomènes ayant affecté la qualité des eaux de baignade. Il s'agit principalement de méduses mais aussi de pollution. Très peu ont cité les algues toxiques, même parmi les entreprises à proximité de plages ayant pourtant connu des blooms d'*Ostreopsis* dans les deux dernières années. Seulement 17 entreprises ont entendu parler d'*Ostreopsis*. Toutes, à l'exception d'une, se trouvent dans les Alpes Maritimes.

Veille internet

La communication liée à *Ostreopsis* est un facteur crucial pour évaluer l'impact que pourrait avoir cette algue toxique sur l'économie (cf. scénario 3 ci-dessous). 300 articles traitant d'*Ostreopsis* ont été recensés sur internet, datant de 2005 à 2009. Ils proviennent du monde entier, même si la majorité est d'origine française (Figure 26). Les références de ces articles sont disponibles sur le site internet du projet MediOs 2.

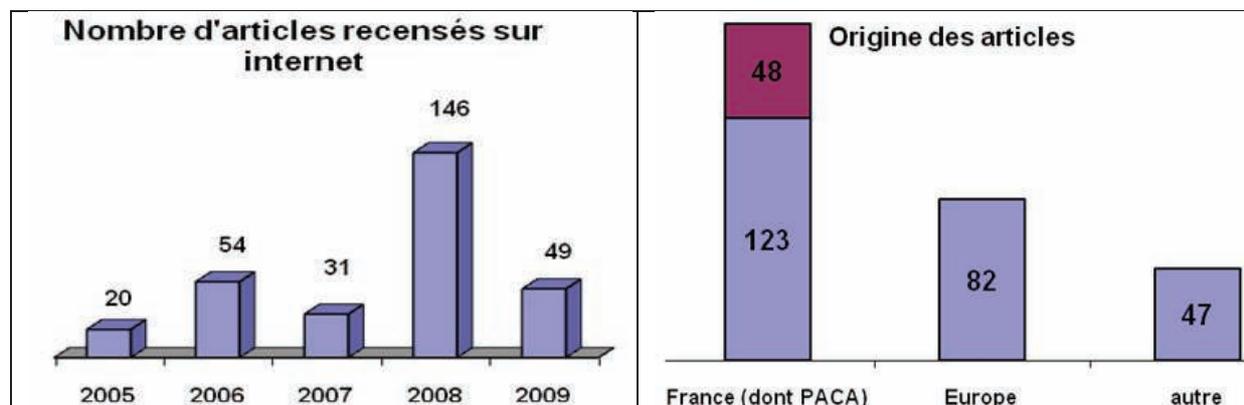


Figure 26: Nombre d'articles recensés sur internet et origine de ces articles (en rouge, articles publiés en région PACA).

Impact économique d'*Ostreopsis* en Région PACA en fonction du développement futur de la microalgue toxique

En fonction du développement possible de la microalgue, 3 scénarii ont été envisagés et l'impact économique a été estimé² pour chacun d'entre eux :

Scénario 1 : situation similaire à celle observée en 2008/2009 en PACA

Hypothèses : Plusieurs blooms ont lieu dans la région, essentiellement sur des zones à faible activité économique directe : aucun établissement n'a fermé - Un faible nombre de personnes est légèrement intoxiqué - L'algue *Ostreopsis* est encore très mal connue du public

Résultats : **Impact micro-économique : perte de 38 K€ sans impact régional**

Au niveau micro-économique, deux plages privées sont impactées par une baisse d'activité durant la saison avec une perte pour chacune de 19K€ (la moitié du bénéfice moyen d'une plage privée de la région, le risque financier n'est donc pas négligeable pour ces entreprises). Par contre, l'impact sur l'économie touristique au niveau régional est neutre : les touristes n'annulent pas leurs vacances à cause des blooms et la baisse d'activité des deux plages privées impactées est compensée par une hausse pour d'autres entreprises (autres plages privées plus éloignées ou autre type d'entreprise si les personnes ont changé d'activité).

Scénario 2 : amplification du phénomène

Hypothèses : En plus des blooms décrits dans le scénario 1, un bloom important oblige à une fermeture préventive d'une grande plage de la région durant 10 jours en pleine saison estivale.

Résultats : **Impact micro-économique : perte de 340 K€ avec un impact régional significatif mais peu important.** En plus de l'impact calculé au scénario 1, les pertes pour les entreprises installées sur la plage fermée sont estimées à 168 K€. De plus, les entreprises à proximité de la plage vont enregistrer une baisse de leur activité estimée au total à 94 K€. Enfin, les parkings payants non utilisés par les usagers de la plage enregistrent une perte de 35 K€. Au niveau régional, certains touristes pour lesquels la plage, et sa proximité avec leur lieu de résidence, sont particulièrement importantes, vont écourter leur séjour ou l'annuler préventivement. Les exemples de Gênes ou de Barcelone semblent indiquer que l'impact ne devrait pas se propager aux années suivantes.

Scénario 3 : baisse significative de la fréquentation touristique

Hypothèses : Des blooms d'*Ostreopsis* graves et récurrents font baisser la fréquentation touristique de la région, notamment avec un relais important et alarmiste des médias. La crainte d'*Ostreopsis* réduit d'un pourcent la fréquentation touristique entre juin et septembre (période de blooms potentiels) dans les départements littoraux de la région PACA.

Résultats : Les départements littoraux accueillent 50% des nuitées touristiques annuelles de la région durant les 4 mois de la saison estivale. Une baisse d'un pourcent de ces nuitées correspond donc à 0.5% de l'ensemble des nuitées touristiques. L'ensemble des touristes dépense annuellement 11 milliards d'euros dans la région. Si l'on réduit proportionnellement ce montant à la baisse de fréquentation, les pertes pour la région se chiffrent à **55 millions d'euros**.

Conclusions : Actuellement, malgré la mise en difficulté possible de quelques entreprises, *Ostreopsis* n'a pas d'impact significatif sur l'économie régionale. En revanche, un événement à fort retentissement médiatique en pleine saison estivale, non seulement pourrait mettre en difficulté plusieurs dizaines d'entreprises mais aurait également une incidence négative sur l'image du territoire. Enfin, une répétition accompagnée d'une amplification du phénomène dans les années à venir entraînerait une baisse, même faible, de la fréquentation touristique. La perte économique se chiffrerait alors rapidement en millions ou en dizaines de millions d'euros. Les principales orientations pour anticiper cette baisse de fréquentation touristique portent sur l'information et la prévention du public, un plan média et la promotion de l'offre touristique alternative à la baignade.

¹ Base de données des comptes sociaux des entreprises françaises, enquête de conjoncture SIRIUS-CCI, CRT PACA

² Bien que des montants exacts aient été estimés pour cette étude, leurs valeurs reposent sur des hypothèses. Ces montants ne doivent donc être utilisés que comme ordre de grandeur de l'impact.

10) Interaction des partenaires MediOs 2 avec les gestionnaires

10-1) Les Comités de Pilotage du projet

Les Comités de Pilotage du projet ont été organisés par le Conseil Général des Alpes-Maritimes et étaient composés, en plus des représentants des partenaires et des financeurs de MediOs 2, des représentants des Affaires Sanitaires et Sociales départementales et régionales (dont la CIRE-Sud) ainsi que des représentants des services Environnements de la Région PACA (DIREN, Service Mer)

Comme convenu, un premier Comité de Pilotage a été organisé avant l'été 2008. Les principales discussions étaient en relation avec le choix des sites d'études de MediOs 2, la difficulté de réalisation de l'étude épidémiologique rétrospective et la communication liée à la problématique *Ostreopsis*. Nous étions au début du projet et il est évident qu'une certaine confusion existait encore entre le projet de recherche MediOs 2 et un éventuel projet de surveillance ou de suivi. Au fur et à mesure de nos recherches et des réunions, le rôle de chaque participant s'est clarifié (cf. le document de Synthèse et ci-dessous, le chapitre 10-2). Le rôle de MediOs 2, en plus de l'aspect recherche pure, est de donner les informations les plus pertinentes possibles afin que les autorités compétentes puissent mettre en place et/ou optimiser les processus de surveillance et de gestion des risques liés à la problématique *Ostreopsis*.

Un second Comité de Pilotage devait avoir lieu au début de l'année 2009, mais l'indisponibilité de plusieurs membres de ce Comité a repoussé la réunion au 6 octobre 2009 (compte-rendu disponible sur le site internet du projet). Après une présentation générale des avancées des recherches, la discussion s'est engagée de nouveau sur le processus de surveillance environnementale. Pour résumer la situation, la vision de la dangerosité d'*Ostreopsis* est variable selon les acteurs. Certains pensent que les problèmes sanitaires existants ou potentiels ne nécessitent pas la mise en place d'une surveillance importante, donc coûteuse ; au contraire, d'autres acteurs pensent que la surveillance environnementale mise en place doit rapidement évoluer, avec une augmentation du nombre de sites étudiés et de la fréquence d'échantillonnage. Il est bien évident que les coûts liés à la surveillance environnementale (qui sont importants mais bien-sûr fonction de ses modalités) jouent un rôle critique dans le processus de décision.

Pour conclure, comme pour tout problème sanitaire lié à des toxines naturelles, seule une législation nationale ou internationale (e.i. européenne) avec des normes bien établies permettra de clarifier la situation. Mais il est évident que ces textes de loi ne seront pas publiés avant plusieurs années. Il existe bien le document du Ministère de la Santé et des Sports n° DGS/EA4/2009/196 du 07 juillet 2009 concernant les modalités de la surveillance sanitaire et environnementale, mais c'est une "Note de Service", spécifique à la saison balnéaire 2009.

10-2) Implication dans le processus de surveillance français

Depuis 4 ans, le Ministère de la Santé et des Sports a mis en place un système de veille sanitaire et environnementale (cf. note de service n° DGS/EA4/2009/196 destiné aux préfets des départements du littoral méditerranéen français : document de 18 pages avec 14 annexes, disponible pour information sur le site internet du projet MediOs 2). Les professionnels du monde médical ainsi que les personnes en relation avec la gestion du littoral sont avertis, au début de chaque saison estivale, des critères environnementaux et sanitaires liés à la présence d'*Ostreopsis* spp. Toute suspicion doit faire l'objet d'une déclaration au Centre AntiPoison de Marseille. Lorsque la concentration en *Ostreopsis* est importante dans un site et/ou que des

cas sanitaires sont déclarés et *a priori* en relation avec la microalgue toxique, il est mis en place une CAD (Cellule d'Aide à la Décision) téléphonique entre des médecins, des experts environnementaux et des gestionnaires. Cette CAD statue sur le besoin de limitation de la baignade ou de fermeture des plages.

Pour l'instant, il n'existe aucun seuil officiel maximum (national, européen ou mondial) concernant la concentration d'*Ostreopsis* spp. dans l'eau ou sur les macroalgues. Le Ministère de la Santé et des Sports (via l'INVS et la CIRE Sud) utilise des seuils empiriques depuis 2007. Le seuil de pré-alerte (4 000 cellules/litre), était initialement basé sur le 1/10 de la concentration maximale de cellules toxiques observées dans l'eau au pied de la station marine d'Endoume (Marseille), cette concentration maximale n'ayant *a priori* pas eu d'effet sanitaire constaté. Le seuil d'alerte (30 000 cellule/l) était basé sur les concentrations observées en Italie le jour suivant celui de l'intoxication groupés (plus de 200 cas) à Gênes en été 2005. Suite à l'expérience des saisons estivales 2007 et 2008, les seuils ont été modifiés en 2009 et sont passés à 30 000 cellules/l pour une pré-alerte et à 100 000 cellules/l pour une alerte.

Plusieurs membres de MediOs 2 (travaillant à Ifremer-Toulon ou à l'Observatoire de Villefranche-sur-mer) ont pris part aux CAD organisées en 2008 et 2009 par les autorités sanitaires. Ces CAD ont parfois été à l'origine soit de la fermeture de plages pendant plusieurs jours ou semaines, soit d'une campagne d'information pour déconseiller la baignade. Lors de ces réunions téléphoniques, il a été demandé, par les autorités sanitaires locales et nationales, à plusieurs laboratoires du projet MediOs 2 d'effectuer des suivis environnementaux des zones déclarées à risque durant les saisons estivales 2008 et 2009. Il est évident que nous avons accepté, même si cela n'était pas (1) une mission initialement déclarée dans le projet MediOs 2, ni (2) une mission normalement attribuée à des laboratoires de recherche.

Nous souhaitons bien préciser dans ce rapport que la phase expérimentale et d'analyse sur le terrain étant terminée dans le cadre de MediOs 2, l'implication des laboratoires dans le suivi environnemental des sites affectés ne sera plus possible à partir de la saison 2010. Nous tenons également à préciser que beaucoup de CAD ont été mise en place en 2008 et 2009 suite aux résultats obtenues dans le cadre de nos recherches. Si dans nos sites d'études, nous mesurons des concentrations d'*Ostreopsis* dans l'eau supérieures aux seuils empiriques, nous prévenons rapidement les autorités compétentes. C'est donc à la fois dans les processus de "déclaration" et de "suivi" de sites affectés que nous n'aurons plus les moyens humains et matériels, ni le rôle, de nous impliquer.

Le LOV et ECOMERS ont également participé depuis l'été 2007 à un suivi du développement d'*Ostreopsis* cf. *ovata* à Monaco (Larvotto). Si les prélèvements et les analyses rapides ont été effectués dans le cadre d'un contrat avec le Département de l'Environnement monégasque, l'analyse et l'interprétation des résultats se sont faites dans le cadre de MediOs 2 et une publication sur l'écologie de la microalgue est en cours de rédaction.

10-3) Participation aux réunions organisées par le Ministère de la Santé

Le Ministère de la Santé et/ou ses représentants locaux a été à l'initiative de 2 réunions sur la problématique *Ostreopsis* ; une première à Marseille le 19 septembre 2008 et une seconde à Paris le 26 novembre 2008. Plusieurs membres du projet MediOs 2 ont été conviés à ces réunions en tant qu'experts et/ou pour participer à la mise en place de nouveaux projets de recherche. Les communications orales effectuées par les partenaires de MediOs 2 lors de ces 2 réunions sont listées dans la partie "Expertise" du chapitre "Liste des opérations de valorisation issues du contrat" du rapport complet.

La réunion du 26 novembre 2008 au Ministère de la Santé à Paris a en grande partie été initiée suite aux résultats obtenus par l'Ifremer (Nantes) dans le cadre de MediOs 2. En effet, durant l'été 2008, de la palytoxine et surtout des dérivés de cette molécule très active ont été trouvées en grande quantité dans le tube digestif d'oursins comestibles prélevés dans des zones affectées par *Ostreopsis cf. ovata*. Il existait donc un risque potentiel de contamination via la chaîne alimentaire (risque déjà connu dans les zones tropicales). Par conséquent, suite à cette réunion, 2 projets, indépendants mais néanmoins très complémentaires de MediOs 2, ont vu le jour :

1) Un projet Ifremer-DGAL afin d'étudier la contamination possible de mollusques filtreurs (moules). Les sites d'études pour la saison estivale 2009 ont été Marseille et Villefranche. Les moules concentrent effectivement les toxines d'*Ostreopsis* et il existe une forte corrélation entre la quantité de toxines dans les moules et la concentration de microalgues toxiques dans le milieu.

2) Un projet de la DGS impliquant l'AFSSA, en partenariat avec le LOV et l'Ifremer, sur la contamination possible de plusieurs organismes marins, via des tests de toxicité spécifique et des analyses chimiques. Les matrices organiques, prélevés durant toute la saison estivale 2009 dans la baie de Villefranche-sur-mer et à Nice sont : des mollusques (patelles et Murex), des crustacés (crabe du genre *Eriphia*, dit "pelouse") des échinodermes (l'oursin commun *Paracentrotus lividus*), des poissons (les saupes herbivores et les rascasses carnivores). Ces matrices organiques sont en cours d'analyse.

10-4) Interactions avec les gestionnaires au niveau international

Les membres de MediOs 2 sont souvent en contact avec des gestionnaires du milieu marin d'autres pays. Nous avons, principalement pour des raisons de proximité, plus d'échanges avec des collègues italiens et monégasques.

Nous avons invité Rosela Bertolotto, de l'ARPAL (Agenzia Regionale per la Protezione dell'Ambiente Ligure ; Italie) lors du séminaire de recherche de MediOs 2 de fin 2008. Le but était de poursuivre la préparation d'un projet européen, nommé NEMO'S. Ce projet "Network for the Environmental Management of *Ostreopsis* and Other potentially toxic Algae" a été proposé, sous l'impulsion de nos collègues italiens, dans le cadre du programme de coopération transfrontalière Interreg MED, mais regroupait plusieurs pays européens. Les partenaires de MediOs 2 impliqués dans ce projet international étaient l'Ifremer, la CCI de Nice et le LOV (CNRS et UPMC). Ce projet regroupait à la fois des scientifiques et des gestionnaires autour de la problématique générale des pollutions biologiques marines liées au changement global en Méditerranée. Malheureusement, ce projet n'a pas été financé (réponse obtenue en automne 2009) mais nous attendons les évaluations complètes pour l'optimiser afin de le soumettre à nouveau.

Nous avons également reçu Tarik Touahria, de la Faculté des Sciences Biologiques d'Alger. Monsieur Touahria a fait un séjour de trois semaines en fin d'année 2009 à l'Observatoire Océanologique de Villefranche-sur-mer. Suite aux informations disponibles dans les médias cet été (2009) et présentant une intoxication groupée de plus de 200 personnes en Algérie, a priori lié à *Ostreopsis*, nous avons contacté la Direction des Affaires Internationales du CNRS. Cet organisme nous a mis en contact avec l'Ambassade de France et avec des responsables de l'environnement marin ou de la recherche dans plusieurs Ministères algériens. Suite à des échanges de mails, Monsieur Touahria a pu venir en France à la fois pour entamer une collaboration (comparaisons morphologiques et génétiques des souches d'*Ostreopsis* spp. algériennes et française), mais également et surtout pour discuter et faire un transfert de connaissance afin que des études scientifiques et un suivi

environnemental potentiel puisse être rapidement mis en place en Algérie. Monsieur Touahria a été invité au dernier séminaire du projet MediOs 2 en décembre 2009 à Villefranche.

Enfin, Hubert Grossel et Rodolphe Lemée participent régulièrement aux réunions du groupe de travail « Connaissance et gestion de la qualité des eaux des milieux marin et côtier » de l'accord international RAMOGE (France, Italie et Monaco ; cf. <http://www.ramoge.org>), dont le secrétariat est basé à Monaco. Même si ces deux chercheurs font partie de MediOs 2, c'est en tant que représentant de leur structure d'origine (respectivement Ifremer-Toulon et Observatoire Océanologique de Villefranche-sur-mer) qu'ils participent à ce groupe de travail. Néanmoins, la problématique *Ostreopsis* étant très souvent évoquée, leur expertise à travers le projet de recherche est la bienvenue. C'est dans ce cadre qu'une réunion internationale a été organisée par RAMOGE le 22 janvier 2010 afin de réunir les gestionnaires et les responsables de la santé publique pour comparer les actions menées en France, à Monaco et en Italie. C'est également dans ce cadre qu'une demande de financement a été déposée à RAMOGE dans le but d'inviter des chercheurs et des gestionnaires de la rive sud de la Méditerranée lors du Congrès International ICOD (cf. ci-dessous) de fin 2010.

10-5) La multiplications des acteurs impliqués

L'évolution de la connaissance sur les risques liés à la prolifération d'*Ostreopsis* est en relation directe avec l'augmentation du nombre des acteurs impliqués dans la problématique. Par exemple, les gestionnaires du risque "baignade" (CAD contact direct avec les microalgues dans l'eau) peuvent être différents de ceux qui s'occupent du risque "inhalation" (CAD contact avec les embruns contaminés) et sont parfois eux-mêmes différents de ceux qui s'occupent du risque "alimentaire". Même dans ce dernier cas, en fonction de la nature de l'aliment (ressource exploitée vs pêche récréative), les responsables peuvent être différents. C'est ainsi que le nombre de personnes et de services de l'état impliqués dans la problématique d'*Ostreopsis* est très important, simplement de part la diversité des voies de contaminations. Sans être exhaustif, nous pourrions citer plusieurs Ministères (MEEDDM, MSS, MESR), plusieurs Directions Générales (DGS, DGAL), plusieurs Agences (AFSSA, AFSSET), plusieurs services régionaux ou départementaux (InVS, DRASS, Cire-Sud, Centre Anti-Poison, DDASS), plusieurs instituts ou organismes de recherche (Ifremer, CNRS) et enfin plusieurs universités (dont UPMC et UNS). Il faut bien sûr ajouter d'autres acteurs locaux, comme les services liés à l'environnement dans les régions, les départements mais également dans les communes touchées par *Ostreopsis*.

Il est évident que via cette multiplication des acteurs, les actions menés autour d'*Ostreopsis* ne sont pas toujours concertées. Il apparaît indispensable et urgent aux partenaires du projet MediOs 2 que soit mis en place un Comité National de Pilotage *Ostreopsis* (CNPO) qui rassemblerait des acteurs de l'environnement, de la santé, de la gestion du littoral, de la gestion de crise et enfin de la communication. Ce CNPO serait un bon outil pour comprendre les besoins de tous les gestionnaires et structurer les activités de recherches fondamentales et appliquées en France.

11) Diffusion des connaissances

11-1) Le site internet MediOs 2

Concernant la communication, nous avons mis en place un site internet dédié au projet MediOs 2 (www.obs-vlfr.fr/medios2). L'espace public est pour l'instant volontairement peu développé. L'espace réservé, protégé par un mot de passe (qui change régulièrement ; le demander par mail à lemee@obs-vlfr.fr) présente un grand nombre de rubriques, avec la présentation de l'ensemble des partenaires du projet, un accès direct à toutes les communications orales effectuées dans les séminaires de recherche, les Comités de Pilotage ou tout autre réunion ou congrès national ou international et enfin une rubrique « Publication *Ostreopsis* » qui est en fait une base de données concernant les publications scientifiques en relation avec les dinoflagellés toxiques épibenthiques.

Ce site internet sera maintenu (et complété) durant toute l'année 2010. Pour les années suivantes, il est possible qu'il soit intégré dans un site plus général concernant *Ostreopsis* et plus seulement le projet MediOs 2.

11-2) Communications et Publications

Les communications et publications réalisées ou prévues sont listées à la fin de la partie "Synthèse" du rapport complet. Nous avons fait plusieurs dizaines de communications orales lors de séminaires de recherche du projet (qui sont toutes téléchargeables sur le site internet MediOs 2), plus de 10 communications dans des colloques nationaux, 4 dans Congrès Internationaux et nous avons 5 articles ou communications orales de vulgarisation.

Nous n'avons pas encore de publication dans des revues internationales à Comité de lecture, mais c'est notre priorité pour l'année 2010 (comme initialement prévu dans le projet). Plus de 15 articles vont être soumis en 2010 et début 2011.

11-2) ICOD : le Congrès International sur *Ostreopsis*

L'Université de Nice-Sophia Antipolis (ECOMERS, équipe d'accueil 4228, Luisa Mangialajo) et l'Observatoire Océanologique de Villefranche-sur-mer (Laboratoire d'Océanographie de Villefranche, CNRS UMR 7093, Rodolphe Lemée) organiseront un Congrès International sur le développement d'*Ostreopsis* (International Congress on *Ostreopsis* development : ICOD). Ce Congrès sera parrainé par la Société Phycologique de France (SPF), Société Savante regroupant une grande partie des scientifiques travaillant sur les algues en France. Cette manifestation, d'une durée totale de 4 jours, se déroulera en automne 2010 dans la Citadelle de Villefranche-sur-mer (auditorium). Nous prévoyons 40 participants durant les 2 premiers jours (plus spécifique à la Société Phycologique de France), puis 60 participants pour la seconde partie de la manifestation. Les Comités organisateurs et scientifiques étant internationaux, ce congrès permettra de réunir les experts et les gestionnaires de microalgues benthiques toxiques français et européens (en particulier italiens, espagnols, grecques), mais aussi d'autres pays riverains de la Méditerranée (Maroc, Algérie, Tunisie) et d'autres régions tempérées (Nouvelle-Zélande, Brésil).

Les principaux objectifs de ce colloque sont de faire un bilan des connaissances sur *Ostreopsis*, de discuter des lignes de recherche prioritaire pour l'avenir et de faire un bilan des expériences au niveau de la gestion de cette problématique dans les différents pays impactés.

Le colloque se déroulera autour de 4 sessions :

- 1) Les algues menaçantes, utiles ou en danger (Société Phycologique de France),
- 2) Ecologie d'*Ostreopsis* et conséquences sur les écosystèmes côtiers,
- 3) Métabolites secondaires et toxicité d'*Ostreopsis*,
- 4) Gestion environnementale, sanitaire et économique du phénomène et perspectives.

La première session sera en français car elle correspond au colloque de la Société Phycologique de France. Les autres sessions seront en anglais. Nous avons fait des demandes de subventions à la Région PACA, au Département des Alpes-Maritimes, au PRES Euro-méditerranéen, à RAMOGE et à la commune de Villefranche-sur-mer et nous espérons avoir des réponses positives.

Ce congrès est organisé par des membres de MediOs 2 et se fera à un moment où tous les partenaires du projet auront analysé leurs données, qui seront pour la plupart en cours de publication. Il peut donc être considéré comme le séminaire de restitution finale du projet MediOs 2, avec une présentation de nos résultats à la communauté scientifique nationale et internationale. La relation avec les gestionnaires n'est pas oubliée, avec une session complète sur ce sujet.

Nous espérons que de nombreux représentants des partenaires qui ont soutenu le projet MediOs 2 (Ministère de l'Ecologie, Agence de l'Eau RM&C et Conseil Général des Alpes-Maritimes) pourront participer à ce Congrès.

12) Conclusions et perspectives

Les principaux objectifs déclarés dans la proposition de recherche MediOs 2 ont été atteints. Le projet a permis la création d'un réseau français et international de chercheurs en écologie, biologie, physiologie et chimie, d'experts en santé publique et en socio-économie et de gestionnaires du milieu marin littoral. Les modalités de travail, le vocabulaire et les intérêts des différents membres de ce réseau ne sont pas toujours comparables, mais c'est cette diversité des idées et des objectifs qui a fait la richesse des échanges.

Les différents résultats que nous avons obtenus nous permettent de faire des recommandations pour améliorer la surveillance environnementale et la gestion de la problématique. La communication avec les médias n'a pas été développée dans ce document, mais elle a joué un rôle déterminant, aussi bien dans le ressenti de la dangerosité d'*Ostreopsis* que dans l'intérêt des gestionnaires et des décideurs pour nos études. Il aurait été souhaitable, dès le début du projet, de travailler avec des spécialistes de la communication environnementale.

Enfin, MediOs 2 a parfaitement joué son rôle de projet « pilote », avec une prise de conscience de la problématique *Ostreopsis* et une dynamique dans la proposition de nouveaux projets, aussi bien au niveau national (projet DGAL, DGS, futur ANR) qu'au niveau international (projet NEMO'S).

Remarques :

1) Aucune annexe (du types "Textes des publications" ou "Publications scientifiques parues") n'est associée à ce rapport car, comme initialement prévu dans la proposition de recherche MediOs 2, les publications seront rédigées et soumises au cours de l'année 2010. Les titres de la quinzaine de publications prévues sont déjà présentés dans le chapitre "Liste des opérations de valorisation issues du contrat" qui suit la synthèse du projet MediOs 2.

2) Il n'existe aucune annexe confidentielle car aucun de nos résultats ne revêt une part de confidentialité.

Bibliographie en relation avec le rapport scientifique :

- Ciminiello P, Dell'Aversano C, Fattorusso E, Forino M, Magno GS, Tartaglione L, Grillo & Melchiorre N (2005). The genoa 2005 outbreak. Detremination of putative palytoxin in Mediterranean *Ostreopsis ovata* by new liquid chromatography tandem mass spectrometry method. ACS, Analytical chemistry vol 78, n°17, p6153-6159.
- Giere O (1993). Meiobenthology. The microscopic fauna in aquatic sediments. Springer-Verlag, Berlin, 328 pp.
- Guerrini F, Pezolesi L, Feller A, Riccardi M, Ciminiello P, Dell'Aversano C, Tartaglione L, Dello Iacovo E, Fattorusso E, Forino M & Pistocchi R (2009). Comparative growth and toxin profile of cultured *Ostreopsis ovata* from the Tyrrhenian and Adriatic Seas Toxicon, 55 (2-3): 211-220.
- Ianora A, Miralto A, Poulet S, Carotenuto Y, Buttino I, Romano G, Casotti R, Pohnert G, Wichard T, Colucci-D'Amato L, Terrazzano G & Smetacek V (2004) Aldehyde suppression of copepod recruitment in blooms of a ubiquitous planktonic diatom. Nature 429: 403-407.
- Ianora A, Turner JT, Esposito F, Carotenuto Y, d'Ippolito G, Romano G, Fontana A, Guisande C & Miralto A (2004). Copepod egg production and hatching success is reduced by maternal diets of a non-neurotoxic strain of the dinoflagellate *Alexandrium tamarense*. Marine Ecology Progress Series 280: 199-210.
- Keller MD, Selvin RC, Claus W & Guillard RRL (1987). Media for the culture of oceanic ultraphytoplankton. J. Phycol., 23: 633-638.
- Penna A, Vila M, Fraga S, Giacobbe MG, Andreoni F, Riobó P & Vernesi C (2005). Characterization of *Ostreopsis* and *Coolia* (Dinophyceae) isolates in the western mediterranean sea based on morphology, toxicity and internal transcribed spacer 5.8S rDNA sequences. J. Phycol. 41:212-25.
- Rhodes L, Towers N, Briggs L, Munday R & Adamson J (2002). Uptake of palytoxin-like compounds by shellfish fed *Ostreopsis siamensis* (Dinophyceae). New Zealand journal of marine and freshwater research, 36: 631-636.